

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО – ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Сборник научных трудов

Основан в 2003 году

Под редакцией члена-корреспондента
НАН Республики Беларусь В. К. Пестиса

Том 20

ВЕТЕРИНАРИЯ

Гродно
ГГАУ
2013

УДК 619 (06)

В сборнике научных трудов помещены материалы научных исследований по вопросам ветеринарии, отражающие современное состояние, проблемы и перспективы развития сельского хозяйства.

Сборник предназначен для научных сотрудников, преподавателей, аспирантов, руководителей и специалистов предприятий агропромышленного комплекса.

Редакционная коллегия:

В. К. Пестис (ответственный редактор),

С. А. Тарасенко (зам. ответственного редактора),

А. В. Глаз, В. М. Голушко, Ю. А. Горбунов, Г. А. Жолик,

М. А. Кадыров, Н. В. Казаровец, А. В. Кильчевский,

К. В. Коледа, В. П. Колесень, В. В. Малашко, В. А. Медведский,

Г. Е. Раицкий, А. Д. Шацкий, А. П. Шпак, Н. С. Яковчик

Рецензент:

доктор ветеринарных наук, профессор В. В. Малашко

ISBN 978-985-537-026-1

© УО «ГТАУ», 2013

ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 619:616.98:578.821.21:615.371:636.32/.38

КОНСТРУИРОВАНИЕ ВАКЦИНЫ ЖИВОЙ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ДЛЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ОСПЫ ОВЕЦ

В.А. Бабак, И.А. Пунтус, А.А. Гусев, А.А. Згировская, Ю.В. Ломако

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии

им. С.Н. Вышелесского»,

г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. В статье представлены результаты исследования по конструированию вакцины живой лиофилизированной для специфической профилактики оспы овец. Отработаны параметры накопления вирусной биомассы в культуре клеток 3-KГ, режим высушивания и стабилизирующая среда для лиофилизации. Проведены исследования антигенной активности вируса оспы, которая составила 5,5-6,0 lgТЦД₅₀.

Summary. The results of research on designing of the live lyophilized vaccine for specific preventive maintenance of sheep pox are presented in the article. Parameters of accumulation of a pox virus in the culture of cells of 3-CG, a mode of drying and the stabilising medium for lyophilizing are developed. The researches of antigen activity of pox virus were carried out, which constituted 5,5-6,0 lgCCD₅₀.

Введение. Оспа овец (Sheep pox) – высококонтагиозная особо опасная болезнь, характеризующаяся лихорадкой и образованием в эпителии кожи и слизистых оболочек папулезно-пустулезных поражений. Болезнь широко распространена в Турции, Иране, Пакистане, Афганистане, Индии, Марокко, Алжире, Тунисе, Ливии, Кувейте и многих других странах Азии и Африки. В РФ заболевание эпизодически регистрируют на пограничных территориях. Согласно решению МЭБ, оспа овец и коз отнесена к группе А – быстро распространяющихся болезней животных. Болезнь наносит овцеводству огромный ущерб, включающий потери от гибели и вынужденного убоя больных животных, снижения продуктивности, обострением вторичных инфекций, затрат на проведение ветеринарно-санитарных и охранно-карантинных мероприятий. Оспа мелкого рогатого скота остается актуальным заболеванием в мире, о чем свидетельствуют случаи ее регистрации в последние годы в разных странах мира (Китай, 2002-2003; Монголия, 2006; Греция, 2007; Турция, 2001; Таджикистан, 2001; Вьетнам, 2005 и другие).

В случаях генерализованного и осложненного течения болезни гибель овец достигает 50% от количества заболевших. Вирус передается животным в основном аэрогенным путем. Виремия наступает перед генерализацией процесса. У больных животных вирус локализуется в основном в оспинах. Он не имеет антигенных вариантов. Переболевание сопровождается длительным иммунитетом (не менее двух лет) и образованием антител, которые с молозивом и молоком передаются потомству [3, 4, 5, 6, 7, 8].

В Республике Беларусь аналогов инактивированных и живых вирусвакцин для профилактики оспы овец не производится. Использование вакцин, завозимых из стран дальнего и ближнего зарубежья, экономически не оправдано из-за высокой себестоимости. Кроме того, вступление Республики в Таможенный Союз повысило риск заноса высококонтагиозных инфекций из Средней Азии, среди которых оспа овец, ящур, сибирская язва, АЧС, чума мелких жвачных животных, блютанг, бруцеллез и другие. В связи с этим в Республике Беларусь разработка и применение отечественной вакцины для профилактики оспы овец является актуальной задачей ветеринарной науки, а сама вирус-вакцина – экспортно-ориентированной.

Целью наших исследований явилась разработка технологии изготовления культуральной живой лиофилизированной вирусвакцины для иммунизации против оспы овец.

Для достижения цели в наших исследованиях были поставлены задачи:

1. из имеющихся в работе синтетических и ферментативных питательных сред подобрать оптимальную среду для выращивания культуры клеток 3-КГ и адаптировать ее с эмбриональной сыворотки к нормальной сыворотке крови КРС;
2. определить оптимальную посевную концентрацию клеток для пассажирования и выдачи к заражению в матрасах и роллерах;
3. адаптировать вирус оспы к культуре клеток 3-КГ и отработать рациональную технологическую схему накопления вируса;
4. подобрать оптимальную среду высушивания вируса.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в отделе культур клеток и питательных сред и лаборатории биотехнологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В опытах использовалась перевиваемая линия клеток 3-КГ (гонады козы), депонированная в коллекции культур клеток РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского". Культура клеток 3-КГ представляет собой фибробластоподобные полигональные

клетки с кариологической характеристикой $2n=60$. На сформированном монослое культура представляет собой веретеновидно переплетенные клетки с округлым ядром. Первично полученная культура клеток 3-КГ культивировалась на полусинтетической питательной среде ПСС и добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки.

Для адаптации культуры клеток использовали синтетические среды МЕМ, 199, ДМЕМ и ферментативные ФГМ-С и ГЛА в различных сочетаниях компонентов. Хорошие результаты по ростовым свойствам и морфологии были получены при сочетании компонентов ФГМС + ДМЕМ 3:1 с добавлением 0,2 г/л глюкозы и 100-150 мг/л L-глутамина. Адаптацию к сыворотке крови КРС проводили в течение 4-х пассажей, заменяя ЭТС пошагово на 30, 50, 70 и 100%.

Культивирование клеток проводилось по общепринятой методике на пластиковых матрасах ($V=50-200 \text{ см}^3$), стеклянных матрасах ($V=1500 \text{ см}^3$) и стеклянных роллерных флаконах ($V=2000-3000 \text{ см}^3$). Для определения количества клеток, индекса пролиферации и процента жизнеспособных клеток ежедневно снимали по три матраса в течение 7 дней жизненного цикла и проводили подсчет клеток в камере Горяева, используя 0,5%-й водный раствор трипанового синего по общепринятым методикам [1, 2]. Каждые 12 ч в течение 7 суток проводили микроскопирование исследуемой линии клеток, оценивая состояние культуры, морфологию, формирование клеточного монослоя.

В исследованиях использовали вакцинный вирус оспы штамм «НИСХИ», полученный из ФГУ «ВНИИЗЖ» и депонированный в коллекцию микроорганизмов нашего института как штамм вируса оспы «НИСХИ» «КМИЭВ-V140».

Адаптацию вируса оспы штамм «НИСХИ» «КМИЭВ-V140» проводили в течение 4-х слепых пассажей на полный монослой клеток в объемной дозе 1:20, при этом инфекционную активность вируса определяли только на последнем пассаже. Титрацию вируса оспы проводили на культуре клеток пробирочным способом и в 96-ти луночных микропланшетах. Расчет титра вируса производили по методу Кербера и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$.

Отработку накопления биомассы вируса оспы проводили на сформированный монослой с контактом и сменой питательной среды на поддерживающую. Ежедневно проводили микроскопию контрольного интактного и инфицированного клеточного монослоя, оценивая степень его поражения и сравнивая ее с контролем. При отработке заражающей дозы вируса испытывали концентрации 0,01, 0,1, 0,5 и 1,0 $\text{ТЦД}_{50}/\text{кл}$.

Накопленная по оптимальной схеме биомасса вируса оспы использовалась при подборе защитной питательной среды для лиофильного высушивания вируса оспы. С этой целью использовали следующие компоненты: сыворотку крови КРС и ЭТС, пептон, желатозу, сахарозу, ГЛА, которые смешивали в различных комбинациях и процентных соотношениях. После высушивания определяли на какой защитной среде сохранность вирусной активности была выше.

Результаты исследований и обсуждение. Для эффективного роста культур клеток различного происхождения проводился тщательный подбор синтетических и ферментативных питательных сред, различающихся аминокислотным, витаминным и солевым составом для конкретной производственной линии клеток в условиях определенных схем и методов культивирования.

Культивирование перевиваемой линии клеток 3-КГ (гонады козы) проводили с использованием синтетических и ферментативных питательных сред. Базовым вариантом являлись среды ПСС и DMEM. В опытах по подбору и модификации среды использовали ферментативные и синтетические питательные среды: 0,25% гидролизат мышечных белков (ФГМ-С), среда 199, EMEM. Во всех вариациях питательных сред присутствовала эмбриональная сыворотка крови КРС (10%), антибиотики – бензилпенициллин и стрептомицина сульфат в дозе 100 ЕД/мл и корректирующий pH 7,57% раствор бикарбоната натрия.

В качестве компонентов обогащения модифицированных питательных сред использовали добавления глюкозы (до 2000 мг/л) и глутамина (100-150 мг/л). Глюкоза является легкодоступным энергетическим материалом для перевиваемых культур клеток. Глутамин, как незаменимая аминокислота, содержится в ферментативных средах в недостаточных количествах и требует обязательной корректировки в питательной среде, используемой для выращивания клеток, так как является лимитирующим фактором, который сказывается на ростовых свойствах клеток в длительных пассажах.

Результаты исследований роста перевиваемой линии клеток 3-КГ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Данные исследования ростовых свойств клеток 3-КГ при культивировании стационарным способом

Компоненты среды	Проведено пассажей	Выход клеток с матрикса, ср. знач., млн.кл.	Индекс пролиферации
1	2	3	4
ПСС *	8	41,8±4,94	4,2
DMEM	6	31,67±6,63	3,2
199	6	25,27±5,48	2,5
EMEM	4	33,33±4,08	3,3

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
ФГМ-С	6	28,33±5,35	2,8
ФГМ-С+ДМЕМ	10	39,0±5,2	3,9
ДМЕМ+ЕМЕМ	8	30,0±7,05	3,0

* – базовый вариант культивирования

P < 0,05

Как видно из таблицы 1, хорошие результаты получены на среде ФГМС+ДМЕМ 3:1, которые сопоставимы с базовой средой ПСС и выше, чем на других обрабатываемых питательных средах, в 1,4-1,6 раза.

На следующем этапе мы провели замещение эмбриональной сыворотки крови телят на нормальную сыворотку крови КРС, заменяя в течение 4-х пассажей ЭТС пошагово на 30, 50, 70 и 100% нормальной сыворотки на 4-м пассаже соответственно. В ходе проведенных работ культура клеток несколько изменила морфологию, стала более вытянутой, веретеновидная, а ИП снизился с 3,9 до 3,5. Оптимальная посевная концентрация составила 70-110 тыс.кл/мл для проведения 5-7 суточных пассажей.

В дальнейшем подбиралась посевная концентрация клеток 3-КГ для получения полного монослоя на 48 и 72 часа, которая составила 170 и 130 тыс. кл/мл ±15% соответственно. С посеянных матрасов на 2-е и 3-е сутки снимали монослой для определения концентрации выросших клеток, что будет учтено при расчете дозы заражения вирусом. Так, при 2-суточном цикле культивирования (170 тыс. кл/мл) на вторые сутки в монослой было 30-35 млн. кл./матр, а на третьи сутки (130 тыс. кл/мл) – 34-39 млн.кл./матр.

При культивировании клеток 3-КГ роллерным способом обрабатывали посевную концентрацию клеток 30-35 млн.кл./рол. для проведения пассажей и 50-55 млн.кл./рол. для выдачи на 48 ч на заражение.

Адаптацию вируса оспы овец штамм «НИСХИ» «КМИЭВ-V140» проводили в течении 4-х слепых пассажей на полный монослой клеток в объемной дозе 1:20, при этом от пассажа к пассажию проявление цитопатического действия усиливалось и выражалось в округлении клеток, дегенерации клеточного монослоя, формировании специфических «гроздей». К четвертому пассажию ЦПД проявлялось с 48-72 ч, а полное поражение монослоя к 96-120 часам.

Для отработки эффективного накопления вакцинного вируса оспы полученный 4-й пассаж был протитрован на культуре клеток 3-КГ и использован в дальнейшем для отработки технологической схемы накопления вируса оспы, которая включала определение множественности заражения, сроков инкубации инфицированных клеток и активности получаемого вируса оспы (ВО).

Для проведения серии экспериментов нами были сформированы 4 группы матрасов, содержащие линию клеток 3-КГ с монослоем клеток на 85-100% поверхности. В первой группе матрасов вирус оспы вносили в дозе 0,01 ТЦД₅₀/кл. Во второй группе множественность заражения составила 0,1 ТЦД₅₀/кл, в третьей – 0,5 ТЦД₅₀/кл, в четвертой – 1,0 ТЦД₅₀/кл. При поражении 85-100% клеточного монослоя отбирали пробы вирусосодержащего материала согласно схеме опытов для определения инфекционной активности вируса. В качестве контроля использовали интактную линию клеток 3-КГ (таблица 2).

Таблица 2 – Динамика накопления вируса оспы штамм «НИСХИ» «КМИЭВ-V140» в линии клеток 3-КГ при стационарном культивировании

№ группы	Множественность заражения, ТЦД ₅₀ /кл	Количество клеток, млн.кл/матр	Срок культивирования вируса с клетками, часы				
			24	48	72	96	120
			титр вируса, lg MLD ₅₀ /мл, (±0,25 lg)				
1-я	0,01	35,0±3,6	-	-	4,0	5,0	5,25
2-я	0,1	35,0±3,6	-	4,25	5,5	6,0	-
3-я	0,5	35,0±3,6	-	5,0	5,75	5,5	-
4-я	1,0	35,0±3,6	-	4,75	4,5	4,0	-
Контроль	интактная	35,0±3,6	-	-	-	-	-

Из таблицы 2 видно, что максимальное накопление вируса отмечалось к 72 часам культивирования при дозе 0,5 ТЦД₅₀/кл и к 96 часам при 0,1 ТЦД₅₀/кл, при этом титр инфекционной активности составил 5,5-6,0 lgТЦД₅₀. При более низкой дозе вируса (0,01 ТЦД₅₀/кл) ЦПД начиналось на более поздние сроки и достигало 85-100% к 96-120 ч от начала инкубирования. При множественности 1,0 ТЦД₅₀/кл максимальный титр составил 4,75 lgТЦД₅₀ к 48 часам и снижался при дальнейшем культивировании. Наиболее рациональной и экономически обоснованной была принята множественность заражения 0,1-0,5 ТЦД₅₀/кл и культивировании 72-96 часов с поражением 85-100% клеточного монослоя.

По отработанной лабораторной схеме стационарно в 1,5-литровых матрасах РУ была накоплена биомасса вируса оспы. Культивирование вируса проводили в течение 72-96 часов. По истечении указанного времени содержимое флаконов с выраженным ЦПД вируса на монослое клеток замораживали, размораживали и объединяли, затем определяли стерильность и титр вируса в культуральной жидкости и хранили при минус 40⁰С. Использовали полученный материал при подборе оптимальной защитной питательной среды для лиофильного высушивания вируса оспы. С этой целью использовали компоненты: сыворотку крови КРС и ЭТС, пептон, желатозу, сахарозу, ГЛА.

Лиофилизацию вирусной суспензии проводили на установке для лиофильного высушивания с программным обеспечением фирмы “Krist” (Германия) в течение 72 часов.

При подборе стабилизирующей защитной среды испытывали два варианта. Одна среда состояла из сахарозы, пептона и желатозы, вторая – из гидролизата лактальбумина, сахарозы и желатозы. Качество защитной среды определяли по сохранению инфекционной активности вируса до лиофилизации и после. Инфекционную активность вируса оспы овец определяли титрованием на культуре клеток 3-КГ.

Для создания экспериментального образца вакцины против оспы овец использовали вирусосодержащую жидкость с титром $5,8 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Вирусосодержащую культуральную жидкость размораживали, соединяли с защитной средой в процентном соотношении 60:40 и подвергали лиофилизации в течение 48 часов.

Результаты влияния защитной среды на сохранение вируса при лиофилизации представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Влияние защитной среды на сохранение инфекционной активности вируса оспы овец при лиофилизации

Защитная среда	Титр вируса, $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$		Достоверность, Р
	до лиофилизации	после лиофилизации	
Сахароза Пептон Желатоза	5,8	5,3	<0,05
ГЛА Сахароза Желатоза	5,8	5,5	<0,05

Как видно из таблицы 3, лучшие результаты по сохранности вируса оспы и формированию вакцинной таблетки были получены с использованием компонентов ГЛА+желатоза+сахароза+сыворотка крови КРС в соотношении 60% вирусосодержащей жидкости и 40% защитной среды. Титр активности вируса при высушивании снижался на 0,2-0,5 $\lg \text{ТЦД}_{50}$. В ходе проведенных исследований было установлено, что при одинаковых компонентах защитной среды высушивания нормальная сыворотка крови КРС выполняет консервирующую функцию не хуже эмбриональной сыворотки и является более дешевым компонентом.

Закключение. Таким образом, нами была сконструирована живая лиофилизированная вакцина против оспы овец: подобрана оптимальная клеточная модель и питательная среда для выращивания культуры клеток 3-КГ, отработана технологическая схема и параметры накопления вирусной биомассы, а также защитная стабилизирующая питательная среда и условия высушивания вируса оспы.

Дальнейшие испытания вакцины будут направлены на изучение физико-химических и биологических показателей: определение внешнего вида, остаточной влажности, растворимости, наличие вакуума, контаминации бактериальной и грибковой микрофлорой, на определение безвредности препарата в пяти- и десятикратной иммунизирующей дозах на 3-4-месячных овцах и иммуногенной активности биологического препарата на овцах с последующим исследованием сыворотки крови в реакции нейтрализации на наличие вируснейтрализующих антител на культуре клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамс, Р. Методы культуры клеток для биохимиков / Р. Адамс. – М.: Мир, 1983. – 263 с.
2. Аттестации перевиваемых клеточных линий – субстратов производства и контроля медицинских и иммунобиологических препаратов : методические указания. – М., 1989. – 33 с.
3. Дмитриев, А.Ф. Особенности эпизоотического процесса оспы овец в Ставропольском крае / А.Ф. Дмитриев, В.И. Дорофеев, В.И. Дегтярев // Вестник ветеринарии. 1999. – С. 68-70.
4. Нургазиев, Р.З. О распространенности оспы овец и мерах борьбы с ней в некоторых странах мира / Р.З. Нургазиев, Г.К. Акматова, Э.Д. Иманов // Мониторинг распространения и предотвращения особо опасных болезней жив-х: сб. матер, конф. Самарканд, 2004. – С. 131-133.
5. Особо опасные болезни животных И.А. Бакулов, В.М. Котляров, Т.А. Власова [и др.]. - Покров: ВНИИВВиМ, 2002. – С. 97-106.
6. Хухоров, И.Ю. Оспа овец в странах СНГ / И.Ю. Хухоров // Биологоэколог, проблемы заразных болезней диких жив-х и их роль в патологии сХ. жив-х и людей: матер. Междунар. науч.-практ. конф. Покров, 2002. – С. 206-211.
7. Эпизоотология оспы овец / Э.Д. Иманов, Н. Нурмарбетов, К.Р. Рыскулов [и др.] // Актуал. пробл. с.-х. биотехнологии: матер, конф. - Гвардейский, 1998. - 128 с.
8. Epidemiology of sheep pox L.M. Belwal, A.E. Nivsarkar, P.B. Mathur, R.M. Singh Trop. Anim. Hlth. Prod. 1982. №14. - P. 229-233.

УДК 619:616.1/4 (075.8)

ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО, ВИТАМИННОГО ОБМЕНОВ В КРОВИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ У ГЛУБОКОСТЕЛЬНЫХ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ С СИМПТОМАМИ ОЖИРЕНИЯ

Ю.Н. Бобёр

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 24.06.2013 г.)

Аннотация. Изучены показатели липидного, витаминного обмена и морфологические изменения в щитовидной железе у глубокоостельных высоко-

продуктивных коров с симптомами ожирения. Наиболее высокие значения концентраций общих липидов, общего холестерина и каротина установлены на 8-м месяце стельности. Уровень витамина А в сыворотке крови сохранялся в пределах нормативных значений даже на фоне критического падения концентрации каротина. Морфологические изменения в щитовидной железе характеризовались признаками гипofункции, аутоиммунного тиреоидита и гиперплазии эпителия.

Summary. Lipid, vitamin exchanges and morphological changes in the thyroid gland of highly productive in-calf cows with symptoms of obesity were studied. The highest concentrations of total lipids, total cholesterol, and carotene are set on the 8th month of pregnancy. The level of vitamin A in the blood serum remained within normal values, even against the background of the critical fall of the concentration of carotene. Morphological changes in the thyroid gland were characterized by symptoms of hypothyroidism, autoimmune thyroiditis, and hyperplasia of the epithelium.

Введение. Ожирение – избыточное содержание жира в организме, сопровождающееся нарушением обмена веществ и функций различных органов и систем. Одной из основных причин ожирения коров в период сухостоя является избыточное поступление энергии с кормом на фоне гиподинамии. Помимо перекорма животных нельзя не учитывать влияние щитовидной железы на развитие ожирения. В результате снижения ее активности угнетаются все виды обменов, утилизация кислорода тканями, тормозятся окислительные реакции и снижается активность различных ферментных систем, газообмен и основной обмен. Замедляются утилизация и выведение продуктов липолиза, повышается уровень холестерина, триглицеридов [1, 6]. Вместе с тем синтез, активация и метаболизм тиреоидных гормонов напрямую зависят от обеспеченности организма витамином А. Снижение содержания в организме витамина А приводит к нарушению структуры тиреоглобулина и соответственно синтеза тиреоидных гормонов. С другой стороны, превращение каротиноидов в витамин А в энтероцитах и в печени катализируется железо-содержащим ферментом β-каротин-15-15'-диоксигеназа. Его активность стимулируется гормонами щитовидной железы. Таким образом, при гипотиреозе нарушается переход каротиноидов в витамин А [3, 4].

Цель работы. Целью настоящих исследований стала оценка уровней общих липидов, общего холестерина, каротина и витамина А у высокопродуктивных коров с симптомами ожирения в последнюю треть стельности, а также выявление у этих животных возможных морфологических изменений в щитовидной железе.

Материал и методика исследований. В условиях ЧУСХП “Са-вушкино” Малоритского района Брестской области на молочно-

товарном комплексе на 1000 голов была сформирована группа из 10 высокопродуктивных коров (возраст 5-6 лет, удой 7500 кг за лактацию). У всех животных отмечались признаки избыточного накопления жира в организме: тело имело округлые контуры, костные выступы (маклоки, седалищные бугры, ребра) были сглажены. Начиная с 7-го месяца стельности и до отела, от этих животных получали пробы крови для определения содержания общих липидов, общего холестерина, каротина и витамина А. Пробы доставлялись в научно-исследовательскую лабораторию УО "Гродненский государственный аграрный университет". Уровень общих липидов в сыворотке крови определяли по методу Целльнера, концентрацию общего холестерина – на автоматическом биохимическом анализаторе "Dialab". Содержание каротина в сыворотке крови определяли колориметрическим методом (по Г.Ф. Коромыслову, Л.А. Кудрявцевой). Концентрацию витамина А устанавливали на хроматографе Agilent Technologis 1200 Series [7, 11].

Для выявления возможных морфологических изменений в щитовидной железе, при убое коров 5-6-летнего возраста, содержащихся на данном комплексе, были отобраны щитовидные железы от 4 голов с симптомами ожирения. Все животные находились на 6-7 месяцах стельности. Морфологическое исследование начинали с наружного осмотра материала. При этом отмечали размеры, массу, форму, консистенцию, цвет, характер патологического процесса (диффузный или очаговый), характер поверхности. Поверхность разреза оценивалась на нескольких параллельных плоскостях, проходящих через весь препарат на расстоянии 0,5 см друг от друга, параллельно внутренней поверхности железы, обращенной к трахее [2, 8, 10].

Кусочки щитовидной железы фиксировали в 10-12%-ом растворе нейтрального формалина. Дегидратация и инфильтрация парафином гистологических образцов осуществлялась с использованием модульного тканевого процессора Leica TP 1020 (Германия). Парафиновые срезы получали на санном микротоме Leica SM2000R (Германия), толщиной 10-12 мкм. Окрашивание срезов производилось с помощью автоматического устройства AUTOSTAINER XL ST 500 (фирма JUNG, Австралия). Клетки щитовидной железы дифференцировали окраской гематоксилин-эозином. Клеточную структуру щитовидной железы изучали классическими общегистологическими методами с использованием микроскопа "Микмед -5", а также компьютерной системы "Биоскан", на базе микроскопа "Микмед-2" и цветной цифровой видеокамеры НР-7830 с прикладной компьютерной программой "Биоскан 1,5" [5, 9].

Исследования проводились на фоне принятых в хозяйствах технологий кормления, содержания, ухода и комплекса ветеринарных мероприятий. В период наблюдения постоянно осуществлялись химикотоксикологический и радиологический контроль за качеством кормов. Все исследования проведены с участием ветеринарных специалистов хозяйства и районной ветеринарной станции.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты определения концентраций общих липидов и общего холестерина в сыворотке крови у высокопродуктивных коров в последние три месяца стельности представлены в следующей таблице.

Таблица 1 – Показатели липидного обмена у высокопродуктивных коров в последнюю треть стельности (n=10, M $\pm$ m)

Показатели	Месяц стельности		
	7-й	8-й	9-й
Общие липиды, г/л	6.48 $\pm$ 0.27	8.76 $\pm$ 0.61	3.97 $\pm$ 0.14
Общий холестерин, ммоль/л	2.24 $\pm$ 0.09	3.06 $\pm$ 0.16	2.36 $\pm$ 0.09

Как показал анализ полученных результатов, наиболее высокие значения концентраций общих липидов и общего холестерина отмечались на 8-м месяце стельности. После чего происходило снижение показателей соответственно на 54,7% и 22,9%.

Динамика концентраций витамина А и каротина в крови у высокопродуктивных коров в последние три месяца стельности представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Витаминный профиль в сыворотке крови высокопродуктивных коров в последнюю треть стельности (n=10, M $\pm$ m)

Месяц стельности	Показатели витаминного обмена	
	каротин, мг/л	вит. А, мг/л
7-й	7.73 $\pm$ 0.48	1.39 $\pm$ 0.11
8-й	8.44 $\pm$ 0.35	1.34 $\pm$ 0.13
9-й	1.83 $\pm$ 0.32	1.37 $\pm$ 0.10

Как следует из данных таблицы, концентрация каротина в сыворотке на 7-8-м месяцах стельности оставалась достаточно стабильной и соответствовала нормативным требованиям. В последний месяц стельности показатель снизился более чем в 4 раза, до критически низких значений. Вместе с тем это существенно не повлияло на уровень витамина А, концентрация которого оставалась достаточно стабильной и находилась в пределах рекомендуемой нормы в течение всего периода исследований.

Макроскопическое исследование желез показало, что их вес колебался от 80 до 85 г, боковые доли имели неправильную треугольную форму, диаметр 5-6 см, толщина 1,1-1,3 см. Длина перешейка 6-8 см,

ширина – 1,7-3 см. Консистенция желез плотноэластическая. Снаружи отмечалось обильное отложение жира (Рис. 1).



Рисунок 1 – Щитовидная железа с обильным отложением жира на перешейке

На поверхности щитовидных желез видны достаточно толстые тяжи фиброзной ткани, которые делят ткань железы на отдельные участки разной величины и неправильной формы. Поверхность разреза от светло-красного до красно-коричневого цвета.

Микроскопическое исследование всех образцов выявило значительные изменения структуры щитовидной железы. В одном из препаратов установлено беспорядочное чередование фолликулов различного размера, неравномерно заполненных коллоидом. При этом встречались фолликулы как полностью заполненные интенсивно окрашенным и нередко с трещинами коллоидом, так и абсолютно пустые. Ткань щитовидной железы интенсивно инфильтрирована клетками лимфоидного ряда (Рис. 2).

Состав клеток достаточно постоянен, в нем сочетались лимфоциты, плазмциты и небольшое количество макрофагов. Плазмцитарная инфильтрация, как правило, преобладала над лимфоидной. В дегенеративно измененных фолликулах обнаруживались слущенные фолликулярные клетки. Лимфоидные элементы нередко располагались в просвете и в стенке фолликула, сдавливали фолликулярные клетки, разрушали их мембрану, но сохраняли при этом собственную. Нормальное строение и признаки функционирования обнаруживались лишь в единичных мелких фолликулах. Эпителиальные клетки, их образующие, были достаточно высокими, а коллоид слабоокрашенный, с краевой вакуолизацией.

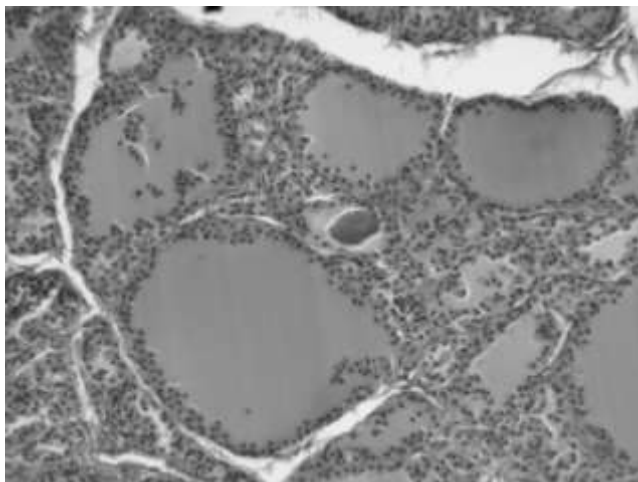


Рисунок 2 – Диффузный коллоидный зоб. Лимфоидная инфильтрация тиреоидной ткани. Окраска гематоксилин-эозином. X 100.

Еще в одном препарате микроскопически были обнаружены небольшие участки с разнокалиберными фолликулами, выстланными эпителием различной высоты. Крупные растянутые фолликулы выстланы плоским эпителием. Их полости заполнены мало- или нерезорбирующимся оксифильным коллоидом. В участках резорбции эпителий большей частью кубический. Среди крупных фолликулов располагались очаги из мелких функционально активных фолликулов, выстланных кубическим, иногда пролиферирующим эпителием. Эти участки чередовались с небольшими зонами лимфоплазмочитарной инфильтрации. В этих зонах обнаруживались крупные и средние фолликулы, содержащие интенсивно окрашенный коллоид. Их стенка, как правило, состояла из эпителиальных клеток, чередующихся с лимфоцитами и плазмочитами.

В остальных двух препаратах микроскопически обнаружено интенсивное склерозирование стромы. Широкие прослойки фиброзной ткани разделяли паренхиму на участки разных размеров, разного гистологического строения и различной функциональной активности. Встречались обширные участки со слабой пролиферацией эпителия, состоящие из крупных и средних тиреоидных фолликулов, содержащих уплотненный коллоид. Межфолликулярные перегородки очень тонкие, выстланы уплощенным эпителием. Лишь в отдельных фолликулах средней величины межфолликулярные перегородки немного утолщены за счет пролиферации эпителия. Другие участки, также дос-

таточно крупные, были образованы фолликулами различного размера. Наблюдалась выраженная пролиферация экстрафолликулярного эпителия. Крупные и большинство средних фолликулов имели признаки пониженной функциональной активности: стенка выстлана уплощенным эпителием, просвет равномерно заполнен интенсивно окрашенным коллоидом. Мелкие и отдельные средние фолликулы были образованы клетками кубической формы и содержали бледно окрашенный коллоид с сетчатой структурой. Характерной особенностью этих участков стало наличие крупных полостей (кист), заполненных однородным коллоидом (Рис. 3).

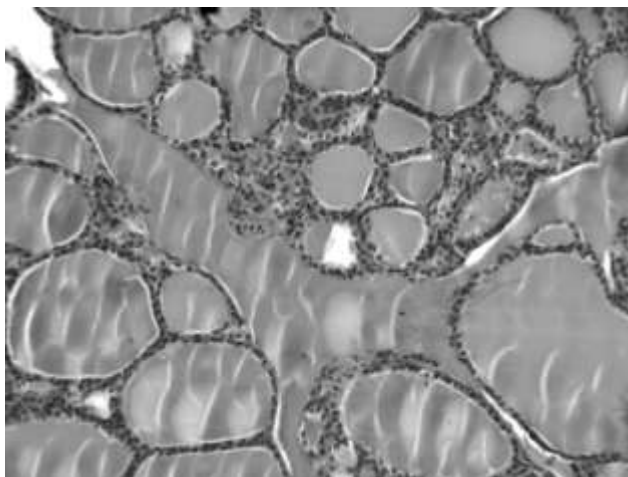


Рисунок 3 – Диффузный коллоидный зоб. Избыточное накопление коллоида и образование кист. Окраска гематоксилин-эозином. X 100.

Третья разновидность участков состояла преимущественно из фолликулов среднего размера с признаками функциональной активности. Для них был характерен “жидкий” коллоид, слабоокрашенный, с краевой вакуолизацией или сетчатый, иногда невидимый и, что характерно, разный в лежащих рядом фолликулах. Клетки фолликулярного эпителия имели кубическую форму и небольшой объем. Гиперплазия эпителия в этих участках отсутствовала.

Заключение. Жировая ткань – это не инертный складской отсек организма, а метаболически активное образование, где постоянно протекают процессы липогенеза и липолиза, контролируемые нейроэндокринной системой. Хроническое превышение калорического содержания потребляемого корма над энергозатратами организма ведет к накоплению дополнительных триглицеридов в жировой ткани и, в конце

концов, имеет своим результатом ожирение. Ожирение коров к моменту отела неизбежно влечет за собой ряд других проблем (кетоз, задержание плаценты, метрит, кистоз яичников). Все это существенно сокращает срок использования животных. Учитывая роль тиреоидных гормонов в регуляции метаболизма, становится очевидной важность исследований по оценке липидного обмена и состояния щитовидной железы у высокопродуктивных коров, особенно в последнюю треть стельности.

При оценке липидного и витаминного обменов у глубокостельных коров наиболее высокие значения концентраций общих липидов, общего холестерина и каротина установлены на 8-м месяце стельности. После чего происходило снижение показателей соответственно на 54,7%, 22,9%, 78,3%. Несмотря на то что последний месяц стельности характеризовался резким снижением концентрации каротина в сыворотке крови этих животных, содержание витамина А сохранялось в пределах рекомендуемой нормы. При морфологическом исследовании щитовидных желез глубокостельных высокопродуктивных коров были выявлены признаки гипопункции, аутоиммунного тиреоидита, гиперплазии эпителия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов, С.С. Руководство по ветеринарной эндокринологии: уч.-мет. пособие// С.С. Абрамов, И.С. Шевченко.- Вт., 2006.- 59 с.
2. Бомаш, Н.Ю. Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы/ Н.Ю. Бомаш.- М., 1981.- 186 с.
3. Горбачев, В.В. Витамины, микро- и макроэлементы/ В.В. Горбачев, В.Н. Горбачева. - Мн., 2002.- 544 с.
4. Зайчик, А.Ш. Основы патохимии/ А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. - СПб., 2000.- 688 с.
5. Кондрахин, И.П. Эндокринные, аллергические и аутоиммунные болезни животных: справочник.- М., 2007.- 251 с.
6. Кондрахин, И.П. Диагностика и терапия внутренних болезней животных: справочник/ И. Кондрахин, В. Левченко.- М., 2005.- 830 с.
7. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики/ И.П. Кондрахин, [и др.]. - М., 2004.- 213 с.
8. Пинский, С. Б. Диагностика заболеваний щитовидной железы/ С.Пинский, [и др.]. - М., 2005.- 192 с.
9. Ройт, А. Основы иммунологии/ А. Ройт.- М., 1991.- 328 с.
10. Тияжков, Г.Г. Гистология мясопромышленных животных.- М., 1967.- 460 с.
11. Холод, В.М. Клиническая биохимия/ В.М. Холод, А.П. Курдеко.- Вт. 2005.- Ч. 1-2.- 358 с.
12. Левченко, В.І. Внутрішні хвороби високопродуктивних корів (етіологія, діагностика, лікування і профілактика): Методичні рекомендації / В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, В.В.Сахнюк та ін.- К., 2007.- 64 с.

**ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ L-АРГИНИНА, -
ГЛЮТАМИНА И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ НА СОСТОЯНИЕ
УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ
И ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ**

А.Н. Бородинский¹, Ю.Е. Разводовский², О.В. Коноваленко²

¹– УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Изучено влияние композиции, состоящей из L-аргинина, L-глутамина и янтарной кислоты на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации. Установлено, что как хроническая, так и прерывистая алкоголизация сопровождается нарушением углеводного обмена, в частности, изменением скоростей ключевых реакций гликолиза, таких как ГЛК и ПК. Композиция, состоящая из L-аргинина, L-глутамина и янтарной кислоты способна оказывать корригирующее влияние на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации.

Summary. The effect of composition of L-arginine, L-glutamine and succinic acid on carbohydrates metabolism under conditions of chronic and interrupted alcohol intoxication has been investigated. It was established that chronic, as well as interrupted alcohol intoxication accompanies a disturbance of carbohydrate metabolism in particular, the change rate of glycolysis key reactions such as GLA and PC.. The composition of L-arginine, L-glutamine and succinic acid can exert corrective influence on the state of the carbohydrates metabolism under conditions of chronic and interrupted alcohol intoxication.

Введение. Злоупотребление алкоголем сопровождается нарушением углеводного обмена и является одним из факторов риска сахарного диабета [1]. Диабетогенные эффекты алкоголя включают непосредственное токсическое воздействие на клетки поджелудочной железы, ингибирование секреции инсулина и повышение резистентности к нему, нарушение углеводного обмена, ожирение, обусловленное поступлением излишних калорий, а также нарушение функций печени [1, 2, 6].

Несмотря на интенсивное изучение патогенетических аспектов алкоголизма, до настоящего времени не разработан комплексный терапевтический подход, учитывающий особенности сопутствующего хронической алкогольной интоксикации метаболического дисбаланса. В связи с этим актуальной задачей является разработка методов метабо-

лической коррекции последствий хронической алкогольной интоксикации.

Известно, что одними из наиболее универсальных природных регуляторов и эндогенных модификаторов биологических реакций являются свободные аминокислоты и их производные [2]. В настоящее время многочисленные биологические свойства этого класса соединений на практике эксплуатируются, главным образом, с позиций восполнения их дефицита или реализации фармакологических и непосредственных метаболических эффектов отдельных аминокислот [5]. Поэтому исследование механизмов реализаций метаболических эффектов аминокислот должно включать определение ее концентрации в тканях, активности синтеза и утилизации аминокислот, а также сопряженных с этими реакциями метаболических потоков (гликолиз, глюконеогенез, ЦТК) и энергопродукции.

Ранее нами было показано, что прерывистая алкоголизация животных сопровождается выраженными изменениями гликолитического пути превращения углеводов [1]. Попытка коррекции этих нарушений дополнительным введением L-аргинина была малоэффективна. Поэтому нами для коррекции метаболитных нарушений при различных режимах алкоголизации была предложена композиция, где дополнительно к L-аргинину был использован глютамин и янтарная кислота [1].

Цель – изучить влияние композиции, состоящей из L-аргинина, L-глютамина и янтарной кислоты на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации.

Материал и методы исследований. В эксперименте были использованы белые крысы - самцы массой 180-200 г, которые подвергались хронической алкогольной интоксикации в течение 60 и 90 сут. Алкоголь вводили внутривентрально в дозе 4 г/кг 2 раза в сутки. Кроме того, была проведена модель прерывистой алкоголизации 60 и 90 сут. Опытным животным внутривентрально вводили смесь L-Аргинин (300 мг/кг) + L-Глютамин (300 мг/кг) + Сукцинат (50 мг/кг) (препарат 1) и смесь L-Аргинин (500 мг/кг) + L-Глютамин (500 мг/кг) + Сукцинат (50 мг/кг) (препарат 2) как при хронической, так и прерывистой алкоголизации. Животные из контрольной группы вместо этанола получали эквивалентное количество воды.

Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в плазме и печени определяли общепринятыми методами [3]. Активность аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ)) в плазме крови определяли по методу Райтман [3]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы StatSoft Statistica.

Результаты исследований и их обсуждение. Известно, что поражение печени является часто встречающимся осложнением алкоголизма [7]. Степень поражения печени алкоголем варьирует от слабопораженных обратимых нарушений до глубоких поражений ткани [9]. Воздействие гепатотропных ядов, к которым относится алкоголь, сопровождается цитолитическим синдромом, под которым понимают нарушение проницаемости клеточных и внутриклеточных мембран гепатоцитов [8]. В свою очередь, синдром цитолиза приводит к повышению активности трансаминаз, которые обеспечивают взаимосвязь между кетокислотами цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и аминокислотами [5].

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, 2, 3, как хроническая, так и прерывистая алкоголизация не сказались на скорости обеих трансаминазных реакций в сыворотке крови животных. Введение смеси препаратов снизило активность АЛТ в группах животных, получавших препарат 1 (L-Аргинин (300мг/кг) + L-Глутамин (300мг/кг) + Сукцинат (50мг/кг)) как при хронической, так и прерывистой алкоголизации. АЛТ также была ниже у животных получавших препарат 2 L-Аргинин (500мг/кг) + L-Глутамин (500мг/кг) + Сукцинат (50мг/кг) при прерывистой алкоголизации в 2-месячной модели опыта. По всей видимости, наиболее ранним признаком алкогольного поражения печени является повышение активности другого маркерного фермента – ГГТП, которое было отмечено нами ранее при хронической алкоголизации.

Таблица 1 – Влияние смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината на активность АЛТ, АСТ в сыворотке крови при абстиненции (30 сут) после ХАИ 60 сут.

Показатель	Контроль	ХАИ 2 мес+ 1 мес отмены	ХАИ 2 мес+ 1 мес. преп1	ХАИ 2 мес+ 1 мес. преп2
АСТ	0.23±0.012	0.24±0.009	0.25±0.015	0.23±0.009
АЛТ	0.21±0.013	0.19±0.009	0.17±0.014*	0.19±0.011

Таблица 2 – Влияние смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината на активность АЛТ, АСТ в сыворотке крови при прерывистой алкоголизации (60 и 90 сут).

Показатель	Контроль	Прер. алк 3 мес	Прер. алк 3 мес+ преп1	Прер. алк 3 мес+ преп2
АСТ	0.23±0.012	0.24±0.013	0.23±0.015	0.22±0.014
АЛТ	0.21±0.013	0.22±0.008	0.15±0.011*+	0.18±0.012
Показатель	Контроль	Прер. алк 2 мес	Прер. алк 2 мес+ преп1	Прер. алк 2 мес+ преп2
АСТ	0.23±0.012	0.23±0.008	0.2±0.008	0.22±0.015
АЛТ	0.21±0.013	0.21±0.011	0.21±0.015	0.17±0.008*+▲

Таблица 3 – Влияние смеси аминокислот(1-аргинина и 1-глутамин) и сукцината на активность АЛТ, АСТ, в сыворотке крови при ХАИ (60 сут.).

Показатель	Контроль	ХАИ 2 мес	ХАИ 2 мес+ преп 1	ХАИ 2 мес+ преп 2
АСТ	0.23±0.012	0.25±0.009	0.23±0.009	0.26±0.01
АЛТ	0.21±0.013	0.21±0.012	0.19±0.01	0.19±0.013

* - достоверно по отношению к контролю

+ - достоверно по отношению к группе 1

▲ - достоверно по отношению к группе 2

Большое значение в алкогольном поражении внутренних органов принадлежит ацетальдегиду, высокие концентрации которого после приёма алкоголя образуются именно в гепатоцитах и оказывают на них токсическое действие. Вероятно, в условиях различных видов хронической алкоголизации имеет значение соотношение активностей АДГ и АлДГ в печени. Играет определённую роль в поражении печени влияние ацетальдегида на гепатоциты. Хроническая алкоголизация сопровождается снижением активности АДГ. Препарат 1 снижает активность АДГ при прерывистой 3-месячной алкоголизации. Сниженная при 2-месячной прерывистой алкоголизации активность АДГ не уменьшалась при введении различных доз препарата. Можно полагать, что как хроническая алкоголизация, так и прерывистая снижают активность АлДГ и тем самым нарушают взаимодействия ферментных систем, обеспечивающих продукцию и утилизацию ацетальдегида в печени в условиях избыточного поступления этанола.

Изменения в обмене углеводов, по всей видимости, связаны со способностью продукта обмена этанола ацетальдегида активно взаимодействовать с аминокислотами, входящими в активные центры ключевых ферментов гликолиза, таких как ГЛК и ПК, и тем самым изменять скорость превращения углеводов гепатоцитах. Как видно из табл. 4, 5, 6, 7, хроническая (2, 3 мес) и прерывистая (2, 3 мес) алкоголизация сопровождается повышением активности ключевого фермента гликолиза ГЛК. При введении обеих доз комбинации препаратов наблюдается тенденция к нормализации активности ГЛК. При хронической (2 мес) алкоголизации повышенная активность ГЛК не нормализуется обеими комбинациями препарата.

Иная картина наблюдается при 3-месячной хронической алкоголизации, где активность ГЛК не превышала контрольных величин (6), а обе дозы препаратов активировали фермент более чем в 3 раза по сравнению с контролем. При 3-месячной прерывистой алкоголизации активность ГЛК выше контрольных величин. Но обе дозы препарата активируют ГЛК. Известно, что активность ГЛК активируется инсули-

ном. Вероятно, смесь обоих препаратов повышает синтез и секрецию инсулина, что нашло подтверждение в результатах наших экспериментов.

Анализируя результаты, приведенные в табл. 4 и 5, можно выявить снижение активности другого ключевого фермента гликолиза ПК. Введение обеих исследуемых доз комбинации не сказалось на скорости пируваткиназной реакции. Как при хронической 3-месячной, так и при 3-месячной прерывистой алкоголизации не отмечено изменений в активности пируваткиназы. Вероятно, что увеличение срока алкоголизации включает механизмы адаптации к повреждающему действию этанола, например, такой, как увеличение синтеза ферментного белка *de novo*.

Таблица 4 – Активность ЛДГ и ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при ХАИ (3 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината

Показатель	Контроль Группа 1	Группа 2 (ХАИ)	Группа 4 (ХАИ+Преп.1)	Группа 6 (ХАИ+Преп.2)
ГЛК, нмоль/мг белка/мин	3,80±0,30	3,75±0,51	12,45±1,23*+	12,20±1,27*+
ЛДГ, мкмоль/мг белка/мин	1,07±0,20	1,14±0,22	1,64±0,1*+	1,64±0,14*+
Пкиназа, мкмоль/мг белка/мин	0,51±0,06	0,53±0,05	0,53±0,03	0,54±0,06
Г6ФДГ, нмоль/мг белка/мин	26,75±4,46	20,87±5,04	31,48±3,9	32,62±5,03
АДГ, нмоль/мг белка/мин	19,05±2,82	14,58±0,69*	16,11±0,89	14,93±0,72
Лактат, мкмоль/1г. ткани	3,24±0,19	3,78±0,71	5,54±0,52*+	4,43±0,18
Глюкоза печень, мкмоль/1г. ткани	3,67±0,48	5,82±1,01	4,48±0,94	9,93±1,78*+
Гл-6 Ф, мкмоль/1г. ткани	0,23±0,04	0,19±0,01	0,16±0,03	0,26±0,02

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

+ - достоверно по отношению к соответствующей алкоголизированной группе

Таблица 5 – Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при прерывистой алкоголизации (3 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината

Показатель	Контроль Группа 1	Группа 3 (Прер.алк)	Группа 5 (Прер.+Преп.1)	Группа 7 (Прер+Преп.2)
1	2	3	4	5
ГЛК, нмоль/мг белка/мин	3,80±0,30	7,44±0,62*	9,58±1,85*	11,13±0,96*●
ЛДГ, мкмоль/мг белка/мин	1,07±0,20	1,54±0,07*	1,73±0,15*	1,46±0,15
Пкиназа, мк моль/мг белка/мин	0,51±0,06	0,52±0,05	0,48±0,09	0,39±0,04
Г6ФДГ, нмоль/мг белка/мин	26,75±4,46	25,07±4,36	26,52±3,55	32,15±4,83
АДГ, нмоль/мг белка/мин	19,05±2,82	17,04±0,63	13,27±1,68*	16,88±1,97
Лактат, мкмоль/1г. ткани	3,24±0,19	4,94±0,16*	5,74±0,34*	4,22±0,42

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5
Глюкоза печень, ммоль/1г. ткани	3,67±0,48	5,67±0,8	7,25±1,43*	5,90±0,41
Гл-6 Ф, ммоль/1г. ткани	0,23±0,04	0,24±0,02	0,38±0,04*●	0,22±0,04

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

● - достоверно по отношению к соответствующей алкоголизированной группе.

Таблица 6 – Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при абстиненции (30 сут) после ХАИ (2 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината.

Показатель	Контроль	Группа 1 (ХАИ)	Группа 3 (ХАИ+Преп.1)	Группа 5 (ХАИ+Преп.2)
ГЛК, ммоль/мг белка/мин	3,80±0,30	8,87±0,51*	5,57±1,06+	6,17±0,93+
ЛДГ, ммоль/мг белка/мин	1,07±0,20	1,01±0,15	1,29±0,15	1,17±0,09
Пкиназа, ммоль/мг белка/мин	0,51±0,06	0,37±0,02*	0,34±0,05*	0,34±0,03*
Г6ФДГ, ммоль/мг белка/мин	26,75±4,46	23,70±2,22	20,44±2,63	28,48±4,08
АДГ, ммоль/мг белка/мин	19,05±2,82	14,29±1,19	14,98±0,93	14,47±0,9
Лактат, ммоль/1г. ткани	3,24±0,19	5,05±0,44*	5,81±0,68*	5,73±0,65*
Глюкоза печень, ммоль/1г. ткани	3,67±0,48	7,52±1,30*	7,98±0,50*	4,95±0,49+
Гл-6 Ф, ммоль/1г. ткани	0,23±0,04	0,15±0,03	0,14±0,03	0,12±0,03*

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

+ - достоверно по отношению к соответствующей алкоголизированной группе

Таблица 7 – Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при прерывистой алкоголизации (2 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината

Показатель	Контроль	Группа 2 (Прер. алк)	Группа 4 (Прер.+Преп.1)	Группа 6 (Прер+Преп.2)
ГЛК, ммоль/мг белка/мин	3,80±0,30	9,53±0,70*	9,40±1,29*	6,67±0,75*
ЛДГ, ммоль/мг белка/мин	1,07±0,20	1,03±0,09	1,2±0,16	1,16±0,13
Пкиназа, ммоль/мг бел- ка/мин	0,51±0,06	0,35±0,05*	0,34±0,04*	0,31±0,07*
Г6ФДГ, ммоль/мг белка/мин	26,75±4,46	22,68±3,96	17,22±2,23	22,66±4,31
АДГ, ммоль/мг белка/мин	19,05±2,82	12,46±2,19*	12,76±1,03	13,86±1,26
Лактат, ммоль/1г. ткани	3,24±0,19	5,05±0,43*	5,48±0,53*	4,7±0,81
Глюкоза печень, ммоль/1г. ткани	3,67±0,48	4,27±0,52	4,47±0,55	4,42±0,29
Гл-6 Ф, ммоль/1г. ткани	0,23±0,04	0,26±0,06	0,19±0,02	0,19±0,05

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

Различные режимы алкоголизации не изменяли скорость ЛДГ реакции (табл. 7). Однако уровень лактата был повышен по сравнению с контрольными животными. Это, по всей видимости, можно объяснить снижением скорости глюконеогенеза, которое наблюдается при длительном хроническом употреблении этанола. Дополнительное введение исследуемых препаратов не изменяло содержание лактата в гепатоцитах.

2-месячная хроническая алкоголизация приводит к увеличению содержания глюкозы в печени (табл. 4). Введение препарата в большой дозе снизило содержание глюкозы до контрольных величин. С другой стороны, высокая доза препарата повышает стационарную концентрацию глюкозы при 3-месячной хронической алкогольной интоксикации (табл. 6). При прерывистой алкоголизации (3 мес.) низкая доза используемой комбинации препарата повышает уровень глюкозы (табл. 7). Обращает на себя внимание отсутствие изменений активности одного из ключевых ферментов пентозофосфатного пути Г-6-ФДГ (табл. 4, 7). Это предполагает отвлечение углеводов в ПФП.

Заключение. Таким образом, полученные данные говорят о том, что как хроническая, так и прерывистая алкоголизация сопровождается нарушением углеводного обмена, в частности, изменением скоростей ключевых реакций гликолиза, таких как ГЛК и ПК. Композиция, состоящая из L-аргинина, L-глутамина и янтарной кислоты, способна оказывать корректирующее влияние на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородинский, А.Н. Углеводный обмен при экспериментальном алкоголизме. А.Н. Бородинский, Ю.Е. Разводовский – LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, Saarbrücken. 2013.
2. Биохимия и алкоголизм (I): метаболические процессы при алкоголизме / И.М. Рослый [и др.] // Вопросы наркологии. – 2004. – № 2. – С. 70–79.
3. Колб, В.Г. Клиническая биохимия / В.Г.Колб, В.С. Камышников. — М.: Наука, 1976. – С.78-83.
4. Нефедов Л.И. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени / Л.И.Нефедов // Весні НАН Беларусі: сер. біял. навук. – 1997. - №2. – С. 39-48.
5. Островский, Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский. – Минск: Наука и техника, 1995. – 278 с.
6. Островский, Ю.М. Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя. / Ю.М. Островский [и др.] – Мн: Наука и техника. – 1988. – 263 с.
7. Lieber, C.S. Pathogenesis and treatment of alcoholic liver disease: progress over the last 50 yearsd / C.S. Lieber // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. – 2000. – Vol. 37, № 6. – P. 551–84.
8. Lieber, C.S. Metabolism of alcohol. / C.S. Lieber // Clin. Liver Dis. – 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 1–35.
9. Lieber, C.S. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. / C.S. Lieber // Alcohol. – 2004. – Vol. 34, № 1. – P. 9–19.

АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ НЕКОТОРЫХ ПУШНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

В.К. Вансяцкая, Е.А. Кирпанева

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

(Поступила в редакцию 29.06.2013 г.)

Аннотация. *Исследуемые нами пушные животные и лабораторные звери являются крайне важными для человека. Это источники отличного меха, диетического мяса и типичные лабораторные животные. Изучаемые в сравнительном анатомическом аспекте нижние челюсти этих животных имеют сходные черты, являющиеся базовыми для большинства млекопитающих. Однако виды обладают яркими отличиями. Данные особенности вызваны различным образом и условиями жизни, отличиями в питании. Характерные особенности строения нижней челюсти у пушных и лабораторных животных позволяют определить их видовую принадлежность.*

Summary. *Investigated fur animals and laboratory animals are essential for humans. It is a great source of fur, dietary meat and typical laboratory animals. Studied in a comparative anatomical aspect the lower jaws of these animals have similar features that are basic to most mammals. However, the species have vivid differences. These features are caused by different ways and living conditions, differences in nutrition. The characteristic features of the structure of the mandible of fur and laboratory animals can determine their species.*

Введение. Развитие морфологии связано с необходимостью научного решения задач перспективной отрасли современного животноводства – пушного звероводства. Изучение морфологии различных видов млекопитающих позволяет раскрывать еще неопознанные закономерности фило- и онтогенеза, адаптации этих животных к условиям содержания с ограниченной подвижностью в условиях промышленных звероводческих комплексов (И.И. Шмальгаузен, 1968; Н.А. Слесаренко, 1987; Ю.Ф. Юдичев, 1992; Г.А. Хонин, 2002-2006) [7].

Также исследования характеристик видовых особенностей не только пушных, но и лабораторных животных необходимы при ветеринарно-санитарной экспертизе.

Кролик домашний относится к отряду зайцеобразных, к семейству зайцевых. Это одомашненный дикий кролик. Он произошел от дикого кролика, родиной которого считают Испанию и Южную Францию. Дикие кролики были приручены более 2000 лет назад. В настоя-

щее время кроликов разводят почти во всех странах мира. Мясо кролика относится к белому мясу и рекомендуется как диетический продукт. Кроликов держат в качестве домашних питомцев, а также они используются как лабораторные животные [2, 3, 4, 6, 8].

Существует большое количество пород с мясным либо пушным направлением. В Республике Беларусь разведением перспективных европейских пород кроликов занимается СПК «Межаны».

Норка – хищное млекопитающее из семейства куньих. Длина тела достигает 50 см, масса самцов варьирует от 1,8 до 3,2 кг, самок – от 1 до 2 кг. Норка является источником ценного меха, поэтому активно разводится на пушных зверохозяйствах. В настоящее время крупнейшими производителями пушнины в Беларуси являются зверохозяйства Белкоопсоюза. Ежегодно в зверохозяйствах получают до 500 тыс. шкурок норки [1, 5, 8].

Хорек – хищник из семейства куньих. Хорек – источник отличного меха. Шубы из хорька более теплые, чем из норки. А также это хорошее домашнее животное с игривым нравом. В этой роли довольно популярен в США и Европе [7, 8].

Ондатра, или мускусная крыса, – млекопитающее подсемейства полёвок отряда грызунов; единственный вид рода ондатр. Длина тела до 35 см, хвоста – до 28 см, масса тела до 1,5 кг. Этот полуводный грызун родом из Северной Америки акклиматизирован в Евразии. Ондатра – один из важнейших пушных промысловых видов, даёт ценную прочную шкурку, также разводится в некоторых хозяйствах. Мясо съедобно, в Северной Америке этого зверька даже называют «водяным кроликом» [7, 8].

Морская свинка – вид одомашненных грызунов семейства свинок. Длина тела от 25 до 35 см, вес самца – 1000-1500 г, самки – 800-1200 г. Завезены в Европу из Южной Америки. Морская свинка широко используется как лабораторное животное. На них проводят испытания многих препаратов, также есть линии с врожденными заболеваниями обмена веществ. Морские свинки – хорошие домашние животные, доверчивые и добродушные, популярны в нашей стране [8, 4].

Заяц-русак – млекопитающее рода зайцев отряда зайцеобразных. Обычное животное Европы. Распространен по всей территории РБ. Длина тела 57-68 см, масса – 4-6 кг. Русак является ценным промысловым животным, объектом любительской и спортивной охоты. Добывается в значительных количествах ради мяса и шкуры [8].

Крыса – некрупное животное из отряда грызунов. Важна для исследований как лабораторное животное и как переносчик многих забо-

леваний. Также является и домашним питомцем, умным и сообразительным [8, 2].

Цель работы – выявить анатомические особенности костей кролика, норки, ондатры, хорька, морской свинки, крысы и зайца.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные результаты имеют определяющее значение для сравнительной и видовой морфологии пушных животных и лабораторных зверей, а также для диагностики нижнечелюстных костей при ветеринарно-санитарной экспертизе.

Материалы и методика исследований. Объектом для анатомо-морфологических исследований явились половозрелые особи кролика, норки, ондатры, морской свинки, крысы и зайца. Предметом изучения были нижнечелюстные кости от вышесказанных животных.

Исследования проводились нами на базе Витебской государственной академии ветеринарной медицины на кафедре анатомии животных.

Методика исследования включала: осмотр, измерение, сравнение и фотоэскизы.

Результаты исследований и их обсуждение. Кости нижней челюсти зайца значительно крупнее костей остальных животных (длиннее и шире). Из-за различий в способе добычи пропитания имеются характерные особенности. Так, у норки и хорька отсутствует беззубый край и ямка для жевательного мускула выражена очень сильно (хищник). Также отличается зубная формула – 2 клыка, 6 резцов и 10 коренных зубов у норки и хорька. У кролика и зайца зубная формула следующая: клыки отсутствуют, 2 крупных резца и 10 коренных зубов. У ондатры 2 очень крупные резца (желтого цвета с внешней стороны), 6 коренных и они очень плотно прилегают друг к другу (имеется беззубый край, ямка для жевательного мускула выражена слабее, сильнее развита ямка для крыловидной мышцы). У морской свинки – 2 крупных резца (меньше, чем у ондатры), а также 8 коренных зубов. У крыс – 2 резца и 6 коренных зубов. Также у кролика и зайца резцы широкие, острые, а у норки они слабо выражены и имеют треугольную форму (острым углом вниз, а тупой стороной вверх).

Коренные зубы у семейства зайцевых широкие и плоские, у ондатры слиты в одну коренную поверхность извилистой формы, у морской свинки зубы также образуют сплошную зубную поверхность, но прилегают друг к другу не так плотно (напоминают множество плотно подогнанных треугольников, направленных в одну сторону), у норки и хорька – треугольные, с острыми гранями, пильчатые. У крыс зубная поверхность усеяна маленькими бугорками.

Резцы у грызунов и зайцеобразных крупные и длинные, покрыты эмалью только с внешней стороны. Изнутри же их покрывает дентин. Поэтому резцы самозатачиваются. Также у этих видов резцы растут всю жизнь, что связано с большой нагрузкой на них при добыче пищи.

Кости нижних челюстей сращены наиболее плотно у норок (большее давление приходится из-за хищничества), также кости норок более прочные и толстые (причины те же). Кости ондатры выглядят немного по-другому: ветвь резко идет вверх от сосудистой вырезки, угол между телом и ветвью около 50° , ветвь немного смещена в бок и частично прикрывает коренные зубы с латеральной стороны. Резец длинный и широкий. Коренные зубы приподняты относительно беззубого края, угол между плоскостями близок к 90° . Нижняя челюсть морской свинки прямоугольная по форме, с резким переходом к резцовой части. Резцы довольно узкие, белые. Ветвь нижней челюсти тонкая, разделена глубокой полулунной вырезкой на 2 части. Есть сосудистые отверстия с медиальной и латеральной (на уровне коренных зубов) стороны. У крыс коренные зубы сильно приподняты над основанием нижней челюсти, хорошо выражена полулунная вырезка, все отростки ярко заметны. Также под мышечным отростком имеется бугорок, направленный вверх. Данный челюстной бугорок уникален и имеется только у крыс, другие исследуемые животные его лишены.

У кролика и зайца есть овальное отверстие, расположенное за коренными зубами, отсутствующее у других видов. Также у них передняя часть кости покрыта множеством отверстий.

У норки и хорька имеются по 2 резцовых отверстия разной формы. У норки – овальные, а у хорька отверстия имеют форму запятой. Грызуны резцовых отверстий не имеют.

Сильно отличаются и ветви нижней челюсти. У хорька и норки мышечный отросток очень крупный, треугольной формы, сильно приподнят над суставным. Суставной отросток имеет вид тонкой палочки, расположенной перпендикулярно плоскости мышечного отростка. У кролика и зайца мышечный отросток редуцирован и представлен тонкой, загнутой внутрь лопастью. Суставной отросток приподнят вверх, имеет овальную форму у кролика и каплевидную у зайца. Ондатра обладает небольшим, узким, треугольной формы мышечным отростком. Суставной отросток напоминает скругленный прямоугольник, немного шире, чем мышечный, имеет маленький бугорок на вершине. Находится на одном уровне с мышечным. У морской свинки мышечный отросток редуцирован, а суставной является продолжением ветви, небольшой, овальной формы. У крысы мышечный отросток тонкий, загнут

каудально. Суставной отросток узкий, расширением направлен краниально.

У морской свинки, ондатры и крысы по 1 подбородочному отверстию на каждой левой и правой костях. У хорька и норки – по 2-3. У зайца и кролика несколько крупных подбородочных отверстий и множество сосудистых.

Заключение. Нижние челюсти вышеописанных животных имеют сходные черты строения, являющиеся базовыми для большинства млекопитающих. Однако данные виды обладают яркими отличиями. Данные особенности вызваны различным образом и условиями жизни, отличиями в питании (норка и хорек – хищники, крыса – всеядное, а морская свинка, кролик, ондатра и заяц – травоядные животные). В ходе эволюции наиболее благоприятные особенности были закреплены. Результаты естественного отбора сильно сказались на животных.

Исследования анатомических особенностей нижнечелюстных костей дают возможность дифференцировать разных видов животных с использованием данных в ветеринарно-санитарной экспертизе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев, В.А. Клеточное пушное звероводство / В.А. Афанасьев, П.Ш. Перельдик. Москва : Колос, 1966. – 400 с.
2. Дорош, М.В. Болезни кроликов и нутрий / М.В. Дорош. – Москва : Сельхоз , 2009. – 91 с.
3. Кролиководство : учебники и учеб. пособия для студентов высших уч. заведений / Н.А. Балакирев [и др.]; под ред. Н.А. Балакирева. – Москва : Колос, 2007. – 232 с.
4. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. / И.П. Западнюк [и др.]. – 3-е изд., переработанное и дополненное. – Киев : Высшая школа, 1983. – 383 с.
5. Нутрии в приусадебном хозяйстве / В.Ф. Кладовщиков, Г.А. Кузнецов, Ю.А. Яковенко. – Москва : Россельхозиздат, 1987. – 80 с.
6. Пушное звероводство и кролиководство / В.Н. Помытко [и др.]. – Москва : Колос, 1982. – 239 с.
7. Слесаренко, Н. А. Структурные адаптации костной системы пушных зверей при различной двигательной активности: автореф. дис. . д-ра биол. наук / Н. А. Слесаренко. М., 1987. – 34 с.
8. Соколов, В.Е. Систематика млекопитающих (отряды Зайцеобразных, Грызунов) : учеб. пособие для университетов / В.Е. Соколов. – Москва : высшая школа, 1977. – 2 том. – 494 с.

ГЕМАТО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДОЙНЫХ КОРОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ В ФОРМЕ БОЛЮСА

Д.В. Воронов

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. В статье представлены результаты изучения показателей крови у коров, которым применяли кормовые добавки в форме болюса. Описано сравнение эффективности витаминно-минеральных добавок, которые дают с кормом и в форме болюса.

Summary. The article presents the results of the study blood indicators of the cows that used feed additives in the form of a bolus. The comparison of the efficacy of vitamin and mineral supplements is described which are allowed to feed and are used in the form of a bolus.

Введение. Обеспечение крупного рогатого скота достаточным количеством микроэлементов и витаминов является значимым для профилактики болезней на протяжении всего цикла эксплуатации животного. Коровы не получают необходимого количества микроэлементов и витаминов. Это связано с дефицитом биологически активных веществ в кормах [1] и наличием биогеохимических провинций [7; 9]. Все это приводит к снижению резистентности животных и частой заболеваемости в послеродовой период (задержкой последа, эндометритами, маститами и болезнями обмена веществ). Это ведет к значительным потерям молочной продуктивности и снижению товарности молока, так как в период лечения дойных коров молоко не может быть использовано для пищевых целей. Стоит отметить, что у коров с витаминно-минеральной недостаточностью повышается риск рождения неполноценного, с низкой резистентностью телят [8].

Дефицит микроэлементов и витаминов можно ликвидировать разными способами: путем введения их с водой, кормом, инъекционно [6]. Установлено, что при парентеральном введении витаминов и части минералов большая их часть теряется, не усваиваясь, так как не способна «включаться» в обменные процессы [5]. При скармливании микродоз с кормом поступление минералов и витаминов будет зависеть от интенсивности кормления, равномерности размешивания и т.п. Однако в сухостойный и послеотельный периоды аппетит у коровы снижен или может вообще отсутствовать, а потому премиксы и брикеты-лизунцы здесь могут оказаться малоэффективными. Альтернативным

способом ликвидации гиповитаминозов и микроэлементозов является дача витаминно-минеральных добавок в форме болюса. Такая форма введения имеет ряд особенностей: болюсы, находясь в пищеварительном тракте, способны длительно рассасываться; высвобождение микроэлементов и витаминов происходит ежедневно, порционно (предупреждение гипермикроэлементозов); поступление витаминов и микроэлементов не зависит от аппетита животного, качества кормосмеси, параметров микроклимата и других внешних факторов; поступление в организм микроэлементов и витаминов через пищеварительную систему позволяет полноценно включить их в обменные процессы; дача микроэлементов и витаминов исключает человеческий фактор (нет необходимости контролировать введение микродоз в кормосмесь, равномерность размешивания) [2].

В отечественной литературе мало данных, показывающих возможность применения витаминно-минеральных болюсов для профилактики гиповитаминозов и гипомикроэлементозов. Учитывая влияние полноценного кормления на здоровье коров, наличие у них дефицита микроэлементов и витаминов, возникла необходимость проведения исследований.

Цель работы – определить гемато-биохимические показатели при оценке эффективности кормовой добавки (КД) в форме болюса («Мегаболус») для крупного рогатого скота.

Материал и методика исследований. Опыты по оценке эффективности использования КД в форме болюса «Мегаболус» проводили в условиях «Ачукевичи» СПК «Принеманский» Новогрудского района Гродненской области.

Исследования организованы в рамках общекафедральной государственной темы научных исследований на 2011-2015 годы на кафедре акушерства и терапии УО «ГТАУ» «Мониторинг стад дойных коров для профилактики лактационного бесплодия и повышения молочной продуктивности».

Период проведения опытов – с 13 апреля по июнь 2012. Оценивали эффективность КД «Мегаболус» для дойных коров.

Схема опыта. Формировали две группы: контрольную и опытную. По 15 голов в каждой группе. Дозировка КД в форме болюсов: 2 штуки на голову. В контрольной группе использовали витаминно-минеральную подкормку, принятую в хозяйстве. Все группы животных содержались в однотипных условиях; кормление одинаковым рационом. Коровы всех групп в течение всего периода исследований подвергались принятым в хозяйстве профилактическим ветеринарным обработкам (вакцинации и др.).

КД «Мегаболюс» в виде болюса весит 107 граммов, из них активные компоненты составляют 78,6 граммов. Предназначен для *дойных коров*. Период рассасывания до 200-240 дней. Состав КД «Мегаболюс» представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Активные компоненты болюса «Мегаболюс»

Активные компоненты болюса	Содержание в одном болюсе, не менее
Цинк, мг	13550
Медь, мг	16500
Марганец, мг	8880
Селен, мг	245
Кобальт, мг	240
Йод, мг	252
Витамин А, тыс МЕ	475
Витамин Д, тыс МЕ	93
Витамин Е, мг	925

Для того чтобы болюс мог длительное время находится в сетке, используются специальные ингредиенты, которые позволяют поддерживать массу болюса постоянной, меняя его плотность (рисунок 1). Так, сразу после помещения болюса в сетку его плотность составляет 2,8-2,9 г/см³, в последствии, когда часть массы болюса теряется при рассасывании и он становится меньшего размера, его плотность меняется и становится 5 г/см³.



Рисунок 1 – Структура болюса «Мегаболюс»

Кровь для исследования брали до опыта и через 1,5 месяца. Исследования крови проводили в научно-исследовательской лаборатории

УО «ГТАУ», аккредитованной в органах БелГосСтандарта в соответствии с требованиями международного стандарта ИСО/МЭК 17025.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты гематологического исследования крови коров подопытной и контрольной групп после завершения опыта представлены в таблице 2. Животные как контрольной, так и подопытной групп испытывают значительную физиологическую нагрузку на организм. В целом, достоверных различий между опытной и контрольной группами не выявлено, но обращает на себя внимание увеличение лейкоцитов у животных обеих групп. Согласно литературным данным, лейкоцитоз у коров может быть предопределен введением вакцины, а также нагрузкой на иммунную систему при интенсивной эксплуатации животных.

Таблица 2 – Гематологические показатели ($M \pm m$)

Показатели	Контроль	Опыт	Норма
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	5,85	5,98	5,0-7,5
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	22,6	27,5	4,5-12,0
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	204	254	250-450
Гемоглобин, г/л	103,5	98,3	90-120
Гематокрит, %	27,0	26,7	35-46
РЭрО ⁺ , %	15,55	17,4	11,5-14,5
ЦП, ед.	1,25	1,15	0,85-1,15
СГЭ ⁺ , пг	17,8	16,5	13-17

Примечание: * РЭрО – распределение эритроцитов по объему, ЦП – цветовой показатель; СГЭ – содержание гемоглобина в эритроците.

На более активный гемопоэз в подопытной группе может указывать показатель – количество тромбоцитов и РЭрО, которые составили $254 \times 10^9/л$ и 17,4%, а в контроле – $204 \times 10^9/л$ и 15,55% соответственно. При этом у коров контрольной группы наблюдали увеличение ЦП ($1,25 \pm 0,08$ ед.) и СГЭ ($17,83 \pm 1,17$ пг). Эти показатели были выше, чем аналогичные у животных подопытной группы, а также не соответствовали физиологически допустимым нормам. Такие изменения характерны для скрытой анемии, при которой эритроциты не приобретают типичный размер вследствие дефицита витаминов и микроэлементов (меди, марганца) [3]. Остальные показатели не имели значительных отличий.

В таблице 1 представлены результаты биохимического исследования крови от молочных коров МТК «Ачукевичи», которым задавали КД «Мегаболюс».

Согласно представленным данным, у животных произошло существенное изменение параметров белкового обмена (таблица 3). В частности, количество общего белка увеличилось на 25,7%. При этом повысилось количество альбуминовой фракции ($32,2 \pm 0,9$ против показателя

теля до опыта, равного $22,49 \pm 0,8$). Процент альбуминовой фракции также вырос. Такое изменение описываемых показателей указывает на увеличение потребления белковой части корма. Это характерно для животных на раздое из-за концентратного типа кормления [2; 3]. Обычно это приводит к повреждению гепатоцитов вследствие развития кетоза. Компоненты КД «Мегаболюс» оказали гепатопротекторный эффект, защитив печень. Это подтверждает тот факт, что увеличение процента альбуминов указывает на синтетическую способность печени, что является положительной стороной при описании здоровья коров. На увеличение альбуминовой фракции также указывает А/Г-соотношение. Оно увеличилось с 0,5 до 0,6 единиц.

Таблица 3 – Показатели белкового обмена ($M \pm m$)

Показатель	Опыт		Контроль	
	до опыта	через 1,5 месяца	до опыта	через 1,5 месяца
Белок, г/л	$64,13 \pm 1,5$	$86,40 \pm 3,7$	$73,03 \pm 7,0$	$78,6 \pm 4,7$
Альбумины, г/л	$22,49 \pm 0,8$	$32,20 \pm 0,9$	$19,88 \pm 2,0$	$30,2 \pm 1,5$
Альбумин, %	$35,23 \pm 1,9$	$37,42 \pm 0,9$	$27,93 \pm 3,4$	$39,1 \pm 3,9$
Глобулин, г/л	$41,65 \pm 2,0$	$54,2 \pm 2,9^*$	$53,15 \pm 7,5$	$48,4 \pm 5,9$
А/Г, ед.	$0,55 \pm 0,01$	$0,6 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$

В контрольной группе показатели белкового обмена в конце отчетного периода изменились. Регистрировали увеличение общего количества белка на 4,5%. Однако наибольшее изменение было связано с альбуминовой фракцией: она увеличилась до 30,2% (до опыта 19,8%). О значении данной фракции с точки зрения клинической биохимии и диагностики говорилось выше. Стоит добавить, что А/Г-соотношение увеличилось до 0,7.

Изменились показатели минерального обмена (таблица 4). Через 1,5 месяца произошло увеличение количества кальция при неизменившемся существенно уровне фосфора. Это привело к изменению Са/Р-соотношения (1,45 в начале опыта и 2,08 – в конце). Это объясняется особенностями кормления животных в данный период лактации.

Наиболее значимые изменения произошли с показателями уровня железа и магния. Количество железа выросло на 19,7%. Увеличение количества магния напрямую подтверждает способность болюсов «Мегаболюс» обеспечивать организм коровы минералами. В частности, в состав данной добавки входит соль магния, а у животных через 1,5 месяца регистрируется существенный рост его уровня. Увеличение составило 36,4%. Нужно также учесть, что при кормлении молодой травой (в мае) у животных количество магния снижается, что приводит к развитию пастбищной тетании [6]. У данной группы коров это не произошло. В контрольной группе количество железа также выросло

на 15,2% в сравнении с периодом до опыта. В два раза вырос уровень магния в крови. О значении таких изменений описано выше.

Таблица 4 – Показатели минерального обмена ($M \pm m$)

Показатель	Опыт		Контроль	
	до опыта	через 1,5 месяца	до опыта	через 1,5 месяца
Ca, ммоль/л	1,83±0,1	2,49±0,1	1,64±0,2	2,3±0,02
P, ммоль/л	1,28±0,01	1,22±0,1*	1,14±0,01	1,3±0,2
Ca/P, ед.	1,45±0,1	2,08±0,2	1,4±0,1	1,8±0,2
Железо, мкмоль/л	19,01±0,5	23,68±2,0	19,33±1,0	22,8±1,2
Магний, ммоль/л	0,77±0,01	1,21±0,1	0,68±0,1	1,2±0,1

Показатель уровня глюкозы низкий как в начале опыта, так и через 1,5 месяца (таблица 5). На фоне высокой концентрации белка это может служить основой для развития кетоза. У данных животных, в целом, можно констатировать предкетозное состояние [6]. Это подтверждает наличие опасности для здоровья коров из-за риска накопления кетоновых тел с дальнейшим повреждением печени и др. внутренних органов.

Таблица 5 – Биохимические показатели крови ($M \pm m$)

Показатель	Опыт		Контроль	
	до опыта	через 1,5 месяца	до опыта	через 1,5 месяца
Глюкоза, моль/л	1,63±0,1	1,86±0,2*	1,35±0,2	1,3±0,2
Хол-рин, моль/л	2,15±0,3	4,65±2,8	1,69±0,2	2,7±2,3
АлАТ*, Ед/л	30,26±2,3	27,65±2,8	27,18±1,9	26,3±2,3
АсАТ*, Ед/л	65,13±5,1	57,0±5,3	57,6±1,8	48,7±2,8
Коэфф. де-Ритиса	1,97±0,3	2,11±0,2	2,12±0,2	1,9±0,2
Бил-бин, мкмоль/л	5,40±1,3	8,08±0,9*	6,41±0,9	7,6±2,1
ГГТ*, Ед/л	17,67±1,9	13,33±2,8	12,0±1,1	13,0±2,3
Магний, ммоль/л	0,77±0,01	1,21±0,1	0,68±0,1	1,2±0,1
Мочевина, ммоль/л	3,07±0,8	5,68±0,8	3,4±1,0	5,0±0,3

Примечание: АлАТ – аланинаминотрансфераза; АсАТ – аспартатаминотрансфераза; ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза.

Гепатоспецифические ферменты указывают на функциональное состояние печени, а также целостность структуры гепатоцитов [3; 4]. Как правило, при гепатите, гепатодистрофии их количество постепенно увеличивается. В данном случае наблюдается снижение выше перечисленных ферментов. Количество АлАТ снизилось на 8,6%, АсАТ – на 12,5%, ГГТ – на 24,5% в сравнении с периодом до опыта. У контрольных животных гепатоспецифические ферменты за весь период опыта не имели существенных колебаний (от 3 (АлАТ) до 15% (ГГТ)).

Увеличение количества билирубина и мочевины, как правило, происходит при усилении белкового обмена. Эти показатели не превышают предельные границы физиологической нормы.

Заключение. Гемато-биохимические показатели крови у подопытной группы подтверждают способность болусов влиять на обмен веществ положительно. Установлено наличие ряда факторов: оптимизация рациона по микроэлементам и витаминам и гепатопротекторное влияние компонентов добавки. КД «Мегаболус» активизирует анти-токсическую функцию организма и повышают иммунную реактивность животных.

Несмотря на длительный период рассасывания, КД в форме болуса способна снабжать организм дойных коров микроэлементами и витаминами на высоком уровне. Применение болусов не имеет существенных недостатков в сравнении с КД, которые вводят в кормосмесь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Битюцкий, Н.П. Микроэлементы высших растений / Н.П. Битюцкий. – С-П: Издательский Дом С.-П. гос-го ун-та, 2011. – 366 с.
2. Воронов, Д.В. Новый способ профилактики дефицита микроэлементов и витаминов у высокопродуктивных коров в период / Д.В. Воронов, Ю.Н. Бобёр, А.В. Сенько // Наше сельское хозяйство. – 2011. – № 8. – С. 2-4.
3. Джексон, М.Л. Ветеринарная клиническая патология. Введение в курс / М.Л. Джексон; Пер с англ. Т. Лисициной. – М.: «Аквариум-Принт», 2009. – 384 с.
4. Камышников, В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник: В 2 т. / В.С. Камышников. – 2-е изд. – Мн.: Интерпрессервис, 2003. – Т.1 и 2.
5. Кучинский, М.П. Биоэлементозы животных / М. П. Кучинский, И. М. Карпуть, А. П. Курдеко // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария: международный научно-теоретический журнал. – 2006. – № 1. – С. 11-15.
6. Кучинский, М.П. Современные проблемы минерального питания сельскохозяйственных животных и пути их решения / М.П. Кучинский // Современные вопросы патологии сельскохозяйственных животных: Материалы международной научно-практической конференции. – Минск, 2003. – С. 22-24.
7. Физиологический статус и его коррекция у жвачных, всеядных животных и птиц в биогеохимических условиях региона Н. Волги: монография / Д.В. Воробьев [и др.]. – Санкт-Петербург: Лань, 2011. – 180 с.
8. Органический селен в рационе телят / А. Шимкус [и др.] // Материалы конференции "Современные технологии сельскохозяйственного производства": X международная научно-практическая конференция. – Гродно, 2007. – С. 182.
9. Grodzinska K. et al., 2003. Trace element contamination in industrial regions of Poland studied by moss monitoring. Environ. Monit. Assess 2003; 87, 255-270.

УДК 619:613.31

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

М.В. Горовенко

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

(Поступила в редакцию 30.06.2013 г.)

Аннотация. В статье представлены результаты исследований качества воды по сезонам года. Результаты исследований показывают, что качество воды изменяется в зависимости от удаленности от животноводческого объекта. Установлено влияние животноводческого объекта на физико-химические, биологические показатели воды.

Summary. The article presents the results of studies of water quality by season. The research results show that the quality of the water varies depending on the distance from the livestock facility. The effect of the livestock facility on the physico-chemical and biological properties of water has been established.

Введение. Неблагоприятное санитарно-паразитологическое состояние поверхностных водных объектов отрицательно сказывается на качестве питьевых и подземных вод, особенно в условиях недостаточной защиты водоносных горизонтов. При этом следует иметь в виду, что яйца гельминтов могут сохранять жизнеспособность в воде до трех лет [10, 11].

Результаты гигиенического мониторинга за состоянием поверхностных водных объектов свидетельствуют, что санитарное состояние источников водоснабжения остается неудовлетворительным [1, 4, 5, 7].

Кроме того, необходимо отметить рост за последние годы количества проб воды из поверхностных источников, в которых выделяются возбудители инфекционных и паразитарных заболеваний – с 0,44% в 1997 г. до 1,35% в 2010 г [8].

По данным литературы, особенно тяжелое положение сложилось с открытыми источниками водоснабжения, 46,5% которых не соответствует санитарным нормам, в том числе 38,4% – из-за отсутствия зон санитарной охраны. Доля проб воды, не отвечающей гигиеническим нормам, составляет в среднем 27,0% по санитарно-химическим показателям и 21,6% – по микробиологическим [2, 3, 6, 9].

Цель работы – провести экологический мониторинг источников водоснабжения животноводческих объектов в летне-осенний период на территории Витебской области и установить уровень загрязнения их инвазионным материалом.

Материал и методика исследований. Работа проводилась в пяти хозяйствах Витебской области. На каждой ферме поголовье крупного рогатого скота составляло около 200 голов. Животные содержались в типовых помещениях, а в пастбищный период выпасались на культурных пастбищах. Поение животных осуществлялось из групповых поилок. Лабораторные исследования проводились на кафедрах зоологии, гигиены животных, паразитологии и инвазионных болезней животных УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» в 2011-2013 годах.

Обследовались источники водоснабжения: поилки на пастбищах, колодцы вблизи животноводческих объектов.

Использовались гельминтологические, микробиологические, органолептические и физико-химические методы исследования воды по сезонам года.

Для проведения мониторинга водных объектов в районе животноводческого комплекса исследовалась питьевая вода: в колодцах на расстоянии 0,5 и 1,0 км от фермы, групповых поилках – на пастбищах.

Пробы питьевой воды в условиях ферм брались 1 раз в квартал по сезонам года из следующих точек: поилка на пастбище, колодцы на расстоянии 0,5 и 1,0 км от фермы.

Для общего лабораторного анализа бралась проба воды в объеме 1 литр. При отборе проб воды из источника сосуд предварительно ополаскивали 2-3 раза исследуемой водой. После набора сосуд закрывали пробкой. Забор из колодцев производили утром до массового забора и вечером.

Пробы воды отбирали в отдельные банки с широким горлом (80 мм) емкостью 3000 мл, для этого использовали посуду из стекла. Вся используемая посуда мылась моющими средствами, ополаскивалась раствором соляной кислоты и высушивалась.

Для транспортировки склянки с пробами помещали в ящик, обитый войлоком. Хранили пробы воды в холодильнике после консервирования 25%-ым раствором серной кислоты (2 мл на 1 л воды).

Пробы для бактериологического анализа брали в стерилизованные сосуды. Стерилизацию посуды производили в автоклаве в течение 20 минут при давлении 1,5 атмосферы.

Физические и органолептические свойства воды, химико-бактериологический анализ воды осуществляли согласно методике, предусмотренной СанПиН 10-124 РБ 2002 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения» на кафедре гигиены животных УО «ВГАВМ».

Для гельминтологического исследования воды отбор проб проводили из разных источников. Из поилок брали по 10 литров воды, колодцев – по 50.

Наличие яиц гельминтов в воде определяли согласно «Ветеринарно-санитарным правилам по паразитологическому обследованию объектов внешней среды», 2008г. Для этого пробу воды помещали в стеклянную емкость и давали отстояться 2-3 часа. Затем надосадочную жидкость сливали, оставляя на дне 25-50 мл осадка. Осадок центрифугировали в центрифужных пробирках 2-3 минуты при 1500 оборотах в минуту. После центрифугирования надосадочную жидкость удаляли, а осадок переносили на предметные стекла и исследовали под микроскопом.

Мутность воды измеряли количеством миллиграммов взвешенных веществ в 1 литре воды.

Количество нитритов, нитратов, хлоридов в воде определяли фотометрическим методом.

Общие колиформные бактерии и общее микробное число определяли согласно методике «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды» МУК РБ №11-10-1-2002 от 25.02.2002 года.

Результаты исследований и их обсуждение. Установлено, что содержание яиц стронгилят желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота в воде в групповой поилке на пастбище в летний период находилось в пределах 95-143 шт. в 20 полях зрения микроскопа (ПЗМ). Осенью отмечен рост этого показателя в среднем на 38,6%. Несколько иной была картина по содержанию яиц стронгилят в летний период в колодце на расстоянии 0,5 км от животноводческой фермы – количество их составляло от 6,2 до 51,0 шт. в 20 ПЗМ. В осенний период количество яиц стронгилят в колодце 0,5 км от фермы было незначительное (2-13 шт. в 20 ПЗМ). В колодце на расстоянии 1,0 км от фермы загрязненность воды яйцами стронгилят была незначительной. Так, в летний период их содержалось от 2,1 до 24,0 шт. в 20 ПЗМ, а осенью – 0-2,0 шт. в 20 ПЗМ.

Содержание личинок стронгилоидесов в летний период в поилках на пастбище составляло от 48,5 до 94,0 шт. в 20 ПЗМ, а в осенний период – от 64,0 до 108,0 шт. в 20 ПЗМ. Таким образом, рост личинок стронгилоидесов составил в среднем 27,8%. В колодце на расстоянии 0,5 км от фермы в летний период встречались единичные личинки стронгилоидесов (0-4,0 шт. в 20 ПЗМ), а в осенний период они не были обнаружены. В воде колодца на расстоянии 1,0 км от фермы личинки стронгилоидесов практически отсутствовали во всех изучаемых объектах.

Важным показателем качества воды является содержание в ней общих колиформных бактерий. Установлено, что в поилках на пастбищах содержание этих бактерий в летний период составляло от 13,0 до 21,0 КОЕ в 1 см³. В осенний период установлен рост этого показателя в поилках на пастбище на 39,9%. В колодце на расстоянии 0,5 км от фермы содержание общих колиформных бактерий в летний период было в пределах 7,0-14,0 КОЕ в см³. В осенний период отмечен рост этого показателя до 13,2-24,5 КОЕ в см³. В колодце на расстоянии 1,0 км от фермы содержание общих колиформных бактерий в летний период было на 34,7%, а в осенний период – на 24,8% меньше, чем в колодце на расстоянии 0,5 км от фермы.

Нами определено общее микробное число в воде в летний и осенний периоды. Установлено, что в воде поилки на пастбище в летний период этот показатель находился в пределах 52,0-116,0 КОЕ в см³, а в осенний период отмечен рост до 111,2-211,0 КОЕ в см³. В колодце на расстоянии 0,5 км от фермы общее микробное число в летний период составляло 24,5-64,2, а в осенний период его значение находилось в пределах 56,0-98,5 КОЕ в см³. Значительно ниже этот показатель был в воде колодца на расстоянии 1,0 км от фермы и составлял летом в среднем 15,9, а осенью 51,4 КОЕ в см³.

Установлено, что в изучаемые периоды года вода по отдельным показателям не соответствовала санитарно-гигиеническим нормам. Так, мутность воды летом и осенью превышала эти нормы на 20,0-34,0% и составляла в поилках на пастбище в летний период – 1,8-3,4 мг/дл³, а в осенний период – 2,3-3,2 мг/дл³. В колодцах на расстоянии 0,5 и 1,0 км от фермы в летний период мутность воды была в пределах нормы и составляла 1,0-2,0 мг/дл³. В осенний период в колодце на расстоянии 0,5 км этот показатель превышал норму на 7%, а в колодце на расстоянии 1,0 км от фермы – на 2,0%.

Содержание нитритов в воде представлено на рисунке 1.

Установлено, что как в летний, так и в осенний период года в воде обследуемых объектов находилось высокое содержание нитритов. При этом по мере удаления от животноводческой фермы содержание их в колодцах снижалось.

Аналогичная ситуация сложилась и по содержанию нитратов в воде. Так, в летний период в поилке на пастбище их количество составляло 7,5-17,2 мг/дл³, а в осенний период – 11,3-19,1 мг/дл³. В колодце на расстоянии 0,5 км от фермы летом количество нитратов было – 4,4-10,8, а осенью – 9,7-15,2 мг/дл³, а в колодце на расстоянии 1,0 км от фермы летом – 2,2-4,8 мг/дл³, а в осенний период – 2,6-12,5 мг/дл³.

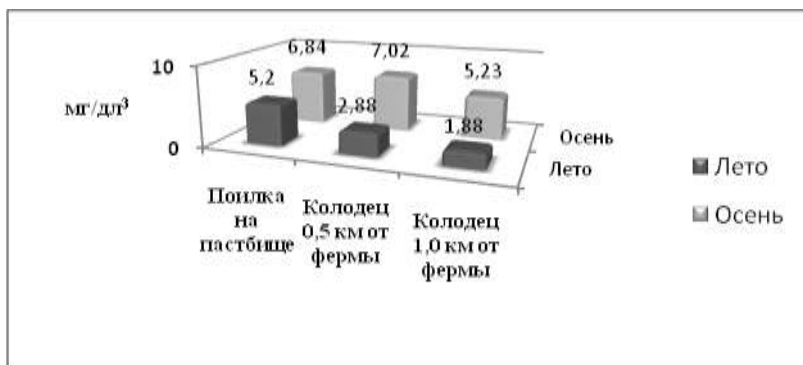


Рисунок 1 – Содержание нитритов в воде в летне-осенний период (мг/дл³)

Содержание хлоридов в воде поилки на пастбище в летний период составляло 195,0-315,0 мг/дл³, а осенью этот показатель значительно повышался и составлял в среднем 248,2 мг/дл³. В колодце на расстоянии 0,5 км от фермы содержание хлоридов летом было в пределах 71,5-151,7 мг/дл³, а в осенний период – 79,0-257,0 мг/дл³. В колодце на расстоянии 1,0 км от фермы этот показатель был значительно ниже и составлял в среднем 43,04, а осенью – 89,02 мг/дл³.

Отмечено, что содержание хлоридов в воде значительно изменялось как по сезонам года, так и в зависимости от расстояния от фермы.

Общая жесткость воды представлена на рисунке 2.

Исследованиями было выявлено, что общая жесткость воды во все периоды была выше нормативной, особенно в воде поилок на пастбище. Также наблюдалась высокая жесткость воды в колодцах на расстоянии 0,5 и 1,0 км от животноводческой фермы.



Рисунок 2 – Общая жесткость воды в летне-осенний период (мг-экв/дл³)

Установлено, что содержание сухого остатка в воде в летний период в поилках на пастбище составляло 204,0-301,0 мг/дл³, а осенью наблюдалось повышение этого показателя на 5,4% (194,0-309,0 мг/дл³). В колодце, находящемся на расстоянии 0,5 км от фермы в летний период содержание сухого остатка находилось в пределах 116,0-168,0 мг/дл³, а осенью повышалось на 50,9% (152,2-274,0 мг/дл³). Значительно ниже этот показатель был в воде колодца на расстоянии 1,0 км от фермы. В летний период содержание там сухого остатка находилось в пределах 54,0-110,0 мг/дл³, а в осенний период – 82,0-134,0 мг/дл³.

Окисляемость воды в летне-осенний период представлена на рис. 3.

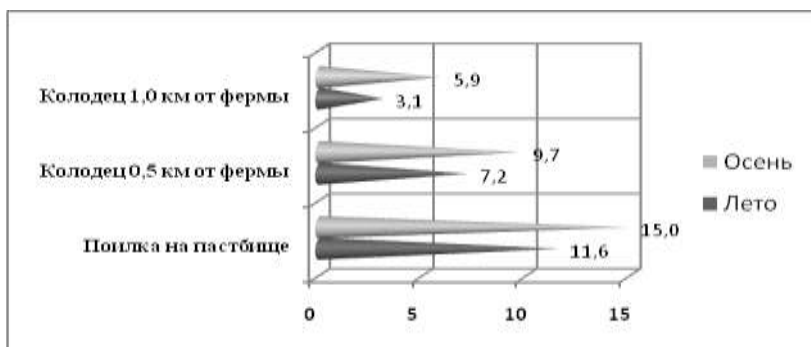


Рисунок 3 – Окисляемость воды в летне-осенний период (мг/дл³)

Окисляемость воды в поилке на пастбище была высокой (11,56-14,98 мг/дл³), при этом в осенний период года выше на 29,6%, чем в летний. Аналогичная ситуация наблюдалась и в воде колодцев.

Из рисунка видно, что вода содержит в своем составе достаточно большое количество органических веществ, так как окисляемость является косвенным показателем загрязнения ее органикой.

Закключение. Исследования воды, применяемой для поения животных на пастбище, а также из колодцев на расстоянии 0,5-1,0 км от фермы показали, что в ней находятся яйца стронгилят и личинки стронгилоидесов. Вода содержит общие колиформные бактерии и значительно загрязнена микроорганизмами. В исследуемые сезоны установлено высокое содержание нитритов в воде. В целом качество воды в исследуемых источниках ухудшалось к осени и ее качество зависело от удаленности водоисточника от животноводческого объекта. Отмечена взаимосвязь между качеством воды по химическим и биологическим свойствам и ее загрязненностью инвазионным материалом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадьина, В.М. Сельскохозяйственная экология / В.М Бадьина: БГЭУ. – Минск, 2000. – С. 84.
2. Банников, А.Г. Основы экологии и охраны окружающей среды/Банников А.Г., Вакулин А.А., Рустамов А.К.; под общ. ред. Л.Л. Вакулин – 4-е изд., перераб. и доп., – М.: Колос, 1999. – С. 30.
3. Брило, И.В. Качество питьевой воды и здоровье животных / И.В.Брило, А.Ф. Трофимов, Н.А. Садонов // Ученые записки. Витебск – 2007. – том № 43, выпуск № 1. – С. 39–42.
4. Міжнародны экалагічны досвед і яго выкарыстанне на Беларусі // сб. навук. арт. пад агул. рэд. У.К. Слабіна / Віцебск, 2003. – С. 275.
5. Плященко, С.И. Санитарно-гигиенические качества питьевой воды артезианских скважин, снабжающих свиноводческие фермы и комплексы Минской области / С.И. Плященко, О.И Чернов // Весці Акадэміі навук БССР. Серыя сельскагаспадарчых навук. – 1989. – № 3. – С. 116–118.
6. Позин, С.Г. О микробиологическом критерии эпидемических водных вспышек острых кишечных инфекций. / С. Г. Позин, В.С. Голуб, В.П. Филонов [и др.] // 4 Междунар. конгресс «Вода: экология и технология». – Москва, 2000. – С. 76–78.
7. Савенок, А.Ф. Основы экологии и рациональное природопользование / А.Ф. Савенок, Е.И. Савенок – Минск: Сер-Вит 2004. – С. 42–49.
8. Субботин, А. М. Гельминты как основной компонент паразитарной системы животных / А. М. Субботин // Ученые записки учреждения образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины" : научно-практический журнал. - 2012. - Т. 48, вып. 1. - С. 203-206.
9. Трофимов, А.Ф., Брило, И.В. Влияние качества питьевой воды на продуктивность и здоровье крс // Весці НАН Беларусі. Сер. аграр. навук. 2009. - №4. – С. 92-96.
10. Ятусевич, А.И. Паразитология и инвазионные болезни животных: учебник для студентов / А.И. Ятусевич, Н.Ф. Карасев, М.В. Якубовский; ред. А.И. Ятусевич. - Минск: ИВЦ Минфина, 2007. - 579 с.
11. Ятусевич, А.И. Справочник по ветеринарной и медицинской паразитологии / А.И. Ятусевич, И.В. Рачковская, В.М. Каплич. - Минск : Техноперспектива, 2011. - 443 с.

**ДИНАМИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ
В ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНАХ МОЛОДНЯКА КУР
ПРИ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНАЦИИ
ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ,
ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА И ССЯ-76**

**И.Н. Громов¹, Е.И. Большакова¹, И.В. Насонов²,
В.С. Самсонова¹, С.С. Галенко¹**

¹— УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,

г. Витебск, Республика Беларусь;

² — РУП «Институт экспериментальной ветеринарии

им. С.Н. Вышелецкого НАН Беларуси»,

г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Установлено, что иммунизация молодняка кур против ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита и синдрома снижения яйценоскости инактивированной вакциной, разработанной в ИЭВ им. С.Н. Вышелецкого, вызывает развитие в печени птиц более выраженных иммуноморфологических изменений по сравнению с вакциной «СЕВАК» (Венгрия). При этом обе вакцины обладают умеренной реактогенностью. В почках вакцинированных цыплят обеих групп выявлялись кратковременная зернистая и вакуолярная дистрофии. Иммуноморфологические реакции в почках вакцинированных птиц не продолжительны. Они характеризуются разной интенсивностью лимфоидно-макрофагальной инфильтрации данного органа, которая завершается к 7 дню эксперимента. Применение молодняку кур инактивированных вакцин против НБ, ИБК и ССЯ-76 производства ИЭВ им. С.Н. Вышелецкого и фирмы «СЕВАК» не оказывают существенного влияния на морфологию легких и сердца птиц.

Summary. It is established that immunization of young chickens against Newcastle disease, infectious bronchitis and egg drop syndrome -inactivated vaccine developed in Institute of the Experimental Veterinary after SN Vyshellesski, causes the development of more severe liver bird immunomorphological changes compared with the vaccine, "SEVAK" (Hungary). In this case, both vaccines have mild reactogenicity. In the kidneys of both groups of vaccinated chickens short-grained and vacuolar dystrophy were detected. Immunomorphological reaction in the kidneys of vaccinated birds was not prolonged. They are characterized by different intensity of lymphoid-macrophage infiltration of the body, which is completed by the 7th day of the experiment. The use of inactivated vaccines for young chickens against NB, IBH and EDS -76 produced by IEV after S. Vyshellesski and firms 'CE - WAC' did not have a significant effect on the morphology of the heart and lungs of birds.

Введение. Птицеводству в нашей стране принадлежит одно из ведущих мест среди других отраслей сельского хозяйства в обеспечении продовольственной безопасности государства. Данная отрасль характеризуется высокой эффективностью производства за счет концентрации большого поголовья на ограниченной территории, применения современных технологий и получения максимального количества продукции при минимальных материальных и временных затратах [3, 4, 7, 8]. Развитие птицеводства во многом определяет сохранность молодняка, а этот показатель зависит прежде всего от резистентности организма птицы [10]. Это, в свою очередь, может быть достигнуто при рациональном и своевременном проведении специальных мероприятий, в том числе вакцинации. Программа специфической профилактики инфекционных болезней птиц включает иммунизацию ремонтного молодняка кур инаktivированными вакцинами, а также применение цыплятам живых вирус-вакцин по мере снижения уровня трансовариального иммунитета. Разрабатываемые и предлагаемые на рынке биопрепараты обладают разной иммуногенностью и остаточной реактогенностью. Основными критериями оценки иммуногенности биопрепаратов выступают напряженность и длительность поствакцинального гуморального иммунитета, а также интенсивность иммуноморфологической перестройки [5, 6]. Для определения реактогенных свойств вакцин чаще используются тесты с определением местных тканевых реакций на месте введения живых и инаktivированных биопрепаратов. На наш взгляд, эти критерии являются недостаточно объективными для оценки воздействия компонентов вакцин на организм животных. Поэтому изучение структурных изменений в паренхиматозных органах птиц при иммунизации позволяет наиболее полно и объективно оценить безопасность конкретного биопрепарата [1, 2, 9].

Цель работы – изучение морфологических изменений в печени, почках, легких и сердце птиц при ассоциированной парентеральной иммунизации против ньюкаслской болезни (НБ), инфекционного бронхита кур (ИБК) и синдрома снижения яйценоскости -76 (ССЯ-76).

Материал и методика исследований. В опыте было использовано 2020 птиц 110-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов и разделённых на 3 группы. Молодняк кур 1 группы (1000 птиц) иммунизировали против НБ, ИБК и ССЯ-76 жидкой инаktivированной вакциной ИЭВ им. С.Н. Вышелесского. Птиц 2 группы (1000 птиц) иммунизировали против НБ, ИБК и ССЯ-76 инаktivированной эмульсин-вакциной «СЕВАК» (Венгрия). Интактный молодняк кур 3 группы (20 птиц) служил контролем. Вакцинацию птицы 1 и 2 групп проводили в 110-дневном возрасте однократно, внутримышечно, в дозе 0,5 мл.

На 3, 7 и 14 дни после вакцинации по 4-5 птиц из каждой группы убивали.

Для изучения морфологических изменений отбирали печень, почки, легкие и сердце. Материал фиксировали в 10%-м растворе формалина. Зафиксированные кусочки органов подвергали обезвоживанию и парафинизации с помощью автомата для гистологической обработки ткани типа «Карусель», модель STP-120 (Microm International, Германия). Для изготовления парафиновых блоков использовали станцию для заливки ткани ЕС 350 (Microm International, Германия). Гистологические срезы готовили на ротационном микротоме НМ 340Е (Microm International, Германия). Депарафинирование гистосрезов проводили в автомате по окраске HMS 70 (Microm International, Германия). Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Результаты исследований и их обсуждение. Было установлено, что в печени молодняка кур в разные сроки исследований структурных изменений не выявлялось (рисунок 1), лишь у отдельных птиц контрольной группы отмечалась очаговая зернистая дистрофия.

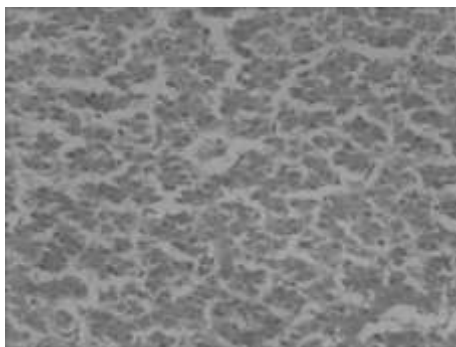


Рисунок 1 – Нормальная структура печени молодняка кур контрольной группы. 3 день эксперимента. Микрофото. Гематоксилин-эозин.

Биомед-6. Ув. x 500

Иммунизация молодняка кур 1 и 2 групп против НБ, ИБК и ССЯ-76 приводила к развитию дистрофии выраженной зернистой, а иногда вакуольной дистрофии гепатоцитов, которые регистрировались в разные сроки исследования. Иммуноморфологические реакции у птиц 1 группы характеризовались: появлением больших групп лимфоцитов и макрофагов в области печеночных триад и центральных вен на 3 день; выраженной лимфоидно-макрофагальной пролиферацией стромы и

паренхимы с формированием узелков на 7 и 14 дни после вакцинации (рисунок 2).



Рисунок 2 – Печень птиц 1 группы на 14 день после иммунизации. Обширные лимфоидно-макрофагальные пролифераты и лимфоидные узелки. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

В печени птиц 2 группы на 7 и 14 дни эксперимента выявлялись небольшие скопления лимфоцитов и макрофагов, единичные гранулемы небольших размеров (рисунок 3).

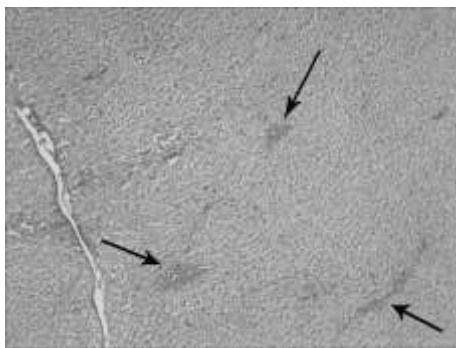


Рисунок 3 – Единичные лимфоидно-макрофагальные гранулемы небольших размеров в печени птиц 2 группы на 14 день после вакцинации. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

В гистологических препаратах почек, отобранных до вакцинации (фон), а также у интактных животных в сроки на 3, 7 и 14 дни после введения вакцин, существенных морфологических изменений не было обнаружено (рисунок 4).

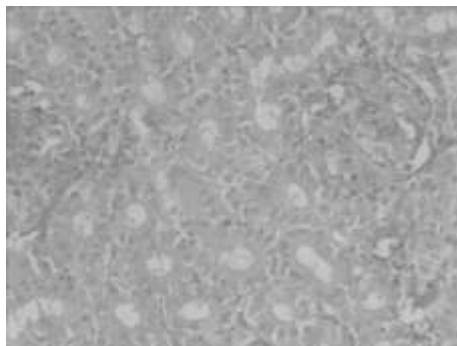


Рисунок 4 – Гистологическая структура почек птиц контрольной группы на 3 день эксперимента. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. х 500

При этом в почках четко просматривались основные структуры паренхимы и стромы органа, достаточно тонкая капсула. В корковых дольках были хорошо видны мальпигиевы тельца с хорошо развитой капиллярной сетью сосудистых клубочков, выраженным просветом и развитой капсулой нефрона, выстланной однослойным плоским эпителием. Значительный объем паренхимы занимали мочеобразующие канальцы, выстланные преимущественно кубическим и высоким кубическим эпителием. Между ними в прослойках соединительной ткани залегали капилляры. У отдельных птиц в разные сроки исследования обнаруживались признаки серозного отека в сосудистых клубочках, зернистой дистрофии в отдельных нефроцитах с появлением в просвете канальцев базофильных и оксифильных белковых цилиндров.

На 3 день после вакцинации у птиц подопытных групп выявлялись сходные изменения. Преобладали явления серозного отека с резким расширением капсулы нефронов и отслоением эпителия канальцев от базальных мембран. В части эпителиоцитов выявлялись признаки зернистой дистрофии, а у отдельных – вакуольной дистрофии. В просвете канальцев обнаруживались как оксифильные, так и базофильные белковые массы. В прослойках межканальцевой соединительной ткани выявлялись небольшие группы лимфоцитов и гистиоцитов, а у отдельных птиц обширные лимфоидно-макрофагальные пролифераты (рисунок 5).

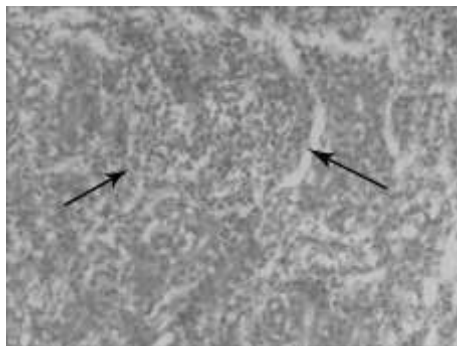


Рисунок 5 – Почки молодняка кур 1 группы на 3 день после иммунизации. Обширные лимфоидно-макрофагальные пролифераты в паренхиме. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 500

На 7 день эксперимента в почках подопытных птиц обеих групп выявлялись сходные иммуноморфологические и патогистологические изменения. Однако лимфоидно-макрофагальная инфильтрация стромы и паренхимы была более выражена по сравнению с предыдущим сроком исследования (рисунок 6).

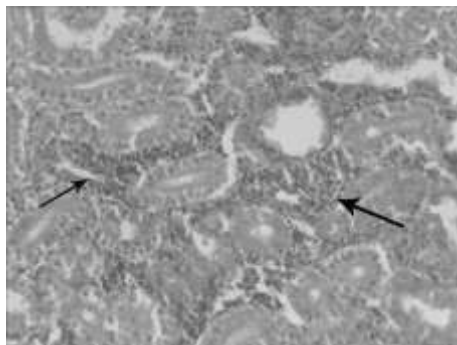


Рисунок 6 – Лимфоидно-макрофагальные инфильтраты в почках птиц 2 группы на 7 день после вакцинации. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 500

На 14 день структура мочеобразующих канальцев постепенно приходила в норму. Лишь у некоторых птиц наблюдались в отдельных канальцах признаки зернистой дистрофии. Иммуноморфологические реакции в этот срок были плохо выражены.

В легких молодняка кур подопытных и контрольной групп в разные сроки исследования выраженных морфологических изменений не

наблюдалось. При гистологическом исследовании четко просматривались основные компоненты органов: капсула и соединительно-тканые прослойки, парабронхи, гемокапилляры (иногда в состоянии гиперемии) и воздухоносные капилляры. В стенке крупных парабронхов присутствовала развитая узелковая лимфоидная ткань. Однако существенной разницы в количестве и размерах узелков между группами нами не выявлено.

При изучении гистопрепаратов сердца молодняка кур 1, 2 и 3 групп основные структуры находились в состоянии нормы. Кардиомиоциты анастомозировали друг с другом формируя сплошные переплетающиеся структуры. Между ними выявлялись нежные прослойки рыхлой соединительной ткани (эндомизий) с капиллярами и единичными лимфоцитами. В кардиомиоцитах, окрашенных гематоксилин-эозином, обнаруживалась поперечная исчерченность.

Заключение. Таким образом, иммунизация птиц против ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита и синдрома снижения яйценоскости инактивированной вакциной, разработанной в ИЭВ им. С.Н. Вышелесского, вызывает развитие в печени птиц более выраженных иммуноморфологических изменений по сравнению с вакциной «СЕВАК» (Венгрия). При этом обе вакцины обладают умеренной остаточной реактогенностью.

В почках вакцинированных цыплят обеих групп выявлялись не продолжительная зернистая и вакуольная дистрофии, что свидетельствует о возможном нарушении обмена веществ и мочевыводящей функции органа под влиянием ксенобиотика. Иммуноморфологические реакции у иммунизированного молодняка кур также не продолжительны. Они характеризуются разной интенсивностью лимфоидно-макрофагальной инфильтрации органов, которая завершается к 7 дню эксперимента.

Применение молодняку кур инактивированных вакцин против НБ, ИБК и ССЯ-76 производства ИЭВ им. С.Н. Вышелесского и фирмы «СЕВАК» не оказывают существенного влияния на морфологию легких и сердца птиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бодрова, Л.Ф. Гистоморфологическая характеристика печени кур при содержании их на низкоэнергетических рационах с разным уровнем обменной энергии / Л.Ф. Бодрова // Ветеринар. практика. - 2006. - № 5. - С. 13-17.
2. Бодрова, Л.Ф. Сравнительная гистоморфологическая характеристика мышечной ткани кур, получавших низкоэнергетические кормосмеси и рационы с разным уровнем обменной энергии / Л.Ф. Бодрова // Аграр. вестн. Урала. - 2008. - № 12. - С. 68-69.
3. Васильева, Ю.Г. Цитология. Гистология. Эмбриология / Ю.Г. Васильева, Е.И. Трошин, В.В. Яглов. – Санкт-Петербург, 2009. – 576 с.

4. Гистологическая характеристика печени курочек породы корниш в постнатальном онтогенезе / Л. Тучемский [и др.] // Птицеводство. - 2011. - № 10. - С. 13-15.
5. Голубев, Д.С. Иммуноморфологические показатели у цыплят при ассоциированной иммунизации против инфекционного бронхита и ньюкаслской болезни совместно с иммуностимулятором калием оротатом // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства : материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и преподавателей сельскохозяйственных учебных заведений и научно-исследовательских учреждений, Витебск, 22-23 мая 2001 г. – Витебск, 2001. - С. 46.
6. Ижбулатова, Д.А. Влияние пробиотиков на морфофункциональное состояние органов цыплят / Д.А. Ижбулатова, А.Г. Деблик, А.Р. Маликова // Ветеринария. – 2008. – №3. – С. 52-54.
7. Лемяк, А.А. Гистологическая характеристика печени цыплят кросса ISA f-15 в постнатальном онтогенезе при применении пробиотиков / А.А. Лемяк, Г.А. Ноздрин, А.И. Лемяк // Достижения науки и техники АПК. – 2012. - №10. – С. 55-57.
8. Морфофункциональные изменения печени курочек породы плимутрок / В. Никитченко [и др.] // Птицеводство. - 2011. - № 11. - С. 27-29.
9. Практикум по анатомии с основами гистологии и эмбриологии сельскохозяйственных животных / В.Ф. Вракин [и др.]. - 2-е изд., перераб. и доп. – Москва, 2003. – 272 с.
10. Улитко, В.Е. Морфобиохимические показатели крови и функциональное состояние печени кур при потреблении липосомальной формы бета-каротина / В.Е. Улитко, О.Е. Ерисанова, Л.Ю. Гуляева // Зоотехния. - 2011. - № 8. - С. 12-14.

УДК 619:615.31:616-056.54:636.4.053

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ L-КАРНИТИНА ПОРОСЯТАМ С ВРОЖДЕННОЙ ГИПОТРОФИЕЙ

А.П. Демидович, Е.П. Домосканова

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

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Установлено, что в условиях промышленного свиноводства врожденная гипотрофия имеет широкое распространение и наблюдается у 34% поросят. Данная патология характеризуется значительным дефицитом массы тела и угнетением различной степени выраженности. В крови у новорожденных поросят-гипотрофиков обнаруживают низкое содержание эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, глюкозы. Большая часть поросят-гипотрофиков выбраковывается сразу же после рождения, а оставленные в живых ввиду отсутствия лечения существенно отстают в росте и развитии.

Поросята-гипотрофики при назначении им с первого дня жизни растворов L-карнитина показывают высокую сохранность и в дальнейшем по продуктивности приближаются к пороссятам, родившимся здоровыми.

Summary. It is established that in the conditions of industrial pig-breeding congenital malnutrition is widespread and occurs in 34% of the piglets. This pathology is characterised by significant body weight deficit and different degree of compression. In the blood of newborn piglets-hypotrophics low quantity of erythrocytes,

leucocytes, hemoglobin and glucose occurs . Most of the piglets hypotrophys shall be rejected immediately after birth and those left to live in the absence of treatment are significantly behind in growth and development.

Pigs-hypotrophys when assigning them on the first day of life solutions of L-carnitine, stay alive in most cases and further show good productivity.

Введение. Проблема врожденной гипотрофии является актуальной для многих свиноводческих хозяйств. Большая часть поросят-гипотрофиков при отсутствии лечения гибнет в течение первой недели жизни, а выжившие заметно отстают в росте и развитии.

В условиях многих крупных свиноводческих комплексов поросята-гипотрофики уничтожаются сразу после рождения. В редких случаях поросят-гипотрофиков оставляют в живых, так как небольшая часть из них может выжить и принести хоть какую-то прибыль, но лечение их в большинстве случаев не проводится. В связи с этим изыскание новых эффективных способов лечения данной патологии является весьма актуальным.

В последние годы существенно вырос научный интерес и к L-карнитину. Во многих экспериментах и на практике было доказано, что добавление L-карнитина в рационы существенно улучшает репродуктивные качества свиней [9]. Свиноматки дают больше молока с более высоким содержанием питательных веществ. Поросята имеют больший вес при рождении и отъеме, низкий уровень падежа при отъеме и в подсосный период, более развитую мускулатуру [4, 10].

L-карнитин образуется в печени и почках из метионина и лизина. Основная его метаболическая функция – это транспорт длинноцепочечных жирных кислот через митохондриальную мембрану. В митохондриях они подвергаются окислению и дальнейшему метаболизму с образованием АТФ. Уровень синтеза АТФ зависит от поступления жирных кислот внутрь митохондрий. Ключевым участником этого процесса является L-карнитин, который выступает в роли челнока, переносящего жирные кислоты через мембраны. От содержания L-карнитина в клетках зависит эффективность энергетического обмена с участием жиров [5].

Энергетическое действие L-карнитина благоприятно сказывается на состоянии печени, в результате чего она усиливает свою дезинтоксикационную и белково-синтетическую функцию, увеличивается содержание в печени гликогена [5].

Положительные свойства L-карнитина делают его одним из потенциальных средств для лечения поросят с врожденной гипотрофией.

Цель работы – изучить распространение и клиническое проявление врожденной гипотрофии у поросят в условиях свиноводческого

комплекса, а также изучить терапевтическую эффективность L-карнитина в отношении данной патологии, его влияние на рост, развитие и сохранность поросят-гипотрофиков.

Материалы и методы исследований. Исследования проведены в 2012-2013 годах в условиях одного из свиноводческих комплексов Брестской области.

Методологию работы составили наблюдения, научно-производственные опыты и статистический анализ. При этом были использованы клинические, инструментальные, гематологические, биохимические и математические методы.

На первом этапе исследований был произведен учет рождаемости поросят от 20 свиноматок белорусской крупной белой породы в возрасте 1-3 лет. Все поросята при рождении были взвешены и подвергнуты клиническому обследованию. Особое внимание было уделено поросьям с признаками врожденной гипотрофии (низкая масса тела (менее 1 кг), низкая упитанность, угнетение различной степени выраженности и т.д.).

Для проведения морфологического и биохимического исследования была взята кровь у поросят-гипотрофиков и у поросят с нормальной массой тела в течение первого дня их жизни. Взятие крови проводили из орбитального венозного синуса. Для стабилизации крови использовали гепарин (в 1 мл – 5000 ЕД).

Плазму получали путём центрифугирования стабилизированной крови. В плазме крови определяли концентрацию общего белка (биуретовый метод), альбумина (реакция с бромкрезоловым зеленым), глюкозы (ферментативно), общего билирубина (по Ендрашику-Клеггорну-Грофу) и триглицеридов (ферментативно). В ходе лабораторных исследований использовались диагностические наборы реактивов, выпускаемые фирмами «Анализ-Плюс» (Республика Беларусь) и «Плива-Лахема» (Чехия).

Подсчет форменных элементов крови (эритроциты, лейкоциты) проводили в счётной камере с сеткой Горяева. Определение концентрации гемоглобина велось унифицированным гемиглобинцианидным методом.

На втором этапе исследований была оценена терапевтическая эффективность L-карнитина при врожденной гипотрофии у поросят.

В качестве препарата для сравнения была выбрана янтарная кислота. Ранее она была испытана на свиньях и зарекомендовала себя в качестве хорошего адаптогена, особенно при назначении поросьям в период отъёмного стресса [1, 3, 7], а также показала высокую терапев-

тическую эффективность в отношении врожденной гипотрофии у поросят [2].

В основе лечебно-профилактических свойств янтарной кислоты лежит модифицирующее влияние на процессы тканевого метаболизма - клеточное дыхание, ионный транспорт, синтез белков [8]. Она не индуцирует ксенобиотических эффектов и даже при относительно больших дозах не приводит к нежелательным результатам [6].

При проведении испытаний были созданы две группы новорожденных поросят-гипотрофиков с массой тела 700-950 граммов. В каждой группе было по 10 животных.

Первая группа в течение 20 дней внутрь получала L-карнитин в дозе 30 мг/кг массы тела в виде 2%-го водного раствора.

Вторая группа в течение 20 дней внутрь получала янтарную кислоту в дозе 30 мг/кг массы тела в виде 2%-го водного раствора.

В течение всего периода дачи препаратов за животными велось тщательное наблюдение. Учитывали изменения в общем состоянии животных, отмечали случаи падежа, заболеваемости. В начале и по окончании дачи препаратов животные были взвешены. По окончании дачи препаратов у поросят каждой из групп для морфологического и биохимического исследования была взята кровь.

Весь цифровой материал подвергался статистической обработке.

Результаты исследований и их обсуждение. При проведении учета, взвешивания и клинического обследования 191 новорожденного поросёнка признаки врожденной гипотрофии были обнаружены у 65 животных.

Основным критерием, по которому поросят относили к числу гипотрофиков, являлась низкая масса тела. При этом минимально зарегистрированный вес составил 0,5 кг, он был отмечен у одного поросёнка (1,5% от общего числа гипотрофиков), 0,6-07 кг – у 4 поросят (6,2%), 0,7-08 кг – 15 (23%), 0,8-09 кг – 24 (37%), 0,9-1,0 кг – 21 (32,3%).

Помимо низкой массы и размеров тела диагностическую значимость имели такие клинические признаки, как снижения двигательной активности, угнетение различной степени выраженности, ослабление сосательного рефлекса.

С учетом интенсивности проявления указанных признаков у больных поросят различали гипотрофию слабой, средней и сильной степени выраженности.

Поросята с гипотрофией слабой степени отличались от поросят-нормотрофиков только массой тела и размерами. Масса тела таких поросят находилась в пределах 900-1000 граммов.

У поросят с гипотрофией средней степени выраженности вес при рождении составлял 800-900 граммов. Такие поросята часто стоят с опущенной головой или лежат. Подкожный жировой слой развит слабо, заметны очертания ребер. На спине через кожу хорошо просматривается позвоночник. При кормлении гипотрофики занимают последние соски вымени. Движения головы при массаже вымени и сосательные движения слабые, неэнергичные.

Вес поросят с сильной степенью выраженности гипотрофии составлял от 500 до 700 граммов. Такие поросята больше лежат, передвигаются с трудом. Движения вялые. При стоянии им трудно удерживать равновесие и они опираются о стены или упираются пяточком в пол. Сосательный рефлекс слабо выражен. Писк негромкий и хриплый. У некоторых поросят не хватает сил даже передвигаться. Они совершают плавательные движения конечностями, глаза закрыты. Такие поросята погибают в течение нескольких часов после рождения.

Ввиду отсутствия лечения и неспособности потреблять или усваивать питание у гипотрофиков быстро развиваются признаки нарастающего угнетения и обезвоживания, что приводит к гибели. В связи с этим в условиях данного хозяйства поросят с сильной и средней степенью гипотрофии отбраковывают сразу после рождения. Часть поросят со слабой степенью патологии иногда оставляют в живых (при малом общем количестве поросят в секторе). Однако они, как правило, выживают лишь в 20-30% случаев, растут медленно и после окончания подсосного периода отправляются в пигбалий, имея к этому времени массу тела около 4 кг.

При исследовании крови также были выявлены существенные отклонения у больных поросят. У поросят-гипотрофиков в крови отмечался более низкий, чем у нормотрофиков, уровень лейкоцитов (на 21%), эритроцитов (на 19%), гемоглобина (на 17%), что свидетельствует о недостаточно интенсивном гемопоэзе.

Концентрация глюкозы у поросят-гипотрофиков была существенно ниже, что свидетельствовало об энергетическом голодании. Также у гипотрофиков в крови содержалось меньшее количество триглицеридов.

Концентрация общего билирубина у гипотрофиков была на 20% выше, чем у нормотрофиков, а концентрация альбумина оказалась ниже на 12%, что свидетельствовало о недостаточном функционировании печени.

На втором этапе исследований была оценена терапевтическая эффективность L-карнитина при врожденной гипотрофии у поросят.

Результаты исследований показали, что L-карнитин обладает выраженным терапевтическим эффектом. Уже на второй день дачи препаратов у поросят отмечали улучшение их общего состояния, повышение двигательной активности, аппетита.

В первой опытной группе (получали L-карнитин) за весь период наблюдений из 10 поросят не пал ни один поросенок, а во второй, где получали янтарную кислоту, пали трое поросят.

В течение первой недели жизни у всех гипотрофиков второй группы, а также у большинства нормотрофиков наблюдалась диспепсия. У животных отмечали выделение большого количества жидких желтых каловых масс, нарастающее угнетение. У поросят первой опытной группы диарея не наблюдалась.

Средняя масса тела у поросят первой опытной группы при рождении составлял 0,83 кг, у поросят второй опытной группы – 0,81 кг. В возрасте 21 дня поросята в первой группе имели вес в среднем 5,98 кг (интенсивность прироста 712%), поросята второй группы – 5,27 кг (интенсивность прироста 650%). Поросята, родившиеся здоровыми, имели при рождении массу тела 1,33 кг, а в возрасте 21 дня – 6,50 кг (интенсивность прироста 490%).

В абсолютных единицах массы поросята опытных групп несколько уступали поросятам, имевшим при рождении нормальный вес, однако существенно превосходили их по интенсивности прироста.

В это же время было проведено сравнение биохимических и морфологических показателей крови у поросят первой и второй опытных групп с поросятами, имевших при рождении нормальную массу тела. При этом каких-либо существенных и статистически значимых различий как в биохимических, так и в морфологических показателях крови у поросят различных групп отмечено не было.

Отъем поросят от свиноматок был проведен в возрасте 29 дней. К этому моменту все поросята опытных групп имели достаточный технологический вес для перевода в сектор дорастивания.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что L-карнитин обладает выраженным терапевтическим эффектом при врожденной гипотрофии у поросят, способствуя их сохранности и повышению интенсивности роста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Готовский, Д.Г. Яблочная кислота как средство профилактики стрессов у кур и свиней /Д.Г. Готовский, А.П. Демидович // Учёные записки УО ВГАВМ. – 2011. – Т.47. Вып. 2. Ч.1. – С. 152-156.
2. Демидович, А.П. К вопросу о целесообразности лечения поросят с врожденной гипотрофией /А.П. Демидович // Учёные записки УО ВГАВМ. – 2012. – С. 46-48.

3. Демидович, А.П. Янтарная кислота и глицин в профилактике отъёмного стресса у поросят / А.П. Демидович, Д.Г. Готовский // Современные проблемы интенсификации производства свинины в странах СНГ: Материалы XVII Международной научно-практической конференции по свиноводству, Ульяновск, 9 июля 2010 г. – Т. 3-4. – С. 243-247.
4. Клюге, Х. Полноценная добавка в кормление свиней. Влияние потребления L-карнитина на молочность свиноматок. / Х. Клюге, С.В. Абраскова // Белорусское сельское хозяйство №9. - 2005. - С. 26-28.
5. Копелевич, В.М. Чудо Карнитина /В.М. Копелевич. – Москва.: Генезис, -2003. – 80 с.
6. Лебедев, А.Ф. Разработка и применение препаратов на основе янтарной кислоты / А.Ф. Лебедев [и др]. // Ветеринария. – 2009. №3. с. 48-50.
7. Макаренко, П.С. К вопросу о профилактике отъёмного стресса у поросят в условиях промышленной технологии / П.С. Макаренко, А.П. Демидович, Д.Г. Готовский // Современные тенденции и перспективы развития животноводства: Материалы XI Международной научной конференции студентов и магистрантов «Научный поиск молодежи XXI века», Горки, 2-4 дек. 2009 г. / БГСХА – Горки, 2010. – С. 90-92.
8. Невструев, Н.А. Аминопептид-2С и янтарная кислота - эффективная подкормка для поросят / Н.А. Невструев, А.А. Лимаренко // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2007. - №10. - С. 59-61.
9. Романов, О.В. Улучшение репродуктивных качеств свиноматок. Кормовая добавка L-карнитин. / О.В. Романов, М.И. Смаглюк // Белорусское сельское хозяйство №5. - 2007. - С. 64-66.
10. Сидоренко, Р.П. Интенсивность роста и биохимические показатели крови поросят-сосунков при введении в рацион супоросных и подсосных свиноматок L-карнитина. / Р.П. Сидоренко, А.В. Корнеев // Свиноводство №3. - 2010. - С. 32-35.

УДК 619:578.833:636.4

РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ РЕПРОДУКТИВНО-РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ

**А.А. Згировская, Ю.Н. Минчук, А.А. Гусев, Ю.В. Ломако,
В.А. Бабак, И.А. Пунтус**

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

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

***Аннотация.** В статье представлены результаты разработки вакцины живой лиофилизированной для профилактики репродуктивно-респираторного синдрома свиней. Отработаны параметры накопления вирусной биомассы в культуре клеток Магс-145, режим высушивания. Разработаны параметры контроля препарата.*

***Summary.** In the article the results of research development of the live lyophilized vaccine for specific preventive maintenance of porcine reproductive and respiratory syndrome of pigs are presented. The parameters of accumulation of a*

virus biomass in culture of cells Marc-145, a mode of drying are fulfilled. Parameters of the control of the preparation are developed.

Введение. Репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС) – высококонтагиозное инфекционное заболевание свиней, проявляющееся поражением органов репродуктивной системы у свиноматок и органов респираторной системы у поросят.

Официальное название – репродуктивно-респираторный синдром свиней (Porcine reproductive and respiratory syndrome – PRRS) – принято в 1992 году на 1-м Международном симпозиуме по РРСС в США. Инфекция контролируется Международным эпизоотическим бюро (МЭБ) и включена в список группы Б. Быстрому распространению вируса способствуют его длительная персистенция в зараженных животных, присутствие в сперме, высокая контагиозность [1, 2].

РРСС впервые зарегистрировали в свиноводческих хозяйствах США и Канады в 1986-1987 гг. В последующие годы заболевание распространилось по всему миру, и к середине 90-х годов РРСС охватил почти всю Европу. По официальным данным Международного эпизоотического бюро (МЭБ), неблагополучными в отношении РРСС являются 56 стран мира.

В 1997-2002 гг. в 47 субъектах Российской Федерации был проведен эпизоотологический и серологический мониторинг, результаты которого подтвердили широкое распространение вируса РРСС на территории России.

В Республике Беларусь впервые диагноз РРСС был поставлен учеными ВНИИЗЖ (г. Владимир, РФ) в 1995-1997 гг. в некоторых свиноводческих комплексах при исследовании органов абортированных плодов и сывороток крови свиноматок. Впоследствии диагноз был подтвержден учеными РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» [3].

В результате возникновения и развития РРСС хозяйства и предприятия терпят значительные экономические убытки, которые складываются из потерь, вызванных нарушением воспроизводительной функции у свиноматок и хряков, гибелью новорожденных и послеотъемных поросят, обострением вторичных инфекций, а также от вынужденного убоя товарных животных.

Установлено, что в течение первого месяца после начала заболевания потери среди животных на откорме и отъемышей вырастают в четыре раза, среднее число поросят на свиноматку снижается с 21,1 до 18,1. При этом стоимость мероприятий, связанных с профилактикой и лечением вторичных инфекций, на протяжении 12 месяцев после

вспышки РРСС в среднем на 60% выше, чем в период до возникновения инфекции.

В свиноводческих хозяйствах Беларуси у поросят в группах дорашивания регистрируются заболевания органов дыхания, характеризующиеся угнетением, отказом от корма, посинением кожи ушей, учащенным дыханием, кашлем и диареей у части больных животных. Выбывание (падеж и вынужденный убой) поросят в этих группах достигает 20-30%. Основной причиной инфекционной патологии органов дыхания у поросят в группах дорашивания является вирус репродуктивно-респираторного синдрома. По результатам лабораторных исследований в 2007 году при исследовании 7418 проб сывороток крови свиней антитела к вирусу РРСС установлены в 52% случаев, что указывает на широкую циркуляцию вируса в свиноводческих стадах [4, 5].

В этой связи возникает необходимость в проведении иммунизации поросят в первую очередь против РРСС, а затем – и против вторичных инфекций. Продолжительность пассивного колострального иммунитета у поросят к вирусу РРСС и возбудителям бактериальных инфекций составляет около 30-50 дней. После отъема от матерей поросята лишаются колострального иммунитета и становятся восприимчивыми к РРСС. Возникает потенциальная угроза появления вторичных инфекций.

В литературе имеется ряд сообщений о том, что проведение вакцинации поросят против РРСС в послеотъемный период позволяет снизить их заболеваемость пневмониями, повысить среднесуточные привесы и сохранность животных.

В Республике Беларусь вакцины против репродуктивно-респираторного синдрома свиней не производятся, в связи с чем разработка и изготовление таких вакцин в настоящий момент актуально.

Цель работы – разработать технологию изготовления вакцины живой против репродуктивно-респираторного синдрома свиней.

Материал и методика исследований. Культивирование вируса РРСС штамма «КМИЭВ-V112» осуществляли на перевиваемой культуре клеток Магс-145. Для культивирования вируса использовали 48-часовой монослой культуры, выращенный в клинских матрасах в стационарных условиях. Перед заражением культуры клеток из флаконов удаляли ростовую среду, монослой отмывали фосфатно-солевым буфером от продуктов жизнедеятельности клеток. Затем культуру клеток заражали вирусом РРСС и помещали на контакт в термостат при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ на 1 час. После контакта матрасы заливали поддерживающей питательной средой Игла МЕМ с глутамином, обогащенной 2% фетальной сыворотки. Ежедневно за матрасами в течение

3-7 суток велось наблюдение (световая микроскопия). Матрасы с ярко выраженными цитопатическими изменениями замораживали при температуре минус 80°C для хранения и дальнейшего использования. Цитопатическое действие (ЦПД) вируса РРСС на культуру клеток Магс-145 проявлялось в округлении клеток, то есть клетки теряли поверхностные выступы (филлоподии ТГ псевдоподии) и в конечной стадии наблюдался ее коллапс.

Определение титра инфекционности вируса РРСС производили путем титрования на перевиваемой культуре клеток Магс-145. Сущность титрования основана на цитопатическом действии вируса, то есть способности вируса вызывать деструкцию клеток монослоя.

Для титрования вируса РРСС использовали 2-3-суточный монослой культуры клеток Магс-145, выращенный в пробирках или пенициллиновых флаконах. Вначале готовили 10-кратные разведения (от 10^{-1} до 10^{-7}) вирусосодержащего материала на среде Игла без сыворотки (pH 7,0-7,4). Каждое разведение вируса готовили отдельной стерильной пипеткой. Предварительно из пробирок сливали ростовую среду, вносили по $0,1 \text{ см}^3$ разведенного вируса. Каждое разведение вируса вносили в 4 пробирки с культурой клеток. После 1 часа контакта добавляли $0,9 \text{ см}^3$ питательной среды и инкубировали при температуре 37 °C. Одновременно ставили контроль с незараженной культурой клеток. На вторые сутки проводили первый учет результатов титрования вируса. Каждую пробирку просматривали под малым увеличением микроскопа и отмечали ЦПД вируса (условно в крестах). Окончательный учет результатов проводили через 144 часа после заражения культуры клеток. Результаты титрования считали достоверными при сохранении монослоя в контроле. Титр вируса вычисляли по методу Рида и Менча и выражали в $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

После накопления достаточного количества вирусосодержащего материала и проверки его титра проводили подбор стабилизирующей среды: одна среда состояла из сахарозы, пептона и желатозы, вторая из гидролизата лактальбумина, сахарозы и желатозы. Качество защитной среды определяли по сохранению инфекционной активности вируса до лиофилизации и после. Инфекционную активность вируса определяли титрованием на культуре клеток Магс-145.

Лиофилизацию вирусной суспензии проводили на установке для лиофильного высушивания с программным обеспечением фирмы "Krist" (Германия) в течение 48 часов.

После окончания сушки флаконы под вакуумом плотно укупоривали пробками и обкатывали алюминиевыми колпачками.

Изготовленную вакцину против РРСС контролировали на основании требований, предъявляемых к ветеринарным препаратам, которые изложены в инструкции о порядке регистрации ветеринарных препаратов в Республике Беларусь, ГОСТ 23050-78, по внешнему виду, остаточной влажности, растворимости, наличию вакуума, контаминации бактериальной и грибковой микрофлорой, микоплазмами, безвредности, биологической и иммуногенной активности.

Контроль внешнего вида вакцины, наличие посторонних примесей, дефектов флаконов определяли визуально.

По внешнему виду вакцина должна представлять собой однородную сухую пористую массу в виде таблетки от светло-желтого до светло-коричневого цвета. Допускается слегка розоватый оттенок.

Определение массовой доли влаги проводили в соответствии с ГОСТ 24061-89.

Массовая доля влаги в препарате не должна превышать 3,0%.

Для определения растворимости в два флакона вносили водный раствор натрия хлорида с массовой долей 0,9% (рН 7,2) в количестве, соответствующий объему вакцины до высушивания. После этого флаконы встряхивали и наблюдали за растворением сухой массы. При легком встряхивании вакцина должна растворяться без остатка за 2-3 минуты и представлять собой гомогенную взвесь.

Наличие вакуума во флаконах с вакциной определяли аппаратом типа Д'Арсонваль согласно ГОСТ 28083.

Фиолетово-синее свечение внутри флаконов и характерное потрескивание указывает на наличие вакуума. Препараты во флаконах, не давших свечения или с фиолетово-красным свечением, не пригодны для применения.

Проверку изготовленного экспериментального образца вакцины на контаминацию бактериальной и грибковой микрофлорой проводили путем посева на специальные питательные среды, используемые для культивирования того или иного вида микроорганизмов. Брили 3 флакона вакцины и содержимое каждого флакона растворяли водным раствором натрия хлорида с массовой долей 0,9% (рН 7,2) в объеме, равном объему вакцины до высушивания, соблюдая стерильность, и объединяли в общую пробу. Затем делали высевы по 0,3 см³ в пробирки с мясо-пептонным агаром (МПА) и со средой Сабура и по 0,5-1,0 см³ в пробирки с мясо-пептонным печеночным бульоном (МППБ) под вазелиновым маслом, используя по 2 пробирки каждой из указанных питательных сред. Питательные среды с посевами выдерживали в термостате в течение 10 дней при (37±0,5) °С, а среду Сабура – от плюс 20 до плюс 24 °С. Через 10 дней пробирки с посевами проверяли визуаль-

но на наличие роста микроорганизмов. Вакцину считали стерильной, если ни в одной из засеянных пробирок не наблюдался рост.

Полученный образец проверяли на контаминацию микоплазмами путем посева его на полужидкий агар. Высевы инкубировали в термостате при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ – 7-8 суток, после чего проводили 3 последовательных пересева с интервалом 7 суток. Роста микоплазм не допускается.

Безвредность вакцины против РРСС проверяли на мышах массой 20-25 г и поросятах 21-28-суточного возраста. По принципу аналогов были сформированы по 2 группы животных (мышей и поросят) – опытная и контрольная. Мышам и пороссятам опытной группы вводили внутримышечно 10-кратную иммунизирующую дозу вакцины. Контрольным животным вводили физиологический раствор (плацебо) в том же объеме, что и опытным. За животными наблюдали в течение 14 суток.

Вакцина не должна вызывать у вакцинированных мышей и поросят в течение 14 суток клинических признаков заболевания и видимых изменений тканей в месте введения вакцины. Допускается повышение температуры тела животного на $1,5^\circ\text{C}$ в течение 3-5 дней после введения вакцины.

Биологическую активность вакцины определяли титрованием на перевиваемой линии культуры клеток Магс-145. Для этого содержимое трех флаконов вакцины растворяли стерильным водным раствором натрия хлорида с массовой долей 0,9% (рН 7,2) до объемов, равных объему вакцины до сушки, затем объединяли и из объединенной пробы вакцины отбирали 1 см³. Из отобранной пробы вакцины в пробирках готовили разведения от 10^{-1} до 10^{-7} на стерильном водном растворе натрия хлорида с массовой долей 0,9% (рН 7,2). Каждым разведением вакцины заражали по четыре пробирочные культуры клеток Магс-145. Учет результатов проводили по цитопатическому действию вируса на ткань, которое выражалось небольшими шарообразными скоплениями клеток, выступающими над монослоем. Клетки округлялись, т.е. теряли поверхностные выступы (филлоподии и псевдоподии) и в конечной стадии разрушались. Окончательный учет результатов проводили через 96-120 часов после заражения. Титр вируса рассчитывали по методу Кербера в модификации Ашмарина.

Биологическая активность должна быть не ниже $5,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Иммуногенную активность вакцины проверяли на 6 поросятах 21-28-дневного возраста, не имеющих в сыворотке крови антител к вирусу репродуктивно-респираторного синдрома свиней. Содержимое 3-х флаконов растворяли стерильным 0,9% раствором натрия хлорида в объеме, указанном на этикетке. Затем содержимое флаконов объединя-

ли. Четырем пороссятам вводили внутримышечно вакцину в объеме 2 см^3 , два поросенка служили контролем, им вводили внутримышечно физиологический раствор. Через 10 суток поросят опытной группы ревакцинировали в том же объеме. Через 21 сутки после последней вакцинации у всех животных отбирали кровь с целью получения сыворотки для определения наличия антител к вирусу РРСС методом твердофазного иммуносорбентного ферментного анализа. Для определения наличия в сыворотках антител к вирусу РРСС использовали набор ANIGEN PRRSV AB ELISA 2.0 производства Animal Genetics (Корея). Во всех исследованных пробах сывороток крови животных контрольной группы не должно выявляться антител к вирусу РРСС.

Вакцина должна вызывать у вакцинированных животных образование антител через 21 день после вакцинации. Проба сыворотки крови оценивается как положительная, если соотношение S/P (отношение проба:положительный контроль) больше или равно 0,4. Проба сыворотки оценивается как отрицательная, если соотношение S/P меньше 0,4.

Результаты исследований и их обсуждение. Первый этап работы заключался в оптимизации параметров культивирования вируса РРСС штамма «КМИЭВ-V112» в культуре клеток Магс-145: определение заражающей дозы вируса, времени инкубации инфицированной культуры клеток и инфекционной активности вирусосодержащего материала (титр). В таблице 1 представлены результаты определения зависимости титра вируса от времени инкубации культуры клеток и заражающей дозы вируса.

Таблица 1 – Влияние заражающей дозы вируса РРСС на титр и время инкубации культуры клеток Магс-145

Заражающая доза, ТЦД ₅₀	Титр, lg ТЦД ₅₀ /см ³			
	24 часа	48 часов	72 часа	96 часов
1000	2,9	3,1	4,6	4,2
100	2,5	4,0	5,6	5,4
10	2,5	2,7	5,5	5,5
1	1,5	1,7	2,1	2,9

Как видно из таблицы, вирусосодержащую культуральную жидкость с максимальным инфекционным титром ($5,4\text{--}5,6 \text{ lg ТЦД}_{50}/\text{см}^3$) получали при заражении культуры клеток в дозах 10 и 100 ТЦД₅₀. При этом время инкубации составляло 72–96 часов. Заражение более высокой дозой (1000 ТЦД₅₀) не вело к увеличению инфекционной активности полученного вирусосодержащего материала.

Таким образом, было определено, что заражающая доза вируса РРСС штамма «КМИЭВ-V1 12» не должна превышать 100 ТЦД₅₀/см³, так как ее увеличение не способствует накоплению вируса в культуральной жидкости.

Следующий этап нашей работы заключался в получении вируса РРСС в достаточных объемах для создания опытной партии вакцины.

Накопление вирусосодержащего материала проводили путем заражения 2-3-суточной культуры клеток Магс-145 вирусом РРСС в дозе 10-100 ТЦД₅₀/см³ стационарно в 1,5-литровых матрасах. Культивирование вируса проводили в течение 72-96 часов. По истечении указанного времени содержимое флаконов с выраженным ЦПД вируса на монослой клеток объединяли, определяли титр вируса в культуральной жидкости и хранили при минус 80°С.

Для создания партии вакцины против РРСС использовали вирусосодержащую жидкость с титром не ниже 5,5 lg ТЦД₅₀/см³. Вирусосодержащую культуральную жидкость размораживали, соединяли с защитной средой в процентном соотношении 60:40 и подвергали лиофилизации в течение 48 часов. Результаты влияния защитной среды на сохранение вируса при лиофилизации представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние защитной среды на сохранение инфекционной активности вируса РРСС при лиофилизации

Защитная среда	Титр вируса, lg ТЦД ₅₀ /см ³	
	до лиофилизации	после лиофилизации
Сахароза Пептон Желатоза	5,6±0,21	5,2±0,34
Гидролизат лактальбумина Сахароза Желатоза	5,6±0,28	5,5±0,12

Как видно из таблицы 2, наиболее оптимальной стабилизирующей средой при лиофилизации вируса РРСС являлась среда, состоящая из гидролизата лактальбумина, сахарозы и желатозы.

Изготовленную живую сухую вакцину против РРСС контролировали по внешнему виду, остаточной влажности, растворимости, наличию вакуума, контаминации бактериальной и грибковой микрофлорой, микоплазмами, безвредности, биологической и иммуногенной активности.

По внешнему виду вакцина представляет собой однородную сухую пористую массу в виде таблетки светло-желтого цвета.

Массовая доля влаги в препарате составила 2,9%.

Вакцина растворилась без остатка в течение 2-3 минут при легком встряхивании и представляла собой гомогенную взвесь.

При определении наличия вакуума во флаконах с вакциной аппаратом типа Д'Арсонваль установлено фиолетово-синее свечение внутри флаконов и характерное потрескивание, что указывает на наличие вакуума.

При проверке вакцины на контаминацию бактериальной и грибковой микрофлорой установлено, что в посевах вакцины на специаль-

ные бактериологические среды рост бактериальной и грибковой микрофлоры отсутствовал, следовательно, вакцина живая, сухая, против РПСС стерильна.

Полученный образец проверяли на контаминацию микоплазмами путем высева его на полужидкий агар.

Установлено отсутствие роста микоплазм на агаре, что свидетельствует о том, что образец не контаминирован ими.

Безвредность вакцины против РПСС проверяли на белых мышах массой 20-25 г и поросятах 21-28-суточного возраста. За животными наблюдали в течение 14 суток.

Установлено, что вакцина не вызывала у вакцинированных мышей и поросят в течение 14 суток клинических признаков заболевания и видимых изменений тканей в месте введения препарата, следовательно, проверяемая вакцина является безвредной и нереагеногенной.

Биологическую активность вакцины определяли титрованием на перевиваемой линии культуры клеток Магс-145.

Установлено, что титр вируса в полученной партии вакцины против РПСС составлял $5,6 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Иммуногенную активность вакцины проверяли на 6 поросятах 21-28-дневного возраста, не имеющих в сыворотке крови антител к вирусу репродуктивно-респираторного синдрома свиней. Иммунизирующая доза вакцины составляла $4,0 \lg \text{ТЦД}_{50}$, вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней.

Через 21 сутки после вакцинации у всех животных отбирали кровь с целью выявления в сыворотках антител к вирусу РПСС.

Результаты изучения влияния иммунизации поросят вакциной живой сухой против РПСС на образование антител представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты выявления наличия антител в сыворотках крови поросят к вирусу РПСС методом ИФА после их вакцинации

Количество поросят	Выявление антител к вирусу РПСС (соотношение S/P)	
	до вакцинации	после вакцинации
1	0,36	0,63
2	0,28	0,77
3	0,18	0,51
4	0,21	0,68
5	0,24	0,21
(контроль)	0,27	0,11
6		
(контроль)		

Примечание: * - проба считается положительной, если соотношение S/P больше или равно 0,4; при соотношении S/P меньше 0,4 сыворотка считается серонегативной.

Таким образом, установлено, что проверяемая вакцина вызывает образование антител к вирусу РРСС, так как соотношение S/P в сыворотках крови подопытных поросят составляло 0,51-0,77 оптических единиц.

Закключение. Таким образом, разработана система культивирования вируса РРСС из штамма «КМИЭВ-VI 12» на перевиваемой культуре клеток Магс-145, изготовлена живая сухая вакцина против репродуктивно-респираторного синдрома свиней и проведена проверка вакцины против репродуктивно-респираторного синдрома свиней на соответствие параметрам контроля, разработанным согласно инструкции о порядке регистрации ветеринарных препаратов в Республике Беларусь, ГОСТ 23050-78.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байбиков, Т.З. Репродуктивно-респираторный синдром свиней / Т.З. Байбиков// Вет. врач.-2000.-№2.-С.20-24.
2. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко. Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. - М.:ВНИТИБП,1998.-С.552-558.
3. Выделение вируса РРСС и его адаптация к перевиваемой линии клеток MARC-145 / Н.С. Дудникова, . и др. // Ветеринария.-2002.-№6.-С.23-25.
4. Голубев, Д.Б. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии / Д.Б. Голубев, А.А. Соминина, М.Н. Медведева.-Л.:Медицина, 1976.-С.59-61.
5. Мищенко, В.А. Состояние и перспективы исследований по репродуктивно-респираторному синдрому свиней / В.А. Мищенко // Актуал. вопр. вет. вирусол.: матер. науч.-практ. конф. ВНИИВВиМ «Классическая чума свиней – неотложные проблемы науки и практики». – Покров. 1995.-С. 148-151.

УДК 619:616.84:619:615.3

ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЛАКТО-, БИФИДОБАКТЕРИЙ И БАЦИЛЛ

**М.А. Каврус¹, И.М. Лойко¹, А.Г. Щепеткова¹, Л.В. Романова²,
О.Н. Кузьмина², Ю.В. Гайдукевич²**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – Институт микробиологии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 26.06.2013 г.)

Аннотация. Проведены исследования по изучению лечебно-профилактической эффективности комплексного применения пробиотических препара-

ратов на основе спорообразующих, бифидо- и молочнокислых бактерий в условиях модельных опытов и производственных. Определены оптимальные профилактические и лечебные дозы комплекса пробиотиков и кратность их применения.

Показано, что совместное использование пробиотических препаратов – ДКМ, Бацинил-К, Билавет оказывает выраженный лечебный эффект при колибактериозе у лабораторных животных, обеспечивает их 100% сохранность и на 50% сокращает период болезни. В производственных условиях выпаивание указанных препаратов телятам с первых часов жизни способствовало формированию нормального баланса микрофлоры кишечника, восстановлению его колонизационной резистентности, а следовательно и иммунного статуса всего организма у телят раннего постнатального периода.

Summary. Studies on the effectiveness of treatment and prevention of complex application of probiotics on the basis of sporeforming, bifidobacteria and lactic acid bacteria in model experiments and production have been conducted. The optimal preventive and therapeutic doses of probiotics and complex multiplicity of their application were identified.

It is shown that the combined use of probiotics – DCM, Batsinil-K, Bilavet has a pronounced therapeutic effect in kolibakterioze on laboratory animals, provide them with 100% recovery and 50% shortens the period of illness. In a production environment desoldering these drugs in the first hours of calves' life contributed to the formation of the normal balance of microflora of the colon, restoring its colonization resistance, and hence, the immune status of the organism in the warmth of the early postnatal period.

Введение. Современная интенсивная индустрия животноводства, птицеводства и рыбоводства основывается на использовании в качестве обязательных компонентов комбикормов различных биологически активных стимуляторов обмена веществ, пищеварения, иммунитета животных. Для повышения перевариваемости и усвояемости кормов, стимуляции роста и развития животных, повышения неспецифического иммунитета применяются ферментные, пробиотические, пребиотические и комбинированные ферментно-пробиотические препараты, а также комплексные пробиотические препараты [1, 2]. Пробиотики положительно влияют на организм хозяина, способствуют восстановлению пищеварения, биологического статуса, иммунного ответа, повышают эффективность вакцинаций. Их применение существенно уменьшает расходы на лечение заболеваний у животных, повышает продуктивность последних и улучшает качество продукции [3, 5, 6].

Позитивные эффекты пробиотических микроорганизмов, прежде всего молочнокислых бактерий и бифидобактерий, связаны с их способностью поддерживать и восстанавливать нормальный баланс кишечной микрофлоры с их стимулирующим действием на иммунную систему и способностью синтезировать витамины, ферменты и др. ре-

гуляторные факторы. Благоприятный эффект пробиотиков проявляется также в повышении устойчивости организма к воздействию потенциально вредных микроорганизмов и токсичных соединений [4, 5, 6].

Цель работы – оценить лечебно-профилактическую эффективность комплекса пробиотических препаратов на основе спорообразующих, бифидо- и молочнокислых бактерий у лабораторных животных и в производственных условиях.

Материал и методы исследования. Модельный опыт был проведен на 36 беспородных белых крысах массой 120-130 г в возрасте 1,5 месяцев, которые были разделены на 5 групп – контрольную и четыре опытные. Животных всех групп содержали на виварном рационе (рацион включал комбикорм, овощи, белый хлеб, творог). Для изучения лечебно-профилактической эффективности пробиотических препаратов на основе лакто-, бифидобактерий и бацилл лабораторных животных всех групп орально заражали выделенными из кишечника телят, больных колибактериозом, энтеропатогенными штаммами *E. coli*. На основе данной культуры готовили суспензию для выпойки животным с титром бактерий $\sim 1,5 \times 10^{10}$ КОЕ/мл. Заражение продолжали до появления клинических признаков колибактериоза: угнетение, вялость, отсутствие аппетита, взъерошенность шерсти, диарея и т.д. После появления клинических симптомов колибактериоза животным опытных групп выпаивали комплекс пробиотических препаратов – ДКМ, Бацинил-К, Билавет в соотношении 2:1:1 соответственно, второй опытной группе – 1:2:1, третьей – 1:1:2 и четвертой 1:1:1 орально кратностью введения один раз в сутки, дополнительно лабораторным животным опытных групп применяли пробиотический препарат «Энатин» аэрозольно 1 раз в сутки до исчезновения клинических признаков болезни. Животные контрольной группы получали изотонический раствор натрия хлорида (также в свободном доступе через поилки). Опыт продолжался в течение 14 дней.

Результатом эффективности применяемых пробиотических препаратов служили следующие показатели: поведение, состояние шерстного покрова, потребление корма, длительность течения заболевания, количество выздоровевших животных, лечебная эффективность.

Исследования лечебно-профилактической эффективности комплекса пробиотиков в производственных условиях проводили в ООО «Черлена» Мостовского района Гродненской области на телятах черно-пестрой породы в возрасте до 30 дней. В хозяйстве было отобрано 20 животных и сформировано по принципу пар-аналогов 2 группы по 10 голов в каждой. Одна группа была контрольной, вторая – опытной. Животные контрольной группы содержались в условиях технологии,

принятой в хозяйстве, телятам же опытной группы дополнительно давали пробиотические препараты - ДКМ, Бацинил-К, Биалавет в соотношении 1:2:1 соответственно. Комплексный препарат телята получали перорально, в дозе 3 мл на голову в сутки, ежедневно, с молозивом или молоком с 1-2-суточного возраста по 30-й день после рождения.

Для определения влияния комплекса пробиотических препаратов на количественный и качественный состав микрофлоры кишечника телят проводили отбор фекалий до начала опытов и через 30 дней. Пробы фекалий отбирали непосредственно из прямой кишки во время дефекации. Для забора материала использовали стерильную, предварительно взвешенную емкость. Пробы исследовались в течение 2-х часов с момента забора. После взвешивания пробу разводили в 10 раз. Из основного разведения делали ряд последующих.

Посев производили на соответствующие агаризованные питательные среды в чашках Петри в объеме 0,1 мл суспензии фекалий различных разведений, в зависимости от предполагаемого количества тех или иных микроорганизмов. При выделении бифидобактерий использовали бифидобактериум агар, лактобактерий – лактобакагар, стафилококков – солевой МПА. Для выделения грамотрицательных неспорообразующих факультативно-анаэробных бактерий использовали среду Эндо. С целью выделения микроскопических грибов использовали среду Сабуро. Учет результатов посева осуществлялся через 24, 48 часов. Рост на бифидосреде и на среде Сабуро наблюдали через 2-4 суток. Инкубацию анаэробной микрофлоры проводили в микроанаэро-стате при +37⁰С в течение 48 часов. Инкубация посевов микромицет проводилась в течение 72 и более часов при +27⁰С.

Оценку результатов высева проб на плотные питательные среды проводили после появления учитываемых колониеобразующих единиц (КОЕ) по всей площади поверхности чашки Петри. Подсчет КОЕ и их дифференциацию проводили с учетом особенностей культуральных свойств микроорганизмов (форма, цвет колонии и т.п.).

Количество бактерий в 1 г фекалий определяли по числу колоний, выросших на соответствующей питательной среде с пересчетом на количество посеянного материала и степень его разведения.

Ориентировочную идентификацию бифидо- и лактобактерий проводили микроскопическим методом (окраска мазка по Граму), который позволяет оценить морфологию клеток. В мазках бифидобактерии имели вид прямых или разветвленных грамположительных палочек X, Y и V-образной формы с булавовидными утолщениями на концах. Молочнокислые бактерии представляли собой прямые грамположительные палочки с закругленными концами, расположенные в поле

зрения единично или цепочками. Идентификацию кишечной палочки проводили по морфолого-культуральным свойствам и биохимическим свойствам. Родовую принадлежность микромицет определяли с учетом их морфологических и культуральных особенностей. В ходе опытов определяли количество кишечных палочек, бифидобактерий, лактобацилл, спорообразующих аэробных бацилл, стафилококков, микроскопических грибов в толстом кишечнике.

Во время проведения исследований фиксировали все случаи заболевания телят желудочно-кишечными болезнями. Заболеваемость животных определяли путем статистического сопоставления числа всех животных в каждой группе с числом заболевших. Профилактическую эффективность применяемого комплексного препарата на основе продуктов пчеловодства оценивали по приросту живой массы, заболеваемости телят диспепсией, длительности клинического проявления болезни, сохранности животных.

При исследовании микроскопических препаратов бактерий использовали прибор БИОСКАН (Республика Беларусь) на базе микроскопа ЛОМО МИКМЕД-2 и цветную цифровую видеокамеру НР – 7830 с прикладной компьютерной программой БИОСКАН 1,5 и программным приложением MS OFFICE. Морфологию нативных клеток изучали методом фазово-контрастной микроскопии на микроскопе МБИ-16 «ЛОМО» (Россия) при инструментальном увеличении 1x1000 [7, 8, 9].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты модельного опыта на лабораторных животных показали, что появление клинических симптомов колибактериоза у животных всех групп отмечалось на 2-3 сутки после заражения энтеропатогенным штаммом *E. coli*, причем в контрольной группе из 9 крыс данные симптомы отмечались у 7 животных, в первой опытной группе – из 9 – у 8 крыс, во второй опытной группе – из 9 – у 7 крыс, в третьей опытной группе – из 9 – у 6 крыс и в четвертой опытной группе – из 9 – у 8 крыс. Заболевание протекало остро и характеризовалось угнетением, вялостью животных, отсутствием аппетита, взъерошенностью шерсти, появлением диареи. После появления клинических симптомов колибактериоза животным опытных групп начали выпаивать (в свободном доступе через поилки) пробиотические препараты. Уже на 2-е (в первой опытной группе) и на 3-и (во второй, третьей и четвертой опытных группах) сутки от начала выпаивания отмечена тенденция к улучшению состояния животных: крысы стали подвижны, появился аппетит, исчезли признаки диареи. На 4-5 сутки заболевшие животные всех опытных групп полностью выздоровели: появилось активное движение, хоро-

ший аппетит, отсутствовала взъерошенность шерсти и диарея. Падежа животных в опытных группах отмечено не было. Показано, что соотношение препаратов ДКМ, Бацинил-К, Билавет 1:2:1 соответственно было наиболее оптимальным.

У крыс контрольной группы болезнь протекала значительно тяжелее: угнетенное состояние, плохой аппетит, диарея отмечались в течение 5-6 дней, а затем постепенно животные стали приходить в норму и на 9-10 сутки после появления симптомов колибактериоза клинические признаки болезни исчезли. Однако при этом из 7 заболевших животных трое погибли (42,8%).

Таким образом, применение комплекса пробиотических препаратов позволило сократить продолжительность болезни у лабораторных животных на 3-4 суток и обеспечить их 100% сохранность.

При изучении эффективности использования пробиотиков в производственных условиях основное внимание уделялось формированию микробиоценоза желудочно-кишечного тракта молодых животных.

Полученные результаты показали, что у телят 2-3-дневного возраста (как контрольной, так и опытной групп) в содержимом кишечника преобладали бактерии группы кишечной палочки (табл.). Микроорганизмов этой группы насчитывалось в среднем $2,8-3,2 \times 10^4$ КОЕ/г. На фоне преобладания в посевах бактерий группы кишечной палочки титр молочнокислых и бифидобактерий у телят контрольной и опытной групп в начале опыта составил соответственно $1,0-1,8 \times 10^6$ – $1,6-1,9 \times 10^6$ КОЕ/г.

Как видно из таблицы, в микрофлоре кишечника телят 2-3-дневного возраста присутствовали стафилококки ($1,3-1,7 \times 10^5$ КОЕ/г) и некоторое количество дрожжеподобных грибов р.*Candida* ($0,6-1,0 \times 10^4$ КОЕ/г). По-видимому, преобладание микроорганизмов группы кишечной палочки в кишечном биоценозе новорожденных телят связано со снижением колострального иммунитета, нарушением условий кормления и содержания матерей, частой вакцинацией, антибиотикотерапией.

Бактериологический анализ фекалий телят показал, что комплексное использование пробиотиков телятам раннего постнатального периода способствовало значительному улучшению микробиологической структуры их кишечного биоценоза. К концу эксперимента в кишечнике телят опытной группы отмечалась активизация лактобацилл. Уровень лактофлоры в кишечнике животных опытной группы превысил контроль в 1,56 раза. Подобным образом в кишечнике телят опытной группы изменялось и содержание бифидобактерий. Данный показатель превысил контрольный уровень на 30-й день опыта в 1,35 раза.

Таблица – Результаты бактериологических исследований фекалий телят

Микроорга- низмы	Группа	Количество микроорганизмов в 1 г фекалий, КОЕ	
		до применения про- биотиков	после применения пробиотиков
<i>Bifidum</i>	Контрольная	$1,4 \pm 0,27 \times 10^8$	$1,7 \pm 0,27 \times 10^9$
	Опытная	$1,6 \pm 0,42 \times 10^7$	$2,3 \pm 0,27 \times 10^9$
<i>Lactobacillus</i>	Контрольная	$1,8 \pm 0,95 \times 10^6$	$0,9 \pm 0,32 \times 10^6$
	Опытная	$1,0 \pm 0,3 \times 10^5$	$1,4 \pm 0,40 \times 10^8$
<i>E.coli</i>	Контрольная	$2,8 \pm 0,82 \times 10^4$	$0,7 \pm 0,16 \times 10^6$
	Опытная	$3,2 \pm 0,63 \times 10^4$	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Контрольная	$1,3 \pm 0,25 \times 10^6$	$1,0 \pm 0,27 \times 10^7$
	Опытная	$1,7 \pm 0,46 \times 10^8$	$0,6 \pm 0,14 \times 10^5$
<i>Candida</i>	Контрольная	$1,0 \pm 0,34 \times 10^4$	$0,4 \pm 0,17 \times 10^4$
	Опытная	$0,6 \pm 0,28 \times 10^4$	-

Примечание: «-» отсутствие КОЕ на питательной среде

Параллельно с активизацией нормофлоры в кишечнике животных опытной группы регистрировалось снижение уровня условно-патогенных микроорганизмов.

Введение в рацион телят комплекса пробиотиков способствовало уменьшению активности стафилококков (табл.). Их уровень в кишечнике животных опытной группы снизился в сравнении с контрольным в 1,67 раза. Фоновое значение микроорганизмов группы кишечной палочки в кишечнике телят контрольной группы составило к концу эксперимента $0,7 \times 10^4$ КОЕ/г. Использование телятам пробиотических препаратов привело к выведению бактерий группы кишечной палочки из кишечника. Микроорганизмы данной группы в кишечнике телят опытной группы к концу опыта не выделялись.

Подобное действие комплекса препаратов наблюдалось также по отношению к содержанию в кишечнике телят опытной группы дрожжеподобных грибов р. *Candida*. В кишечнике телят контрольной группы данные микроорганизмы присутствовали в количестве $0,4 \times 10^4$ КОЕ/г, что, по-видимому, вызвано нарушением микробной экологии кишечника животных и созданием благоприятных условий для их размножения в прямой кишке. Тогда как из кишечника телят опытной группы микроскопические грибы к концу эксперимента не выделялись.

Заключение. Проведенные исследования показали, что использование комплекса пробиотических препаратов – ДКМ, Бацинил-К, «Билавет» оказывает выраженный лечебный эффект при колибактериозе у лабораторных животных, а в производственных условиях способствует восстановлению колонизационной резистентности кишечника, а следовательно и иммунного статуса всего организма у телят раннего постнатального периода. Отмечено отсутствие ингибирования

резидентной микрофлоры (активизация развития молочнокислых и бифидобактерий в 1,56 раза) и выраженный антагонизм по отношению к энтеробактериям, псевдомонадам и клебсиелам (их уровень в кишке животных опытной группы снизился в сравнении с контрольным в 1,67 раза.)

Определены оптимальные профилактические (1-3 мл) и лечебные (3-7мл) дозы комплекса пробиотиков с кратностью применения 1-2 раза в день соответственно. Установлено, что наиболее эффективным является единовременное применение исследуемых препаратов (ДКМ, Бацинил-К, Биавет в соотношении 1:2:1 соответственно), а не последовательное.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алямки, Ю. Пробиотики вместо антибиотиков это реально / Ю. Алямки // Птицеводство. - 2005. - № 2. - С. 17-18.
2. Зернов, В.С. Биологически активные вещества и их значение для животноводства // В.С.Зернов/ Тез. докл. науч. конф. «Теория и практика использования биологически активных веществ в животноводстве» — Киров, 1998. -С.3-4.
3. Зернов, В.С. Рост телят-молочников при скормлинии пробиотика БЦЛв смеси с фито-экстрактмлвзеи сафлоровидной // В.С. Зернов, Г.Ф. Нурбаков, Н.В. Бурнышева/ Аграрная Наука Евро-Северо-Востока, 2004. — № 5. — С.92-95.
4. Каширская, Н.Ю. Значение пробиотиков и пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры // Н.Ю. Каширская / Русский медицинский журнал. — 2000. — № 12. — С. 27-32.
5. Неустроев, М.П., Татаринова, С.С. Применение пробиотика «Сахабактисубтил» стельным коровам / М.П. Неустроев, С.С. Татаринова //Зоотехния. — 2006. — № 12. — С. 21–23.
6. Осипова, И.Г., Сорокулова, И.Б., Васильева, Е.А.,Буданова, Е.В. Доклинические испытания новых споровых пробиотиков / И.Г. Осипова, И.Б. Сорокулова, Е.А. Васильева, Е.В. Буданова // Вестн. РАМН. — 2005. —№ 12. — С. 36–40.
7. Осипова, И.Г., Михайлова, Н.А., Сорокулова, И.Б., Васильева, Е.А., Гайдеров, А.А. Споровые пробиотики / И.Г. Осипова, Н.А. Михайлова, И.Б. Сорокулова, Е.А. Васильева, А.А. Гайдеров // Ж. микробиол. — 2003. — № 3. — С. 113–119.
8. Тараканов, Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организма животных // Б.В. Тараканов / Ветеринария. — 2000. -№ 1. — С. 47 – 54.
9. Холод, В.М. Справочник по ветеринарной биохимии В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. — Мн.: Ураджай, 1988. — 168 с.

**ОТРАБОТКА ДОЗ И СПОСОБОВ ПРИМЕНЕНИЯ
НОВОГО ПРЕПАРАТА С ПРО- И ПРЕБИОТИЧЕСКИМИ
СВОЙСТВАМИ НА МОЛОДНЯКЕ КРУПНОГО РОГАТОГО
СКОТА В УСЛОВИЯХ СПК «ГРОДНЕНСКИЙ»
ГРОДНЕНСКОГО РАЙОНА**

М.А. Каврус¹, А.Н. Михалюк¹, А.С. Вилькевич¹, Н.А. Головнева²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – Институт микробиологии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 25.06.2013 г.)

Аннотация. Результаты исследований показали, что наиболее эффективная дозировка нового синбиотического препарата – 1 флакон (0,5 г) на 1 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий ~ $1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл). Использование препарата в данной дозировке способствует активизации метаболических процессов в организме молодняка крупного рогатого скота, повышению усвоения минеральных веществ, более эффективному использованию азота поступающего с кормом, повышению естественной резистентности организма на ранних этапах постнатального онтогенеза, а также повышению живой массы животных на 4,7% в сравнении с контролем. Выпаивание новорожденным телятам нового синбиотического препарата в указанной дозировке способствовало сокращению количества заболевших телят на 40,8 %, а также сокращению продолжительности болезни на 2,1 суток.

Summary. The results of the study showed the most effective dosage of a new symbiotic preparation was 1 bottle(0.5 g) per 1 liter of colostrum or milk (activity $\sim 1 \times 10^9$ bacteria/ml). The use of the drug in the dosage promotes the activation of the metabolic processes in the body of young cattle, improves them in mineral absorption, contributes to more effective use of nitrogen supplied with feed, increase of the natural resistance of the organism in the early stages of postnatal development, as well as increase of live weight of the animals by 4.7% in comparison with control. Desoldering newborn calves a new symbiotic preparation in this dosage helped to reduce the number of sick calves by 40.8%, and also to reduce the duration of illness by 2.1 days.

Введение. В последние годы бактериальные препараты-пробиотики рассматриваются как неотъемлемый компонент фармакологического обеспечения в условиях промышленного животноводства и птицеводства. Многочисленными исследованиями убедительно показано, что использование в ветеринарной практике пробиотических препаратов позволяет снизить заболеваемость, улучшить процессы пищеваре-

ния, обмен веществ, продуктивность животных, повысить качество продукции и экономические результаты производства, добиться экологической безопасности продукции [1, 2, 4, 8].

Актуальность разработки экологически безопасных препаратов для ветеринарной практики особенно возросла в связи с запретом на использование антибиотиков в качестве кормовых добавок в Европейском Союзе, а также ужесточением требований к качеству мясной и молочной продукции в странах СНГ. Ограничение использования кормовых антибиотиков привело к увеличению потребности в препаратах пре- и пробиотиков, фитобиотиков, подкислителей и др. для ветеринарии и животноводства. Важной задачей биотехнологии является разработка и выпуск конкурентоспособных препаратов, не уступающих по своим потребительским свойствам импортным аналогам, которые доминируют в настоящее время на рынке ветеринарных препаратов. Следует отметить, что использование пробиотиков имеет актуальное значение не только для животноводства, но и для здравоохранения как огромный потенциал по снижению риска заболеваемости людей и средство повышения экологической безопасности и конкурентоспособности сельскохозяйственной продукции, как по качеству, так и по цене [3, 5, 6, 7].

Цель работы – отработка доз и способов применения нового препарата с про-и пребиотическими свойствами на молодняке крупного рогатого скота в условиях СПК «Гродненский» Гродненского района.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в СПК «Гродненский» Гродненского района, а также на кафедре микробиологии и эпизоотологии УО «ГГАУ».

Для опыта было отобрано 46 новорожденных телят от коров черно-пестрой породы и сформировано 4 группы: контрольная – 10 голов и 3 опытных (1 опытная – 11 голов, 2 опытная - 13 голов и 3 опытная – 12 голов соответственно). Животные контрольной группы содержались в условиях технологии, принятой в хозяйстве, и получали молозиво, а затем молоко согласно схем выпойки телятам первой опытной группы наряду с этим с 1 по 6 дни жизни перорально однократно в сутки с молозивом, а затем с молоком вводили новый синбиотический препарат в дозе 1 флакон (0,5 г) на 1 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий $\sim 1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл) на одну голову. Животным второй опытной группы – новый синбиотический препарат однократно в сутки в дозе 1 флакон на 3 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий $\sim 0,5 \times 10^8$ КОЕ/мл) на одну голову и животным 3 опытной группы – новый синбиотический препарат однократно

в сутки в дозе 1 флакон на 5 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий $\sim 0,2 \times 10^8$ КОЕ/мл) на одну голову. В возрасте 14 и 30 дней также в течение 6 дней провели повторные дачи синбиотического препарата в тех же дозах.

Длительность опыта составила 1,5 месяца. В 1 и 36 дни опыта у животных каждой группы брали для анализа кровь. За животными на протяжении всего опыта велись клинические наблюдения, а также контроль за ростом и развитием, заболеваемостью.

В крови животных определяли ряд интегральных показателей, характеризующих различные стороны жизнедеятельности организма.

В цельной крови у животных определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина и гематокритную величину с помощью гематологического анализатора MEDONIC CA – 620 (Швеция).

Сыворотку крови получали выдерживанием крови в течение двух часов при комнатной температуре с последующим отделением свернувшейся крови от стенки пробирки стеклянной палочкой и центрифугированием в течение 10 мин при 3000 мин^{-1} . Все биохимические показатели сыворотки крови телят определяли на биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer 20010D.

Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики. Все результаты исследований в работе приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого вариационного ряда, стандартные ошибки средней степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стьюдента-Фишера. При $P < 0,05$ различия средних арифметических сравниваемых вариационных рядов считались достоверными.

Результаты исследований и их обсуждение. При отработке способов применения нового синбиотического препарата для молодняка крупного рогатого скота, мы руководствовались результатами ранее проведенных исследований на пробиотических препаратах (Билавет С и др.). Установлено, что наиболее оптимальным является введение перорально (выпаивание) данных препаратов животным с молоком, молозивом или водой. В связи с этим рекомендуемым способом применения нового синбиотического препарата является введение его перорально (выпаивание), предварительно разбавив препарат в молозиве, молоке или воде и выдержав в течение 30-60 минут при комнатной температуре для повышения активности бифидо- и молочнокислых бактерий.

Результаты исследований по отработке доз введения нового синбиотического препарата показали (табл. 1), что в начале опыта концентрация общего белка у новорожденных телят всех групп была примерно на одном уровне и колебалась в пределах 48,93-53,48 г/л, что соответствует нижней границе физиологической нормы, а у телят второй опытной группы – незначительно ниже показателей физиологической нормы, что связано, по-нашему мнению, с физиологической гипопроотеинемией новорожденных. Что касается белковых фракций, то концентрация альбуминов, также как и общего белка, была на нижней границе физиологической нормы животных, и составляла от 24,49 г/л во второй опытной группе до 28,12 г/л - в третьей, а концентрация глобулинов находилась на уровне 24,14 г/л в контроле, 22,67 г/л в первой опытной группе, 23,05 г/л – во второй опытной и 23,69 г/л – в третьей опытной группе. Низкий уровень альбуминов и глобулинов может быть свидетельством невысокой активности синтеза белка и естественной резистентности организма животных, что характерно для новорожденных животных и объясняется низким уровнем иммунобиологической реактивности организма, вследствие не сформированной до конца иммунной системы новорожденных телят.

Об интенсивности белкового метаболизма у животных можно судить по содержанию конечного продукта расхода азотистых веществ - мочеvine. В начале исследований концентрация ее была на достаточно высоком уровне у животных всех групп и колебалась от 5,19 ммоль/л в контроле до 6,11 ммоль/л в первой опытной группе, что говорит о недостаточно эффективном использовании азота, поступающего с кормом.

Что касается показателей минерального обмена животных, то необходимо отметить достаточно высокое содержание кальция в сыворотке крови животных контрольной (2,14 ммоль/л) и третьей опытной групп (2,09 ммоль/л), что свидетельствует о неэффективном использовании организмом кальция, поступающего с кормом.

Концентрация холестерина у животных как контрольной, так и опытных групп была на уровне верхней границы физиологической нормы и составляла 4,18 ммоль/л в контрольной группе, 4,36 ммоль/л в первой опытной группе, 3,99 ммоль/л – во второй и 4,04 ммоль/л – в третьей группе соответственно, что указывает на нарушение липидного обмена.

Одним из показателей, характеризующих углеводный обмен, является глюкоза.

Таблица 1 – Биохимические показатели сыворотки крови животных

Показатели	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Начало опыта				
Общий белок, г/л	52,15±2,74	50,32±3,21	48,93±2,22	53,48±2,56
Альбумины, г/л	27,17±1,74	26,30±1,96	24,49±2,05	28,12±1,31
Глобулины, г/л	24,14±1,63	22,67±1,28	23,05±1,41	23,69±1,51
Са, ммоль/л	2,14±0,22	1,96±0,30	2,01±0,42	2,09±0,38
Р, ммоль/л	1,79±0,26	1,82±0,37	1,66±0,19	1,88±0,27
Са/Р, ед	1,19±0,18	1,08±0,13	1,21±0,16	1,11±0,21
Железо, мкмоль/л	22,14±1,85	23,32±2,01	19,96±1,41	21,36±1,64
Глюкоза, ммоль/л	3,48±0,42	2,96±0,34*	3,24±0,50	3,01±0,61
Холестерин, ммоль/л	4,18±0,57	4,36±0,49	3,99±0,36	4,04±0,66
АлАТ, ед/л	23,18±1,92	21,88±2,34	20,22±1,66	22,38±2,78
АсАТ, ед/л	59,39±2,74	57,57±3,12	60,03±3,05	62,12±3,74
Магний, ммоль/л	1,84±0,19	1,73±0,21	1,90±0,29	1,74±0,22
Мочевина, ммоль/л	5,19±0,47	6,11±0,68*	5,34±0,55	5,89±0,50*
Конец опыта				
Общий белок, г/л	56,92±2,96	63,18±4,07*	59,78±3,92	60,72±3,21
Альбумины, г/л	33,72±1,99	35,27±2,88	34,42±2,99	34,62±1,82
Глобулины, г/л	22,68±2,84	27,07±2,31**	24,74±2,49*	24,14±1,78
Са, ммоль/л	2,33±0,71	2,74±0,55*	2,61±0,48*	2,42±0,53
Р, ммоль/л	1,81±0,42	1,99±0,39	2,09±0,47*	1,86±0,34
Са/Р, ед	1,28±0,19	1,37±0,31	1,24±0,27	1,37±0,28
Железо, мкмоль/л	20,43±1,84	24,36±2,22*	23,32±2,06*	21,13±2,08
Глюкоза, ммоль/л	4,44±0,42	4,30±0,51	3,99±0,51	4,60±0,58
Холестерин, ммоль/л	4,38±0,37	3,64±0,63*	3,81±0,49*	3,92±0,55
АлАТ, ед/л	25,15±3,06	24,78±2,29	25,15±2,36	23,98±2,79
АсАТ, ед/л	60,62±3,79	59,96±4,56	61,02±3,41	60,97±3,78
Магний, ммоль/л	1,72±0,34	2,08±0,31*	2,00±0,29*	1,66±0,31
Мочевина, ммоль/л	4,92±0,49	3,86±0,74**	4,50±0,64*	4,96±0,49

* — $P<0,05$; ** — $P<0,01$

Необходимо отметить, что у животных первой опытной группы он был достоверно ниже, чем в контроле, однако у новорожденных - показатель глюкозы нестабильный и зависит от многих факторов, в частности, сразу после кормления он может резко повышаться, поэтому в начале исследований в расчет данный показатель не брали.

К концу исследований у животных, получавших новый синбиотический препарат в дозе 1 флакон на 1 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий $\sim 1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл), концентрация общего белка составила 63,18 г/л ($P<0,05$), у животных, получавших новый синбиотический препарат в дозе 1 флакон на 3 л молозива или молока, концентрация общего белка составила 59,78 г/л, а у животных, получавших новый синбиотический препарат в дозе 1 флакон на 5 л молозива или молока, концентрация общего белка составила 60,72 г/л, в то время как в контроле данный показатель находился на уровне

56,92 г/л, что может свидетельствовать о нарушении белкового метаболизма и неэффективном использовании белка как конструктивного элемента у животных контрольной группы. У животных первой опытной группы уровень глобулинов составлял 27,07 г/л ($P<0,01$), у животных второй группы – 24,74 г/л ($P<0,05$), а у животных третьей опытной группы – 24,14 г/л, что указывает на активизацию защитных сил организма. В контроле данный показатель был на уровне – 22,68 г/л.

Необходимо отметить снижение концентрации мочевины у животных опытных групп, и особенно, у животных первой опытной группы до 3,86 ммоль/л ($P<0,01$), что свидетельствует о более эффективном использовании азота, поступающего с кормом – в контроле данный показатель был на уровне 4,92 ммоль/л.

Содержание холестерина у животных первой опытной группы снизилось к концу исследований до 3,64 ммоль/л ($P<0,05$), у животных второй группы – до 3,81 ммоль/л, у животных третьей группы – до 3,92 ммоль/л, в контроле данный показатель составлял 4,38 ммоль/л, что может свидетельствовать об активизации липидного обмена.

Что касается активности аспаратаминотрансферазы (АсАТ), то у телят всех групп она была в пределах физиологической нормы. Динамика активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) практически схожа с вышеприведенными показателями (АсАТ).

Применение нового синбиотического препарата способствовало активизации минерального обмена, особенно у животных первой опытной группы. Так, произошло увеличение концентрации кальция в сыворотке крови на 17,5% ($P<0,05$) в сравнении с контрольной группой. Увеличилось содержание фосфора с 1,81 ммоль/л в контроле до 1,99 ммоль/л в первой опытной группе, 2,09 ($P<0,05$) ммоль/л – во второй и до 1,86 ммоль/л – в третьей, однако достоверных различий по этому показателю у животных первой и третьей групп не наблюдалось. Концентрация железа в сыворотке крови животных первой опытной группы была выше, чем в контроле, на 19,1% и составила 24,36 мкмоль/л ($P<0,05$). У животных второй и третьей опытной групп активность минерального обмена была также выше, чем в контроле.

Динамика живой массы, среднесуточного и относительного приростов телят в период опыта подтвердила результаты гематологических и биохимических исследований. Так, наиболее существенные изменения в динамике живой массы произошли в первой опытной группе – живая масса телят увеличилась в сравнении с контролем на 4,7%, во второй опытной группе – на 3,4%, а в третьей – на 2,9%, однако достоверных различий по этому показателю у животных опытных групп в сравнении с контролем не наблюдалось (рис. 1).



Рисунок 1 – Динамика живой массы телят в период опыта

Что касается среднесуточного и относительного приростов (табл. 2), то они также были выше у животных опытных групп, получавших новый синбиотический препарат в различных дозировках. Так, в первой опытной группе среднесуточный прирост был выше, чем в контроле, на 23,1%, во второй группе – на 15,4%, а в третьей – на 11,8%. Относительный прирост – на 9,42; 6,17 и 2,96 процентных пункта соответственно.

Таблица 2 – Среднесуточный и относительный приросты живой массы телят в период опыта в СПК «Гродненский»

Показатели	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Среднесуточный прирост, кг	0,480±0,049	0,591±0,053	0,554±0,050	0,537±0,041
Относительный прирост, %	41,37±2,35	50,79±3,16	47,54±3,96	44,33±4,02

Наблюдения за заболеваемостью животных в период опыта показали, что выпаивание новорожденным телятам нового синбиотического препарата в дозировке 1 флакон на 1 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий $\sim 1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл) способствовало сокращению количество заболевших телят на 40,8%, а также сокращению продолжительности болезни на 2,1 суток. Падежа

среди животных, получавших новый синбиотический препарата Синвет, не было.

Дозировка препарата – 1 флакон на 3 л и на 5 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий $\sim 0,5 \times 10^8$ и $0,2 \times 10^8$ КОЕ/мл соответственно) оказалась менее эффективной, хотя случаев падежа животных в данных опытных группах также отмечено не было, количество заболевших животных сократилось в сравнении с контролем на 26,2 и 18,3%, а продолжительность болезни – на 1,0-1,5 суток.

Заключение. Таким образом, наиболее эффективной оказалась дозировка нового синбиотического препарата – 1 флакон (0,5 г) на 1 л молозива или молока (концентрация жизнеспособных бактерий $\sim 1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл). Использование препарата в данной дозировке способствует активизации метаболических процессов в организме молодняка крупного рогатого скота, повышению усвоения минеральных веществ, более эффективному использованию азота, поступающего с кормом, повышению естественной резистентности организма на ранних этапах постнатального онтогенеза, а также повышению живой массы животных на 4,7% в сравнении с контролем. Выпаивание новорожденным телятам нового синбиотического препарата в указанной дозировке способствовало сокращению количество заболевших телят на 40,8%, а также сокращению продолжительности болезни на 2,1 суток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко, В.М. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // В.М. Бондаренко, А.А. Воробьев / Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. - № 1. – С. 84 – 92.
2. Журавлев, М.Н. Пробиотические препараты в животноводстве // М.Н. Журавлев, В.Г. Сурдина / Болезни сельскохозяйственных животных вирусной и других этиологий и меры борьбы с ними: Матер. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2001. – С. 86-88.
3. Зернов, В.С. Сравнительное изучение пробиотических препаратов для телят молочного периода выращивания // В.С. Зернов, Г.Ф. Алиев, В.М. Косолапов / Науке нового века – знания молодых: Тезисы докладов 1-ой городской научной конференции аспирантов и соискателей. – Киров, 2001. – С. 59-60.
4. Карпуть, И.М. Возрастные и приобретенные иммунные дефициты // И.М. Карпуть / Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001.- № 2. – С. 28 - 31.
5. Каширская, Н.Ю. Значение пробиотиков и пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры // Н.Ю. Каширская / Русский медицинский журнал. – 2000. – № 12. – С. 27-32.
6. Тараканов, Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организма животных // Б.В. Тараканов / Ветеринария. – 2000. -№ 1. – С. 47 – 54.
7. Collins, M.D. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut // M.D. Collins Am. J. Clin. Nutr. -1999. - V. 69. - P. 1052-1057.
8. Fuller, R. Probiotics: prospects of use in opportunistic infections // R.Fuller / N.Y., 1995. – P. 46 – 51.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕГО И АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ ГРИБОВ РОДА *CORDYCEPS* ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ СВИНЕЙ

**М.А. Каврус¹, А.Н. Михалюк¹, О.В. Копоть¹, Т.А. Пучкова²,
А.Н. Капич²**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – Институт микробиологии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 25.06.2013 г.)

Аннотация. Использование кормовой добавки на основе грибов рода *Cordyceps* в рационах поросят-отъемышей способствует улучшению тканевого питания организма, активизации окислительно-восстановительных реакций, повышению естественной резистентности и иммунобиологической реактивности организма подопытных животных, лучшему усвоению питательных веществ корма, снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 11,2-16,7%, снижению конверсии корма на 3,2-5,3 процентных пункта и, как следствие, повышению продуктивности животных, при этом наиболее эффективной оказалась дозировка препарата 5 мл/кг живой массы.

Summary. The use of a feed additive based on the fungi of the genus *Cordyceps* in the diets of weaned piglets improves tissue nutrition of the bod , activation of redox reactions, enhance natural resistance and immunobiological reactivity of experimental animals, better digestion of feed nutrients, reduced cost of feed per 1 kg of live weight gain by 11,2-16,7% , lower feed conversion by 3,2-5,3 percentage points and, as a consequence , increase the productivity of animals, the drug dosage of 5 ml/kg of body weight was the most effective .

Введение. В современном животноводстве существует проблема получения и сохранения молодняка в ранний постнатальный период, поскольку новорожденные обладают слабой устойчивостью к большинству инфекционных болезней. При индустриальных способах содержания организм животных испытывает значительные функциональные нагрузки, изменяются его адаптивные реакции на внешние раздражители, которые нередко становятся стрессовыми и ослабляют естественные защитные силы. Это сопровождается снижением интенсивности или изменением биохимических реакций и физиологических процессов, которые протекают на низком энергетическом уровне, что отражается на здоровье и продуктивности животных. Без коррекции

обмена веществ и восстановления энергии роста в иммунодефицитные периоды выращивания такие животные в дальнейшем не отвечают требованиям технологии, что отрицательно сказывается на зоотехнических и экономических показателях отрасли. [1, 3, 6, 8]

Промышленное ведение животноводства требует расширенного поиска методов и средств, повышающих резистентность, активизирующих рост и развитие, снижающих заболеваемость новорожденного молодняка. В этой связи актуальным является изыскание новых ростовых и иммунокорректирующих добавок, посредством которых можно эффективно повышать обмен веществ, стимулировать иммунную реактивность, устранять иммунодефицитное состояние и восстановить продуктивность животных до запланированного уровня при высокой эффективности использования ими питательных веществ кормов рационов. [2, 4, 5, 7]

Цель работы – отработать дозы применения лечебно-профилактической кормовой добавки иммунокорригирующего и антиоксидантного действия на основе грибов рода *Cordyceps* и оценить эффективность ее использования при выращивании свиней.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в условиях свинофермы «Матвеевцы» СПК «Матвеевцы» Волковысского района Гродненской области на поросятах-отъемышах. Для опыта было сформировано 4 группы животных: контрольная (27 голов) и первая опытная (26 голов), вторая опытная (29 голов) и третья опытная группы (25 голов). Подбор доз и режимов применения лечебно-профилактической кормовой добавки иммунокорригирующего и антиоксидантного действия на основе грибов рода *Cordyceps* проводили на фоне принятой в хозяйстве технологии кормления и содержания животных, а также схем ветеринарных мероприятий. Формирование групп осуществлено по принципу условных аналогов. В группу поросят-отъемышей отобрали поросят в возрасте 55-60 дней. Опытным группам в дополнение к основному рациону выпаивалась однократно в сутки с молоком лечебно-профилактическая кормовая добавка на основе грибов рода *Cordyceps* в дозировках: первой опытной группе – 1 мл/кг живой массы; второй опытной группе – 3 мл/кг живой массы и 3 опытной группе – 5 мл/кг живой массы (дозировку подбирали опираясь на литературные данные). Продолжительность опыта составила 30 дней. За животными на протяжении всего опыта велись клинические наблюдения, контроль за ростом и развитием. Определение оптимальной дозировки проводили по следующим показателям: продуктивности (живой массе, среднесуточному и относительному приростам), затратам корма на кг прироста живой массы, эффективности конверсии

корма, состоянию здоровья животных, гематологическим и биохимическим показателям крови.

За животными на протяжении всего опыта велись клинические наблюдения, контроль за ростом и развитием. Учет эффективности препарата проводили по продуктивности (живой массе, среднесуточному и относительному приростам), конверсии корма.

Для оценки биологической эффективности применения лечебно-профилактической кормовой добавки иммунокорригирующего и антиоксидантного действия на основе грибов рода *Cordyceps* определены основные гематологические и биохимические показатели животных. Исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный аграрный университет».

Кровь для исследования брали у поросят-отъемышей в начале и в конце исследований.

В крови определяли: содержание гемоглобина – гемиглобинцианидным способом, количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и гематокрит подсчитывали с помощью гематологического анализатора MEDONIC CA – 620. Все биохимические показатели сыворотки крови поросят определяли на биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer 20010D. Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики. Все результаты исследований в работе приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого вариационного ряда, стандартные ошибки средней, степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стьюдента-Фишера. При $P < 0,05$ различие средних арифметических сравниваемых вариационных рядов считалось достоверным.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований показали (рис. 1), что в начале опыта живая масса животных контрольной группы составляла 14,1 кг, 1 опытной – 15,5 кг, 2 опытной – 13,6 кг и третьей опытной – 15,1 кг. К концу исследований в опытных группах, получавших дополнительно к основному рациону лечебно-профилактическую кормовую добавку иммунокорригирующего и антиоксидантного действия на основе грибов рода *Cordyceps*, средняя живая масса поросят увеличилась, причем увеличение происходило пропорционально дозе препарата.

Так, у животных первой опытной группы, получавшей кормовую добавку на основе грибов рода *Cordyceps* в дозе 1 мл/кг живой массы, данный показатель увеличился по сравнению с контролем на 7,3%, во второй опытной группе, получавшей кормовую добавку в дозе 3 мл/кг

живой массы, – на 3,4% и в третьей опытной группе, получавшей кормовую добавку в дозе 5 мл/кг живой массы, – на 15,5%.

Несмотря на то что во второй опытной группе живая масса поросят увеличилась в сравнении с контролем на 3,4%, а в первой на 7,3%, относительный прирост и скорость роста были выше именно у животных второй опытной группы нежели первой, так как живая масса животных в начале исследования во второй группе была ниже.

Для того чтобы устранить данные несоответствия, мы подвергли полученный материал обработке, которая позволила устранить случайные колебания и получить истинное представление об течение процессов – вычисление среднесуточного и относительного приростов.

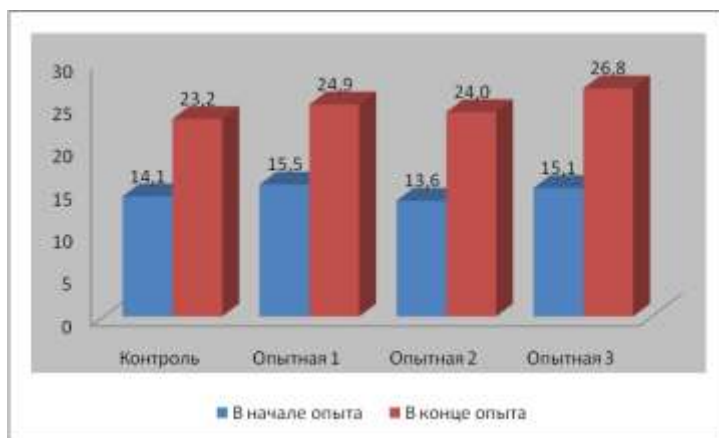


Рисунок 1 – Динамика живой массы поросят-отъемышей в период опыта

Результаты исследований показали (табл. 1), что среднесуточный прирост у животных 1 опытной группы был выше, чем в контроле на 3,2% и составил 313 г, у животных 2 опытной группы – на 14,2% ($P<0,05$) и составил 346 г, а у животных третьей опытной группы – на 28,5% ($P<0,01$) и составил соответственно 390 г, в контроле – 303 г. Что касается относительного прироста, то у животных 1 опытной группы он был ниже, чем в контроле, на 2,26 процентных пункта, у животных второй опытной группы данный показатель был выше, чем в контроле, на 6,52 процентных пункта и у животных третьей опытной группы он был выше, чем в контроле, на 7,05 процентных пункта, что указывает на большую интенсивность роста и развития молодняка свиней 2 и 3 опытных групп, получавших кормовую добавку на основе

грибов рода *Cordyceps* в дозах 3мл/кг и 5 мл/кг живой массы соответственно.

Таблица 1 – Среднесуточный и относительный приросты живой массы поросят-отъемышей в период опыта

Показатели	Группа			
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Среднесуточный прирост, кг	0,303	0,313	0,346*	0,390**
Относительный прирост, %	48,79	46,53	55,31	55,84

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$

Для изучения влияния кормовой добавки на продуктивность животных, определяли также показатели затрат корма на единицу прироста живой массы и эффективность конверсии корма (табл. 2).

Таблица 2 – Расчет затрат корма на единицу продукции

Показатели	Контроль-ная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Среднесуточный прирост, кг	0,303	0,313	0,346	0,390
Средние затраты корма на голову в сутки, г	1380,0	1400,0	1415,0	1480,0
Затраты корма на 1 кг прироста, г	4554,5	4472,8	4089,6	3794,9
Конверсии корма (отношение количества затраченного корма к единице полученной продукции)	15,0	14,3	11,8	9,7

Исследования показали (табл. 2), что применение добавки на основе грибов рода *Cordyceps* позволило снизить затраты корма на 1 кг прироста живой массы во второй опытной группе на 11,2%, в третьей опытной группе – на 16,7%, а конверсию корма снизить 3,2 и 5,3 процентных пункта соответственно.

Полученные результаты по продуктивности молодняка свиней при использовании добавки на основе грибов рода *Cordyceps* подтверждаются результатами биохимических и гематологических исследований, характеризующих процессы метаболизма в организме подопытных животных.

Кровь у животных для проведения гематологических и биохимических исследований отбирали в начале и конце опыта, но в отчете отражены лишь конечные результаты, так как в начале опыта гематобиохимические показатели свиней контрольной и опытных групп были приблизительно одинаковы.

Результаты исследований в конце опыта показали (табл. 3), что у животных, получавших кормовую добавку на основе грибов рода *Cordyceps*, произошло увеличение общего белка в сыворотке крови (в

пределах физиологической нормы) в сравнении с контролем на 2,7% в первой опытной группе, на 7,7% во второй опытной группе и на 10,8% ($P<0,05$) – в третьей опытной группе с дозировкой добавки 5 мл/кг живой массы.

Таблица 3 – Гематобioхимические показатели крови поросят-отъемышей в конце опыта

Гематологические показатели	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2	Опытная 3
Общий белок, г/л	58,92±2,61	60,56±3,65	63,48±3,30	65,29±3,25
Альбумины, г/л	32,20±2,91	34,36±2,80	33,44±3,42	36,44±3,52*
Глобулины, г/л	25,46±2,44	25,63±1,92	26,58±2,28	27,98±2,48*
Ca, ммоль/л	2,41±0,31	2,30±0,24	2,58±0,36	2,53±0,42
P, ммоль/л	1,98±0,25	2,01±0,31	2,15±0,42*	2,29±0,46*
Ca/P, ед	1,21±0,22	1,14±0,18	1,20±0,15	1,11±0,28
Железо, мкмоль/л	28,89±2,41	29,34±2,06	30,42±1,96	32,58±2,18*
Глюкоза, ммоль/л	3,92±0,63	3,80±0,48	4,14±0,50	3,99±0,42
Холестерин, ммоль/л	2,91±0,29	3,02±0,36	2,79±0,22	2,63±0,41*
АлАТ, ед/л	26,17±3,94	24,99±3,82	26,15±3,67	26,01±2,67
АсАТ, ед/л	24,97±3,72	25,12±3,61	25,19±3,46	24,19±2,16
Билирубин, мкмоль/л	2,02±0,26	1,96±0,35	1,84±0,42*	1,71±0,37*
Магний, ммоль/л	0,81±0,15	0,77±0,17	0,86±0,21	0,90±0,23*
Мочевина, ммоль/л	5,77±0,49	5,52±0,37	5,39±0,42	5,09±0,62*
Эритроциты, 10×10^{12}	6,73±0,52	6,82±0,43	7,32±0,72	7,17±0,49
Лейкоциты, 10×10^9	19,29±1,19	18,24±1,34	17,87±1,50	16,92±1,47*
Тромбоциты, 10×10^9	442,41±30,22	428,52±29,16	454,49±32,23	460,74±39,87
Гемоглобин, г/л	96,52±4,64	98,57±5,12	101,59±4,32	103,73±3,97
Гематокрит, %	38,41±2,61	40,58±2,80	39,82±3,05	41,12±4,15
MPV, μkm^3	4,52±0,49	4,59±0,61	4,62±0,48	4,64±0,54
RDV, %	13,53±1,57	13,11±1,62	13,98±1,28	14,01±1,08
MCV, μkm^3	56,39±2,46	57,92±2,59	60,94±2,10	62,73±2,15*
ЦП, ед	1,03±0,07	1,06±0,08	1,10±0,05	1,08±0,08
МСНС, г/100 мл	28,12±3,05	28,43±4,50	29,21±3,90	30,72±4,22
СГЭ, пг	14,73±1,15	15,12±2,61	15,72±1,87	15,91±1,61

* - $P<0,05$; ** - $P<0,01$

Вместе с увеличением содержания общего белка у животных опытных групп произошло перераспределение белковых фракций в сторону увеличения глобулинов при одновременном снижении концентрации альбумина. Хотя альбумины являются одной из основных групп сывороточных белков и имеют разнообразные функции (регуляция водно-солевого обмена, резерв аминокислот, транспорт гормонов, желчных пигментов, витаминов, токсинов и др.), уменьшение альбуминов на фоне увеличения глобулинов является нормой, так как эти две фракции белка в некоторой степени компенсируют друг друга. Так, концентрация глобулиновой фракции возросла (в пределах физиологической нормы) на 4,3% у животных второй опытной группы, получав-

шей кормовую добавку на основе грибов рода *Cordyceps* в дозе 3 мл/кг живой массы и на 9,8% ($P<0,05$) у животных третьей опытной группы, получавшей добавку в дозе 5 мл/кг живой массы, у животных первой опытной группы достоверных различий по этому показателю в сравнении с контролем не наблюдалось. Как известно, в эту белковую фракцию входят иммунные тела, следовательно, можно говорить о стимулирующем воздействии данного препарата на гуморальный иммунитет.

Об интенсивности белкового обмена у подопытных животных можно судить по содержанию конечного продукта расхода азотистых веществ – мочевины. Содержание её в сыворотке крови в норме составляет 2,9-8,8 ммоль/л.

Снижение концентрации мочевины в отдельные возрастные периоды, и особенно в зависимости от кормового фактора, характеризует, по всей вероятности, усиление интенсивности расщепления белков корма и синтеза протеина организма, что также хорошо согласуется с показателями продуктивности животных. У животных опытных групп произошло снижение уровня мочевины в сыворотке крови в пределах физиологической нормы и в сравнении с контролем. Наибольшее снижение концентрации мочевины (на 11,8%) наблюдалось при выпаивании кормовой добавки на основе грибов рода *Cordyceps* в дозе 5 мл/кг живой массы. Тогда как при введении данного препарата в дозе 1 мл/кг живой массы содержание мочевины снизилось на 3,9%. Признаком того что кормовая добавка не обладает токсическим действием на печень, является снижение уровня билирубина. У животных, получавших препарат, данный показатель снизился на 3,0% в первой опытной группе, на 9,0% во второй опытной группе и на 15,4% ($P<0,05$) – в третьей опытной группе в сравнении с контролем.

Концентрация ферментов, являющихся показателем состояния печени, показывает, что кормовая добавка на основе грибов рода *Cordyceps* не оказывает негативного воздействия на функции данного органа. Паренхиматозные поражения печени сопровождаются увеличением активности ферментов аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ). В наших исследованиях, активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) у животных всех групп была в пределах физиологической нормы. Динамика активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) практически схожа с вышеприведенными показателями (АсАТ).

Введение в рацион кормовой добавки позволило повысить содержание в сыворотке крови глюкозы у животных второй и третьей опытных групп, однако достоверных различий по этому показателю в срав-

нении с контролем не наблюдалось. Данные изменения подтверждают улучшение качества усвоения рациона.

Необходимо отметить снижение концентрации холестерина у животных второй и, особенно, третьей опытной группы в сравнении с контролем, что может свидетельствовать об активизации липидного обмена.

Таким образом, биохимические показатели крови у животных всех опытных групп находились в пределах физиологической нормы. Это подтверждает то, что использование в рационах поросят отъемышей кормовой добавки на основе грибов рода *Cordyceps*, положительно влияет на биохимические процессы, протекающие в организме, что является залогом здоровья и высокой продуктивности животных, причем лучшие результаты получены при использовании добавки в дозе 5 мл/кг живой массы.

В группах, получавших кормовую добавку на основе грибов рода *Cordyceps*, отмечена тенденция к увеличению основных гематологических показателей (в пределах физиологической нормы). Однако в 1 опытной группе изменения были менее очевидны, чем во 2 и 3 группах, где в рацион вводили 3 мл/кг живой массы и 5 мл/кг живой массы добавки соответственно. Исследования показали, что концентрация эритроцитов у животных второй и третьей опытных групп возросла в сравнении с контролем на 8,7% и 6,5% соответственно. Вместе с увеличением концентрации эритроцитов, увеличилось и содержание гемоглобина в сыворотке крови животных, получавших кормовую добавку. Так, данный показатель увеличился на 5,2% во второй опытной группе и на 7,4% – во третьей опытной группе, однако достоверных различий по этому показателю в сравнении с контролем не наблюдалось. Данные изменения указывают на активизацию гемопоэза и окислительно-восстановительных реакций в организме. Что касается лейкоцитов, то концентрация их, напротив, несколько снизилась у животных опытных групп, что может свидетельствовать о снижении напряженности иммунитета и повышении иммунобиологической реактивности организма. Положительное влияние кормовой добавки на основе грибов рода *Cordyceps* на организм подтверждается также и такими гематологическими показателями, как содержание тромбоцитов, гематокрит, средний объем эритроцита, содержание гемоглобина в эритроците, цветной показатель. Все эти показатели находились в пределах физиологической нормы. Данные изменения указывают на улучшение тканевого питания организма, активизацию окислительно-восстановительных реакций, повышение естественной резистентности и иммунобиологической реактивности организма подопытных животных.

Заключение. В данной работе были изучены дозы и режимы применения лечебно-профилактической кормовой добавки иммунокорректирующего и антиоксидантного действия на основе грибов рода *Cordyceps* в жидком виде (культуральная жидкость с мицелием грибов). Для внесения кормовой добавки в комбикорм рекомендуется использовать сухую форму препарата. Данный вопрос был изучен в 2012 году на этапе № 2.3.2.4.

Таким образом, использование кормовой добавки на основе грибов рода *Cordyceps* в рационах поросят-отъемышей способствует улучшению тканевого питания организма, активизации окислительно-восстановительных реакций, повышению естественной резистентности и иммунобиологической реактивности организма подопытных животных, лучшему усвоению питательных веществ корма, снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 11,2-16,7%, снижению конверсии корма на 3,2-5,3 процентных пункта и, как следствие, повышению продуктивности животных, при этом наиболее эффективной оказалась дозировка препарата 5 мл/кг живой массы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабицкая, В.Г. Новые биологически активные добавки на основе глубинного мицелия базидиальных грибов / В.Г. Бабицкая, В.В. Щерба, Т.С. Гвоздкова // Успехи медицинской микологии: материалы Четвертого Всероссийского конгресса по медицинской микологии, М: Национальная академия микологии, 2006. – Т.7. – С. 178-180.
2. Исангалин, Ф.Ш. Поиск метаболитов энтомопатогенных грибов с фармакологическими свойствами / Ф. Ш. Исангалин, В.И. Артюхин, В.Е. Лиховидов, Н.И. Косарева, Н.А. Коробова, Е.В.Быстрова // Успехи медицинской микологии: материалы Четвертого Всероссийского конгресса по медицинской микологии, М: Национальная академия микологии, 2006. – Т.7. – С. 241-242.
3. Огарков, Б.Н. Пути создания некоторых лекарственных препаратов из микро- и макромицетов / Б.Н. Огарков, Г.Р. Огаркова, Л.В. Самусенок // Успехи медицинской микологии: материалы Третьего Всероссийского конгресса по медицинской микологии, М: Национальная академия микологии, 2005. – Т.5. – С. 206-210.
4. Pharmacological function of Chinese medicinal fungus *Cordyceps sinensis* and related species / S.Y. Wang [et al]// J.Food and Drug Analysis.2000. – Vol.8, №4. – P. 248-257.
5. A simple and rapid method for identification and determination of cordycepin in *Cordyceps militaris* by capillary electrophoresis / Y.K. Rao [et al] // Anal. Chim. Acta. - 2006. – Vol.566, №2. – P. 253-258.
6. Cordycepin prevents hyperlipidemia in hamsters fed a high-fat diet via activation of AMP-activated protein kinase / P.Guo [et al] // J Pharmacol Sci. – 2010/ - Vol. 113, №4. – P. 395-403.
7. Study of macrophage activation and structural characteristics of purified polysaccharide from the fruiting body of *Cordyceps militaris* / J.S.Lee [et al] // J Microbiol Biotechnol. – 2010. – Vol. 20, № 7. – P. 1053-1060.
8. Immunostimulatory effects of *Cordyceps militaris* on macrophages through the enhanced production of cytokines via the activation of NF-kappaB / S. Shin [et al] // Immune Netw. – 2010. – Vol. 10, №2. – P. 55-63.

**СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВОГО, УГЛЕВОДНОГО,
ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ
У НЕТЕЛЕЙ ИНВАЗИРОВАННЫХ МОНИЕЗИЯМИ**

В.Г. Кирищенко, А.И. Ятусевич, В.М. Мироненко

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

(Поступила в редакцию 01.07.2013 г.)

Аннотация. В данной статье приведены данные о состоянии белкового, углеводного, витаминно-минерального обмена веществ у нетелей, инвазированных мониезиями.

Summary. The article presents data on the state of the protein, carbohydrate, vitamin and mineral metabolism in heifers infested by moniezia sp.

Введение. Патогенное влияние мониезий обусловлено механическим воздействием, токсическим влиянием, изменением и использованием паразитом питательных веществ хозяина, активизацией патогенных микробов или развитие секундарной инфекции и инвазии в ослабленном мониезиями организме.

Механическое воздействие мониезий сказывается в раздражающем местном влиянии на стенку кишечника самим паразитом. Скапливаясь в большом количестве, цестоды своей массой затрудняют продвижение пищевых масс хозяина. У одного из ягнят, экспериментально зараженных *M. expansa*, обнаружили 27 цестод, общей длиной 88м 27см, весом 356г и объемом 432см³. При нарушении перистальтики петли лент мониезий могут образовывать спутанные клубки, которые у ягнят могут вызывать закупорку просвета кишечника. Обтурация и инвагинация обуславливают сложный патологический процесс, который вызывает резкие нарушения физиологического состояния организма и часто приводит животного к гибели.

Вещества, выделяемые мониезиями в процессе паразитирования, оказывают определенное воздействие на организм животного.

И.Т. Трофимов (1938), изучавший патоморфологические изменения при спонтанном мониезиозе, отмечает, что токсины этих цестод обладают раздражающими свойствами. При слабой интоксикации отмечается раздражение тех тканей, с которыми токсины вступают в контакт. Покровный и железистый эпителий тонкого отдела кишечника под влиянием токсинов продуцирует много слизи. Клетки печени перерождаются, поражается центральная нервная система.

Х.Г. Гайнуллина(1943) отмечает, что у естественно инвазированных овец резко снижается количество эритроцитов и гемоглобина, появляется базофильная пунктация, нормобласты и гипохромные эритроциты, тельца Жоли. Такие же изменения она наблюдала при введении перорально эмульсии из мониезий. Данные Х.Г. Гайнуллиной подтвердил Ганзен, Тодд, Келлей(1950) на шести ягнятах экспериментально зараженных *M. expansa*.

Многие авторы утверждают, что при мониезиезах и многократном энтеральном введении суспензии из мониезий в организме ягнят развиваются аллергические реакции и токсикоз. О чем свидетельствуют: эритропения, снижение количества гемоглобина и значения гематокрита, лейкоцитов, эозинофилия. При выраженной анемии в крови гомозиготных животных с НБА и гетерозиготных животных с НБАВ появляется НбС, генетически детерминированный тип гемоглобина, билирубинемия за счет непрямого билирубина, увеличивается содержание сывороточного железа. Отмечается повышение активности АлАт, АлАт, ЩФ, альфа-амилазы в сыворотке, уменьшение индекса де Ритиса и существенное изменение статуса ацетилхолинэстеразы, снижение содержания общего белка, альбуминов, увеличение количества глобулинов при низком значении белкового коэффициента, уменьшение количества свободных аминокислот, уменьшение уровня общих липидов, фосфолипидов и увеличение содержания неэтерифицированных жирных кислот, эфирсвязанного холестерина, а также полиненасыщенных жирных кислот.

А.Ю. Большакова(1994) сообщает, что в крови больных мониезиезом овец резко увеличивается активность кортизола-гормона клеток коры надпочечников. Усиление функциональной активности надпочечников приводит к нарастанию глюконеогенеза, усиливая мобилизацию жиров из жирового депо, что является причиной снижения массы тела животного.

У больных мониезиезом овец наблюдается угнетение активности адеиногипофиза, которое сопровождается уменьшением активности тиреотропного, соматотропного и фолликулостимулирующего гормонов в сыворотке крови, что указывает на снижение синтеза белка. При мониезиезе овец снижается активность щитовидной железы, сопровождающаяся уменьшением в сыворотке крови активности гормонов трийодтиронина и тироксина. Повышается внешняя секреция поджелудочной кислоты, которая сопровождается нарастанием в сыворотке крови активности иммунореактивного инсулина.

Использование мониезиями питательных веществ в кишечнике хозяина. В период развития до половозрелой стадии мониезии быстро

растут в длину. Бурно развиваясь и отделяя большое число проглотив, они потребляют много питательных веществ, особенно белков, углеводов и витаминов, которые им необходимы для формирования массы зародышей и роста стробил, в результате большое животное не получает достаточного количества питательных веществ и, несмотря на хороший аппетит, худеет и теряет в весе

J. Holz (1961) методом хроматографии установил, что стробилы *M. expansa* содержат сравнительно много витамина С (от 0,05 до 0,1% по отношению к общему весу гельминта). Потребляя значительное количество витамина С из пищи хозяина, мониезии способствуют обеднению организма овцы витаминами. Выделяемые мониезиями ферменты и продукты обмена изменяют химический состав пищи и делают ее менее пригодной для усвоения хозяином, в результате животное принимает корм, но не полностью его усваивает. Кроме того, мониезии плотно прилегают одной из сторон стробилы к стенке слизистой оболочки тонкого отдела кишечника и тем самым исключают из процессов пищеварения и всасывания значительную часть кишечника. Вышеуказанное определило выбор цели исследований.

Цель работы – изучить состояние белкового, углеводного, витаминно-минерального обмена веществ у нетелей инвазированных мониезиями.

Материалы и методика исследований. Биохимические исследования сыворотки крови выполнялись на автоматическом биохимическом анализаторе «EuroLyser», с использованием наборов реагентов производства фирмы «Cameu». При этом определяли содержание общего белка, альбуминов, глобулинов, концентрацию глюкозы, уровень общего кальция, неорганического фосфора, магния, а также активность щелочной фосфатазы, аланин- и аспаратаминотрансфераз. Работа была выполнена в период с 2012 по 2013 г. на кафедре паразитологии и инвазионных болезней животных в научно-исследовательском институте прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины, в условиях животноводческого хозяйства ОАО «Мирополье» Борисовского района Минской области. Было сформировано 2 группы животных: опытная (нетели, инвазированные мониезиями) и контрольная (неинвазированные животные).

Результаты исследований и их обсуждение. При биохимическом анализе крови инвазированных нетелей нами были выявлены значительные отклонения в белковом обмене, выраженные снижением количества общего белка, снижением количества альбуминов, измене-

нием альбуминно-глобулинового коэффициента, увеличением количества глобулинов (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели белкового обмена у нетелей, инвазированных *Moniezia benedeni*

ПОКАЗАТЕЛИ	Опытная группа	Контрольная группа
Общий белок, г/л	52,37 ± 1,02***	85,39 ± 2,41
Альбумины, г/л	22,57 ± 0,44***	40,13 ± 1,35
Глобулины, г/л	29,8 ± 1,15***	45,26 ± 1,14

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Из таблицы 1 видно, что у больных мониезиезом нетелей наблюдается гипопроteinемия (из изменений концентрации общего белка); при исследовании фракций белка сыворотки крови мы выявили диспротеинемия, представленную гипоальбуминемией и гиперглобулинемией. У нетелей опытной группы концентрация общего белка составляла $52,37 \pm 1,096$ г/л ($P < 0,001$), а альбумина $22,57 \pm 0,54$ г/л ($P < 0,001$) (контроль - $85,39 \pm 2,41$ г/л и $40,13 \pm 1,83$ г/л соответственно, при норме 72-86 г/л и 30-50 г/л соответственно). Концентрация глобулинов, наоборот, была повышена и составляла $29,8 \pm 1,25$ г/л ($P < 0,001$).

Мы предполагаем, что данные нарушения вызваны в первую очередь нарушением всасывания аминокислот в тонком кишечнике из-за находящихся там мониезий и воспалительного процесса. Повышение уровня глобулинов говорит о протекании острого либо хронического воспалительного процесса, а также является иммунным ответом организма на присутствие паразитических организмов.

Нарушение витаминно-минерального обмена. В ходе исследований было установлено, что у больных мониезиезом животных концентрация витамина С в крови значительно ниже, чем у контрольной группы животных, и ниже нормы, что может повлечь за собой снижение иммунобиологической реактивности организма, развитие различных инфекционных заболеваний, которые будут усугублять течение мониезиеза; также в крови будет наблюдаться еще большее снижение количества эритроцитов, снижение гемоглобина, повышение СОЭ.

Каротин является провитамином А. Основным депо каротина и витамина А является печень.

Полученные результаты биохимического исследования указывают на значительное снижение содержания каротина в крови у больных животных: $1,15 \pm 0,18$ мкмоль/л ($P < 0,01$).

Основные причины нарушений минерального обмена – недостаток в кормах макро- и микроэлементов, изменение соотношения между ними или избыток в рационе. На обмен макро- и микроэлементов

влияют: всасывание биоэлементов в кишечнике, содержание в рационе витаминов, белка, углеводов. Недостаток таких макроэлементов, как кальций, фосфор, магний и др., в рационе, уменьшение всасывания их в кишечнике, изменение их соотношения приводят к снижению минерализации скелета, изменению их уровня в крови, гипокальциевой, гипомagneйной тетании, остеомалации.

Таблица 2 – Показатели витаминно-минерального обмена у нетелей, инвазированных *Moniezia benedeni*

ПОКАЗАТЕЛИ	Группы животных	
	Опытная группа	Контрольная группа
Каротин, мкмоль/л	1,15 ± 0,18**	3,26 ± 0,20
Витамин С, мкмоль/л	0,18 ± 0,04***	0,46 ± 0,03
Общий кальций, ммоль/л	1,62 ± 0,09***	2,74 ± 0,16
Фосфор неорганический, ммоль/л	1,12 ± 0,10**	1,76 ± 0,09
Магний, ммоль/л	0,59 ± 0,04***	0,93 ± 0,03

Примечание: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Как видно из результата опыта, количество каротина, витамина С, а также кальция, фосфора, магния в сыворотке крови у больных мониезиезом нетелей значительно ниже, чем у здоровых нетелей. Мы считаем, что это происходит из-за снижения всасывания этих элементов в кишечнике (особенно учитывая то, что данные элементы всасываются, в основном, в тонком кишечнике, который поражается в большей степени), чему способствуют находящиеся там гельминты; нарушения синтеза витаминов в ЖКТ и, как следствие этого, в организме больных животных нарушается обмен веществ. Результатом таких изменений является слабая устойчивость к различного рода заболеваниям, снижение продуктивности и др.

Нарушение углеводного и пигментного обмена. Для определения глубины нарушения обменных процессов в организме инвазированных животных, а также для выявления возможного поражения печени за счет токсического действия паразитов мы определяли количество глюкозы и билирубина, так как понижение либо повышение количества данных веществ в крови может говорить как о поражении печени в частности, так и о нарушении обмена веществ в целом.

Полученные нами при исследовании крови инвазированных мониезиями животных данные о состоянии углеводного и пигментного обмена приведены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, содержание глюкозы в крови инвазированных мониезиями животных понижено (по сравнению с контрольной группой) и составляет $1,41 \pm 0,16$ ммоль/л ($P < 0,01$). Нарушение пигментного обмена наблюдается чаще всего при различных патологиях со стороны печени. При этом наблюдается либо повышение количества

общего билирубина крови, либо понижение. Повышение билирубина свидетельствует о воспалительных процессах со стороны печени, разрушении большого количества эритроцитов, нарушении кровеобразующей функции печени и др. Данные о состоянии пигментного обмена у больных мониезиозом животных указаны в таблице 3, из которых видно, что количество общего билирубина у больных мониезиозом животных значительно выше, чем у инвазированных животных. Так, у больных нетелей содержание билирубина находилось в пределах $6,88 \pm 0,53$ мкмоль/л ($P < 0,01$). Полученные данные можно объяснить воспалительными процессами, происходящими в организме больных животных (особенно в печени и кишечнике), нарушением всасывания и синтеза глюкозы, разрушением большого количества эритроцитов за счет поражения печени и общей интоксикации организма, вызванных воздействием продуктов жизнедеятельности половозрелых особей мониезий на организм животного в целом.

Таблица 3 – Показатели углеводного и пигментного обмена у нетелей, инвазированных *Moniezia benedeni*

ПОКАЗАТЕЛИ	Группы животных	
	Опытная группа	Контрольная группа
Общий билирубин, мкмоль/л	$6,88 \pm 0,53^{**}$	$4,50 \pm 0,29$
Глюкоза, ммоль/л	$1,41 \pm 0,16^{**}$	$2,19 \pm 0,04$

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Активность ферментов при мониезиозе. Ферменты (энзимы) – это специфические белки, выполняющие в организме роль биологических катализаторов, то есть влияющие на скорость биохимических реакций. При различных заболеваниях активность различных ферментов может либо повышаться, либо понижаться, тем самым вызывая в организме больного животного различные нарушения.

Таблица 4 – Показатели активности гепатоспецифических ферментов и щелочной фосфатазы у нетелей, инвазированных *Moniezia benedeni*

ПОКАЗАТЕЛИ	Опытная группа	Контрольная группа
Аспаратаминотрансфераза, У/л	$102,465 \pm 6,49^{***}$	$61,01 \pm 7,07$
Аланиламинотрансфераза, У/л	$40,76 \pm 2,69^{***}$	$24,74 \pm 1,40$
Щелочная фосфатаза, У/л	$100,02 \pm 4,49^{**}$	$52,74 \pm 7,97$

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Как видно из таблицы 4, активность таких ферментов, как АсАТ, АлАТ повышена или находится на верхней границе. Так, активность аспаратаминотрансферазы у нетелей, инвазированных мониезиями, в отличие от нетелей контрольной группы была повышена и составляла соответственно $102,465 \pm 6,49$ У/л ($P < 0,001$). В то же время активность

аланинаминотрансферазы у нетелей опытной группы была более высокой и составляла $40,76 \pm 2,69$ U/l, ($P < 0,001$). Некоторые авторы более высокую активность аланинаминотрансферазы связывают с более интенсивно протекающим белковым обменом.

Активность щелочной фосфатазы у животных обеих групп также существенно отличалась и составляла у нетелей опытной группы $100,02 \pm 4,49$ U/l ($P < 0,01$), у нетелей контрольной группы – $52,74 \pm 7,97$ U/l.

Данные изменения могут указывать на поражение печени, а также на острые воспалительные заболевания других органов, вызванные паразитированием половозрелых особей мониезий. Результатом данных поражений является нарушение функционирования не только печени, но и других органов и систем органов, что ведет к нарушению обменных процессов в организме.

Заключение. Таким образом, при изучении состояния белкового, углеводного, витаминно-минерального обмена веществ у нетелей, инвазированных мониезиями, установлено уменьшение уровня витамина С ($0,18 \pm 0,04$ ммоль/л ($p < 0,001$)), каротина ($1,15 \pm 0,18$ мкмоль/л ($p < 0,01$)), общего кальция ($1,62 \pm 0,09$ ммоль/л ($p < 0,001$)), магния ($0,59 \pm 0,04$ ммоль/л ($p < 0,001$)), общего белка ($52,37 \pm 1,02$ г/л ($p < 0,001$)), альбуминов ($22,57 \pm 0,44$ г/л ($p < 0,001$)); повышение активности ферментов АсАТ ($102,465 \pm 6,49$ U/l ($p < 0,001$)), АлАТ ($40,76 \pm 2,69$ U/l ($p < 0,001$)), количества билирубина ($6,88 \pm 0,53$ мкмоль/л ($p < 0,001$)).

ЛИТЕРАТУРА

1. Акбаев, М.Ш. Влияние численности мониезий и их токсинов на численность актиномикетов желудочно-кишечного тракта овец / М.Ш. Акбаев // Теоретические основы профилактики инфекционных и инвазионных болезней животных. - 1985. - С. 57-60
2. Акбаев, М.Ш. Динамика эозинофилов крови при спонтанном мониезиозе овец и многократном энтеральном введении суспензии из мониезий / М.Ш. Акбаев // Бюллетень Всесоюзного ордена Трудового Красного Знамени института гельминтологии им. К.И. Скрябина. - 1989. - Вып.51. - С. 3-6.
3. Большакова, А.Ю. Активность желез внутренней секреции овец при мониезиозах / А.Ю. Большакова // Онтогенез, профилактика и лечение болезней с-х животных. - Москва. - 1993. - С. 118-120.
4. Большакова, А.Ю. Функциональное состояние эндокринной системы овец при мониезиозах / А.Ю. Большакова, В.И. Иванов // Актуал. пробл. вет. медицины. - Ульяновск. - 1994. - С. 17-19.
5. Ятусевич, А.И. Влияние мониезий в составе ассоциативных инвазий на микрофлору кишечника овец / А.И. Ятусевич, Мироненко В.М., Кирищенко В.Г., Сандул А.В., Субботина И.А. // Ученые записки ВГАВМ. - Т.45. - вып. 2, ч.1. - Витебск, 2009.-С. 205-208.
6. Ятусевич, А.И. Некоторые аспекты эпизоотологии мониезиоза крупного рогатого скота в Республике Беларусь / А.И. Ятусевич, В.М. Мироненко, В.Г. Кирищенко // Ученые записки УО ВГАВМ: научно-практический журнал. - Том 47. -вып. 2, ч. 1. - Витебск, 2011. - С. 236-239.

**РАЗРАБОТКА И КОНСТРУИРОВАНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БЕШЕНСТВА, ЧУМЫ,
ПАРВОВИРУСНОГО ЭНТЕРИТА И ИНФЕКЦИОННОГО
ГЕПАТИТА ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Н.А. Ковалев¹, М.М. Усеня¹, П.А. Красочко¹, Д.В. Бучукури¹,
Л.В. Бутько²**

¹ – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии

им. С.Н. Вышелеского»,

г. Минск, Республика Беларусь

² – ГУО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. В статье представлены результаты разработки и испытания эффективности вакцины «ТЕТРАВАК» жидкой культуральной инаktivированной сорбированной против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных содержащей в равных объемах инаktivированные вируса бешенства - штамм КМИЭВ-94, вируса чумы плотоядных – штамм КМИЭВ -14В, вируса парвовирусного энтерита – штамм КМИЭВ 12В и инфекционного гепатита – штамм КМИЭВ-83.

Вакцина стерильна и безвредна для плотоядных животных и после двукратной иммунизации их в дозе 2,0 см³ индуцирует у них выработку антител против указанных болезней с титром: против бешенства – $7,0 \pm 1,0 \log_2$; против чумы плотоядных – $5,0 \pm 1,0 \log_2$, против парвовирусного энтерита $8,0 \pm 1,0 \log_2$, вирусного гепатита – $7,0 \pm 1,0 \log_2$. Коммерческая вакцина МУЛЬТИКАН-8 индуцировала примерно такие же титры антител.

Все иммунизированные животные после заражения контрольным вирусом бешенства выжили.

Сконструированная вакцина прошла комиссионные испытания на плотоядных животных и, по нашему заключению, ее можно рекомендовать для внедрения в практику

Summary. The article presents the results of the development and testing of the effectiveness of the liquid culture, inactivated, adjuvanted vaccine against rabies, canine distemper, canine parvovirus enteritis and adenovirus «TETRIVAK» containing equal volumes of rabies antigen, strain KMIEV-94 produced in cell culture BHK-21, distemper antigen, strain KMIEV-12B, produced in cell culture VERO, virus of CPV enteritis, strain KMIEV-14 produced in cell culture CRFK, adenovirus strain KMIEV-83 produced in cell culture MDCK. For inactivation of viruses teotropin 0,15% concentration and adjuvant 6% hidroxsal 10 vol /% were used. The vaccine is sterile and harmless for carnivores. After double immunization dogs and rabbits had an antibody titer $7,0 \pm 1,0$; against rabies, $8,0 \pm 1,0 \log_2$, adenovirus $7,0 \pm 1,0 \log_2$, against CPV and against CDV $5,0 \pm 1,0 \log_2$. The commercial vaccine

MULTIKAN-8 induced approximately the same antibody titers... All immunized animals after infection with a virus control of rabies have survived.

The designed vaccine passed commission tests for carnivores and, in our opinion, it can be recommended for implementation in practice.

Введение. Бешенство, чума, вирусный гепатит и парвовирусный энтерит – наиболее распространенные вирусные болезни плотоядных животных, наносящие значительный экономический ущерб и представляющие социальную опасность.

Бешенство является исключительно опасным, абсолютно смертельным заболеванием всех теплокровных животных и человека и занимает одно из ведущих мест в инфекционной патологии. Заболевание бешенством имеет широкое распространение во многих странах мира, в т.ч. и в Беларуси. Причем напряженность эпизоотической ситуации по этой инфекции вследствие ее природно-очагового характера, несмотря на проводимые профилактические мероприятия практически не снижается.

Так, в 2012 г. на территории республики бешенство было выявлено у 580 животных. Обращаемость населения в связи с укусами, оцарапываниями и ослюнениями животными, в том числе и бешеными, в последние годы возросла до 23-28 тыс. случаев в год. В 2000-2011 гг. отмечены 8 случаев гибели от бешенства людей [4, 5, 7, 14].

Одной из основных мер борьбы с бешенством была и остается антирабическая вакцинация.

В ветеринарной практике в настоящее время применяются как живые культуральные, так и инактивированные антирабические вакцины [14].

Живые аттенуированные вакцины готовят, как правило, на основе культур клеток (Vero, почка сирийского хомячка ВНК-21, почки поросенка, сайги и др.) или развивающихся куриных эмбрионов.

В России производятся и используются следующие инактивированные культуральные вакцины: вакцина из штамма Внуково-32 [1]; вакцина из штамма вируса бешенства Щелково-51 [10]; вакцина из штамма вируса бешенства ТС-80 [2]; вакцина из штамма РВ-97 (дери-ват штамма 71 БелНИИЭВ-ВГНКИ) [3].

В Беларуси РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» разработана и производится жидкая культуральная сортированная инактивированная вакцина из штамма 71 БелНИИЭВ-ВГНКИ и его модификации КМИЭВ-94 [6, 7].

Существенный удельный вес в инфекционной патологии плотоядных животных занимает чума [13]. К чуме плотоядных восприимчивы собаки, норки, песцы, соболи, хорьки, серебристо-черные лисицы и

другие звери всех возрастов. При чуме у животных поражается дыхательная, иммунная, кровеносная, нервная и пищеварительная системы. Летальность молодняка пушных зверей и собак при вспышке чумы плотоядных может достигать 80-100%, а взрослых животных 30-50%. Возбудитель устойчив к действию внешних факторов.

Для профилактики чумы плотоядных в Республике Беларусь применяются следующие вакцины: живая культуральная моновакцина российского производства, а также поливалентные вакцины: Гексаканивак, Биофак, Мультикан-4, Мультикан-8, Гексадог, Нобивак, Эурикан, Пентадог.

Парвовирусная инфекция собак, которая впервые была зарегистрирована в 1976 г. в Бельгии, в настоящее время широко распространена во многих странах мира. Заболеванию подвержены как молодые, так и взрослые животные. Парвовирусным энтеритом болеют собаки, могут болеть кошки, лисицы, еноты, песцы, норки и другие животные. Данное заболевание, как правило, имеет стационарный характер с охватом значительного количества животных. Наибольшую опасность она представляет для щенят в возрасте до 6 месяцев. У них летальность составляет 25%, но может достигать и 80% [12, 13, 15]. Хотя официальной статистики по указанному заболеванию в республике не ведется, косвенные источники (объемы вакцинаций) позволяют судить о его значительном распространении.

Надежным способом профилактики парвовирусного энтерита является вакцинация. Для этой цели используются инаktivированные и живые аттенуированные вакцины [13, 15]. Из инаktivированных вакцин в странах СНГ используют препарат «Биовак Д» из штамма Геркулес, препарат фирмы «Ветзвероцентр» из штамма Д (в моновалентном виде и как компонент ассоциированных вакцин).

Живые вакцины против парвовирусного энтерита готовят из аттенуированных штаммов парвовируса собак (ПВС) или вируса панлейкемии кошек. Для этой цели применяют моновалентные вакцины из ПВС ЗАО «Фирма Ветзвероцентр», Вангард Purru CPV (Пфайзер), Биовак Д (ООО «Биоцентр»), Нобивак Парво-С (Интервет), Квантум Р (Питман-Муур), Коммандер Parvo MLV (Биокар), Неомар (Неотех) и др. [15].

Инфекционный гепатит или болезнь Рубарта – острая контагиозная болезнь плотоядных, протекающая с лихорадкой, воспалением конъюнктивы, слизистой оболочки носовой полости, желудочно-кишечного тракта, печени и желчного пузыря, а иногда и с поражением центральной нервной системы. Возбудителем заболевания является аденовирус 1 го типа (CAB-1) [13].

В естественных условиях к инфекционному гепатиту восприимчивы собаки всех возрастов и пород, а также лисицы, песцы, еноты и другие пушные звери.

С целью профилактики заболевания в ряде стран применяют инактивированные вакцины, которые индуцируют напряженный иммунитет продолжительностью до 1 года. Вакцины чаще всего ассоциируют с другими компонентами – вирусами чумы, бешенства и парвовирусного энтерита плотоядных [12, 15].

Вакцины против указанных заболеваний в республике не производятся, а закупаются по импорту, главным образом в России, Голландии, Франции. Поэтому разработка и налаживание производства таких отечественных вакцин будет иметь важное экономическое значение и позволит сократить затраты валюты на закупку за рубежом аналогичных препаратов. Особенно если учесть, что в Беларуси ежегодно прививается около 900 тыс. собак против бешенства, парвовирусного энтерита и чумы и свыше 900 тыс. норок против чумы.

Цель работы – сконструировать эффективную инактивированную вакцину против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита, инфекционного гепатита плотоядных, разработать рациональную технологию ее производства и внедрить в практику.

Для реализации указанной цели решались следующие задачи:

1. Изыскание рациональных способов получения вирусного сырья для изготовления вакцины.
2. Отработка методов и режимов инактивации вирусов.
3. Определение оптимальной концентрации гидроксала в вакцине.
4. Конструирование вакцины и изучение ее безвредности, стерильности и иммуногенности.
5. Изучение срока годности вакцины.

Материалы и методы исследований.

Подопытные животные.

Исследования проводили на белых мышах, кроликах и собаках. Для опытов брали мышей массой 15-17 г, для титрации вируса и постановки реакции нейтрализации (РН) – массой 6-8 г. Кроликов массой 2-3 кг и собак массой 10-15 кг получали из питомников.

Штаммы вирусов.

Фиксированный вирус бешенства штамм КМИЭВ-94 был селекционирован в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» из штамма 71 БелНИИЭВ-ВГНКИ и адаптирован к культурам клеток Vero, ПС, ВНК-21.

Вирусы парвовирусного энтерита собак (ПВС) штамм КМИЭВ-14в, чумы плотоядных штамм КМИЭВ-12В и инфекционного гепатита

КМИЭВ-83 селекционированы из выделенных от собак эпизоотических штаммов и адаптированы: парвовирус к культурам клеток СгФК и МДСК, вирус чумы к культуре клеток Vero, вирус инфекционного гепатита – к культуре клеток МДСК.

Эталонный фиксированный вирус бешенства штамм CVS получен из лаборатории профилактики бешенства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР.

Биопрепараты.

При изучении иммунологической эффективности сконструированного образца вакцины одновременно иммунизировали кроликов и собак коммерческой вакциной производства ОАО «Росбиопром» Мультикан-8 (против чумы, аденовирусных инфекций, парвовирусного и коронавирусного энтеритов, лептоспироза и бешенства).

Для исследований на бешенство мозга животных, а также для титрации вируса бешенства и определения титров антирабических антител в RFFIT использовали флюоресцирующие антирабические гамма-глобулины «Biorad» французского производства.

Для выявления и титрования вируса парвовирусного энтерита собак использовали диагностические наборы Парво-тест для ИФА производства компании «Нарвак» (Россия).

Для титрации в РГА парвовируса плотоядных и определения титра противопарвовирусных антител использовали эритроциты свиньи.

Культуры клеток.

Для культивирования фиксированного вируса бешенства использовали перевиваемую культуру клеток ВНК-21/13, для культивирования вируса парвовирусного энтерита собак – культуру клеток СгФК, для культивирования вируса чумы плотоядных – культуру клеток Vero, для культивирования вируса инфекционного гепатита – культуру клеток МДСК.

Фармпрепараты.

Для инаktivации вакцинных вирусов использовали теотропин по ТУ 931004200495549-М производства ООО «Веда М» ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии, в качестве адьюванта – гидро-ксал по ГОСТ 18287.

Титрация вирусов и определение титров антител.

Титрование вируса бешенства и реакцию нейтрализации для определения титров вируснейтрализующих антител проводили на белых мышах, а также определение титров антирабических антител методом RFFIT проводили по общепринятым методам [8].

Титрацию вируса парвовирусного энтерита проводили в РГА со свинными эритроцитами и с помощью ИФА, титрацию антител к вирусу

в РТГА с этими же эритроцитами с 4-8 гемагглютинирующими единицами вируса. Титрацию вируса чумы плотоядных и антител к нему проводили на культуре клеток Vero, а инфекционного гепатита на культуре клеток MDCK по общепринятым методикам [8, 13].

Определение контаминации вирусных материалов и вакцины бактериями и грибами проводили по ГОСТ 28085-89 и ГФ 11, вып. 2, с. 196-197, 2000-2001, ГФ Р.Б., Т.1. 2012. На питательных средах с посевами роста колоний бактерий и грибов не допускалось.

Определение безвредности и реактогенности вакцины.

Объединенную пробу из трех флаконов после тщательного смешивания вводили 10 мышам в область подкожной клетчатки спины в объеме по 0,5 мл. Наблюдение за животными проводили в течение 10 дней. Результаты учитывали по отсутствию местных реакций и выживаемости животных.

Результаты исследований и их обсуждение.

Получение вирусного сырья для изготовления экспериментального образца вакцины.

Культивирование вирусов для изготовления вакцины проводили роллерным в 2-литровых роллерах или статическим в 1,5-литровых матрасах способами при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Скорость вращения роллеров составляла от 8-12 об/мин. В качестве питательной среды использовали среды Игла или Игла MEM с добавлением 2-10% сыворотки крупного рогатого скота.

Вируса вносили в питательную среду одновременно с клетками, концентрация которых составляет 0,1-0,2 млн/мл. Для культивирования вируса бешенства использовали клетки ВНК-21/13, вируса чумы плотоядных – клетки VERO, вируса парвовирусного энтерита – клетки CrFK, вируса инфекционного гепатита-клетки MDCK. Заражающая доза вируса бешенства составляла 0,1-0,6 $\text{MLD}_{50}/\text{кл}$, вируса чумы плотоядных – $0,6\pm 0,14$ $\text{TKID}_{50}/\text{кл}$, вируса парвовирусного энтерита – 0,0005 $\text{ГAE}/\text{кл}$, вируса инфекционного гепатита-0,1-0,3 $\text{TKID}_{50}/\text{кл}$.

Все четыре полученных вирусных материала были стерильными в отношении бактериальной и грибковой флоры.

Наиболее высокое накопление вирусов происходило при роллерном способе выращивания. Так, титр вируса бешенства при роллерном способе культивирования составлял 7,0 lg и был на 0,2 lg выше, чем при статическом способе, титр вируса чумы плотоядных – 4,5 lg или на 0, 5 lg выше, титр вируса инфекционного гепатита-5,0 lg или на 0, 5 lg выше, титр парвовирусного энтерита - 10,0 $\log_2$ или на 2 $\log_2$ выше, чем при стационарном способе культивирования.

Инаktivация вирусов.

Теотропин добавляли к вирусам до конечной концентрации 0,05; 0,1 и 0,15% и выдерживали в термостате при температуре 37°C, периодически перемешивая. Через 0, 12, 24 и 36 часов отбирали пробы материала и тестировали на инфекционную активность: вирус бешенства путем интрацеребральной инокуляции белым мышам в дозе 0,03 мл, вирус ПВС путем заражения культуры клеток СгФК в дозе 4-8 ГАЕ на пробирку, вирус чумы плотоядных путем заражения культуры клеток Vero в дозе 0,6 ТКИД₅₀/кл. вирус инфекционного гепатита путем заражения культуры клеток МДСК в дозе 0,3 ТКИД₅₀/кл. Исследования проводили в 3-х повторностях

В результате было установлено, что теотропин в концентрации 0,1 и 0,15% через 24 и 36 часов при температуре 37°C полностью инаktivировал все четыре вируса. В меньшей концентрации и в более короткие сроки препарат лишь снижал титры вирусов.

В дальнейшей своей работе для инаktivации вакцинных вирусов бешенства, чумы, ПВЭ и гепатита мы использовали интервал 24 часа и 0,15%-ю концентрацию теотропина, как более полно гарантирующую результат.

Определение оптимальной концентрации гидроксала в вакцине

С целью определения оптимальной концентрации гидроксала в четырехвалентной вакцине в культуральные жидкости вируса бешенства, ПВЭ, инфекционного гепатита и чумы плотоядных добавляли 6% -й гидроксал в количестве 5 и 10%. Затем смесь вирусов с различным количеством гидроксала выдерживали помешивая в течение 18 часов в холодильнике при температуре 4°C и центрифугировали при 4000 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость вируса бешенства титровали на белых мышах, вируса ПВЭ – в РГА, вируса чумы плотоядных на культуре клеток Vero, а вирусного гепатита – МДСК. С целью контроля титрации одновременно подвергали и исходные вирусы без добавления гидроксала.

Оптимальной концентрацией гидроксала для сорбции всех четырех вирусов является 10 об%. Титр вируса бешенства при этом в надосадочной жидкости по сравнению с контролем снижался на 3,55 lg, титр вируса ПВЭ – на 6,0 log₂, титр вируса чумы плотоядных – на 1,0 lg, титр вируса гепатита – на 2,5 log₂.

В дальнейшем указанная концентрация гидроксала использовалась нами при изготовлении вакцины.

Для конструирования эффективного экспериментального образца вакцины против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных были приготовлены 3 варианта препара-

рата из инаktivированных теотропином неконтаминированных вирусов с добавлением 10об% гидроксала по следующей схеме (табл. 1).

Таблица 1 – Схема компановки вариантов вакцины

№ п/п	Антиген вируса	Объем антигенов (см ³) на 100 см ³ вакцины		
		1 вариант	2 вариант	3 вариант
1.	Бешенство	25,0	30,0	25,0
2.	Чума плотоядных	30,0	25,0	25,0
3.	Парвовирус	25,0	20,0	25,0
4.	Инфекционный гепатит	20,0	25,0	25,0

С целью проверки безвредности и иммунологической эффективности сконструированных образцов вакцины в опыт были взяты 21 кролик массой 2,5-3,0 кг, разделенных на 7 групп по 3 кролика в каждой. Кроликам 1 группы введено внутримышечно по 2 см³ вакцины первого варианта, второй – такой же объем вакцины второго варианта и кроликам 3 группы – объем вакцины третьего варианта. Четвертая группа кроликов, вакцинированных 0,7 см³ антигена вируса бешенства, пятая, вакцинированных 0,7 см³ антигена вируса чумы, шестая, вакцинированных 0,7 см³ антигена парвовирусного энтерита плотоядных, и седьмая, вакцинированных 2 см³ вакцины Мультикан-8, служили контролем. Препараты вводили дважды с интервалом 21 день.

Через 14 дней после вакцинации сыворотки крови животных были исследованы на титры антител против вирусов бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и вирусного гепатита плотоядных.

Титры антител у кроликов, вакцинированных всеми тремя вариантами сконструированной вакцины, существенно не отличались. Титры антител против вируса бешенства в РН на белых мышах составляли 6,0±1,0 - 7,0±1,0 log₂, титры антигематглютининов к парвовирусному энтериту 7,0±1,0 – 8,0±1,0 log₂, титры вируснейтрализующих антител к вирусу чумы плотоядных 5,0±1,0 – 6,0±1,0 log, титры вируснейтрализующих антител к вирусу гепатита 7,0±1,0. Примерно такие же титры антител были и при вакцинации животных монокомпонентами вирусов в объемах, входящих в вакцину, а также вакциной Мультикан-8, что свидетельствует об отсутствии конкуренции вирусов в вакцине, а также о том, что по своей иммуногенной эффективности сконструированная вакцина не уступает коммерческой.

Исходя из этого, за окончательный принят вариант вакцины, включающий антигены вирусов бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и вирусного гепатита плотоядных в равных соотношениях.

Проверка иммунологической эффективности экспериментального образца трехвалентной культуральной вакцины против бешенства, парвовирусного энтерита, вирусного гепатита и чумы плотоядных проведена также в комиссионном опыте на собаках. С этой целью 10 собак

были разделены на 2 группы, по 5 голов в каждой. Животные первой группы были вакцинированы экспериментальным образцом четырехвалентной вакцины двукратно по 2,0 см³ с интервалом 21 день. Животные второй группы для контроля и по такой же схеме вакцинированы поливалентной вакциной российского производства Мультикан-8 (против чумы, аденовирусных инфекции, парвовирусного, кароновирозного энтеритов, лептоспироза и бешенства). Вакцины вводили внутримышечно в область бедра. Через 14 дней после вакцинации у животных были отобраны пробы крови для определения титров антител.

Об иммунологической эффективности вакцины судили по титрам специфических антител у вакцинированных животных.

Результаты определения иммунологической эффективности сконструированного экспериментального образца вакцины представлены в табл. 2.

Таблица 2 – Титры специфических антител против вируса бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных у собак, вакцинированных четырехвалентной вакциной.

№ Группы	Вакцина	Доза см ³	Титры антител (log ₂) через 14 дней после вакцинации			
			антирабических	Противопарвовирусных	Противочумных	Противогепатитных
1	Четырехвалентная	2,0	6±1,0	8±1,0	5±1,0	6±1,0
2	Мультикан-8	2,0	6±1,0	7±1,0	5±1,0	6±1,0

Как видно из таблицы, у животных, привитых сконструированной четырехвалентной вакциной, титры антител к вирусу бешенства, парвовирусу, вирусу чумы и инфекционного гепатита плотоядных на 14 день после вакцинации были относительно высокими и практически не отличались от титров антител у животных, вакцинированных вакциной российского производства Мультикан-8. Все собаки в течение 40 дней после вакцинации оставались клинически здоровыми, местные реакции на месте введения вакцин отсутствовали.

Для установления срока годности сконструированной вакцины общая проба из 3-х ее серий были проверены на иммуногенную активность, бактериальную и грибковую стерильность и безвредность через 6, 12 и 18 месяцев хранения при температуре 4-8°C. Исследования проводились по ранее описанным методикам.

При этом установлено, что вакцина оставалась стерильной и безвредной в течение 18 месяцев. Однако иммуногенная активность ее после 18-месячного срока хранения снижалась. Поэтому в условиях хранения при 4-8°C оптимальным сроком годности вакцины следует считать 18 месяцев с момента изготовления.

Заключение. 1. Вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против бешенства, чумы парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных является безвредным, стерильным и высокоиммуногенным препаратом, который по своей иммунологической эффективности не уступает коммерческой вакцине зарубежного производства и может быть рекомендована в практику.

2. При иммунизации указанной вакциной кроликов и собак двукратно внутримышечно с интервалом 21 день в объеме $2,0 \text{ см}^3$ через 14 дней после иммунизации они имели более высокие титры антител $6,0 \pm 1,0$ – $7,0 \pm 1,0 \log_2$ против бешенства, $5,0 \pm 1,0$ – $6,0 \log_2$ против вируса чумы, $7,0 \pm 1,0$ – $8,0 \pm 1,0 \log_2$ против ПВЭ, вирусного гепатита – $7,0 \pm 1,0 \log_2$. Примерно такие же титры антител имели животные при иммунизации коммерческой вакциной Мультикан-8. Все иммунизированные кролики при заражении вирусом бешенства не заболели.

3. Сконструированная вакцина в качестве вирусосодержащего материала включает смешанные в равных объемах вирус бешенства штамм КМИЭВ-94 в титре $6,8$ – $7,0 \lg$, выращенный в культуре клеток ВНК-21, вирус чумы плотоядных $4,5 \lg$ ТЦД выращенный в культуре клеток Vero, штамм КМИЭВ-82, вирус ПВС КМИЭВ-14в в титре $7,0$ – $8,0 \log_2$, выращенный в культуре клеток СгФК, вирусного гепатита КМИЭВ-83 $4,5$ – $5,0 \pm 1,0 \lg$, в качестве инактиватора вирусов – теотропин в $0,15\%$ -й концентрации, в качестве адьюванта – гидроксал в концентрации $10 \text{ об}\%$.

4. Способ изготовления вакцины включает репродукцию вирусов, их инактивацию и конструирование вакцины.

Вирус бешенства репродуцируют роллерным способом в среде Игла с клетками ВНК-21/13 в количестве $0,1$ – $1,2 \text{ млн/мл}$, разлитую в роллерные флаконы по $200,0 \text{ см}^3$ вносят вирус в количестве $0,1$ – $0,6 \text{ LD}_{50}/\text{Кл}$. Культивируют вирус при температуре 37°C и скорости вращения флаконов 18 – 28 об/мин .

Вирус чумы плотоядных репродуцируют в культуре клеток Vero со средой Игла и 10% сыворотками крупного рогатого скота в статических условиях в $1,5$ -литровых матрасах или в 2 -литровых роллерных флаконах при 37°C . Заражающая доза вируса составляла $0,01 \text{ ТЦД/кл}$.

Вирус ПВЭ репродуцируют в культуре клеток СгФК со средой Игла и 10% сыворотками крупного рогатого скота в статических условиях в $1,5$ -литровых матрасах или в 2 -литровых роллерных флаконах при 37°C . Заражающая доза вируса составляла $0,0005 \text{ ГАЕ/кл}$.

Вирус инфекционного гепатита репродуцируют в культуре клеток MDCK со средой Игла и 10% сыворотками крупного рогатого скота в статических условиях в $1,5$ -литровых матрасах или в 2 -литровых ро-

лерных флаконах при 37⁰С. Заражающая доза вируса составляла 0,01 ТЦД/кл.

Вирусное сырье через 3-4 суток культивирования после замораживания и оттаивания матрасов и флаконов инактивируют теотропином в 0,15%-й концентрации в течение 24 часов при 37⁰С, смешивают в равных объемах и добавляют гидроксал до конечной концентрации 100б%.

5. Хранение при температуре плюс 4-8⁰С обеспечивает годность вакцины в течение 18 месяцев со дня изготовления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barth, R. Vnukovo-32 Primary hamster kidney cell vaccines for humans. Barth R. Franke V., Selimov M.A //Laboratory Techniques in Rabies. Word Health Organization, Geneva 1996. p.310-313.
2. Вишняков, И.Ф. Инактивированная культуральная вакцина против бешенства. Никитин И.В., Недосеков В.В. //Ветеринария 1998 №1, с.22-24.
3. Гочмурадов, М.Г. Усовершенствование технологии промышленного производства инактивированной вакцины против бешенства животных. Автореф. дис. канд. вет. наук. Гочмурадов М.Г., Владимир. 1999. - С. 33.
4. Зибицкер, Д.Е. Бешенство и его профилактика. Зибицкер Д.Е., Ковалев Н.А. Мн., «Ураджай», 1970. – С. 200.
5. Ковалев, Н.А. Эпизоотическая ситуация и профилактика бешенства в Беларуси. Ковалев Н.А., Усеня М.М., Уласович П.А //Ветеринарная медицина Беларуси, №3, 2002 г. – С. 4-5.
6. Ковалев, Н.А. Разработка и изучение эффективности вакцины из штамма вируса 71 БелНИИЭВ-ВГНКИ для иммунизации животных против бешенства Ковалев Н.А., Бучукури Д.В., Усеня М.М. // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук, 2007, № 2, с. 80-87.
7. Ковалев Н.А. Профилактика бешенства в Беларуси: состояние и проблемы // Ветеринарная наука производству: научные труды, выпуск 40: материалы научно-практической конференции Ковалев Н.А., Бучукури Д.В. «Основные патологии животных и современные технологии профилактики болезней» в честь 80-летия НАН Беларуси. – Гродно, 2008. – Т. 2. – С.80-87.
8. Методы лабораторных исследований по бешенству. –Женева, ВОЗ, 1975. – С. 353.
9. Назаров, В.П. Бешенство животных. Назаров В.П. – М., Сельхозгиз, 1961. –160с.
10. Патент РФ № 955577 от 20.04.1993 г. Кузнецов Н.Н., Иванов В.С. и др. Способ получения антирабической вакцины.
11. Селимов, М.А. Бешенство. Селимов М.А. – М., 1978, 336 с.
12. Сулимов, А.А. и др. Парвовирусный энтерит собак. Сулимов А.А. М., 1984.
13. Сюрин, В.Н. Вирусные болезни животных. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Т.В., Фомина Н.А. М., ВНИТБП, 1988. – С. 928.
14. Таршис, М.Г. Бешенство животных. Таршис М.Г., Ковалев Н.А., Кузнецов П.П. - Мн.: «Ураджай», 1990. – С. 168.
15. Шуляк, Б.Ф. Вирусные болезни собак. Шуляк Б.Ф. М., 2004. – С. 560.

УДК 636.4.053:619:616.15(476.6)

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ПОРОСЯТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА-СИНБИОТИКА

Л.С. Козел, В.Л. Сукач, О.В. Милоста

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Применение комплексного препарата-синбиотика в дозе 4 мл/кг живой массы один раз в день с 1 по 5 и с 14 по 18 дни жизни способствует улучшению морфологических показателей крови за счет активизации эритропоэза, а также усилению интенсивности белкового обмена и защитных сил организма за счет увеличения общего белка на 5,4% и глобулинов на 8,9% и, как следствие, повышает сохранность животных и их продуктивность.

Summary. Application of a complex synbiotic preparation in a dose of alive mass of 4 ml/kg once a day with 1 on 5 and with 14 for 18 days of life promotes improvement of morphological parameters of blood due to activation of an erythropoiesis, as well as increased intensity of protein metabolism and the body's defenses by the increase in total protein and globulin by 5.4% and by 8.9% and, consequently, increases the safety and productivity of animals.

Введение. Желудочно-кишечные болезни сельскохозяйственных животных являются одной из наиболее острых проблем в животноводстве республики и причиняют большой экономический ущерб [8].

По данным многих исследователей, респираторная и желудочно-кишечная инфекционная патология молодняка свиней в промышленном свиноводстве в удельном весе потерь составляет 80-90% [4, 5, 6].

Установлено, что в условиях свиноводческих промышленных комплексов нарушение нормального состава микрофлоры весьма значительно, и происходит оно за счет резкого уменьшения количества симбионтных микроорганизмов. В результате в составе кишечного биоценоза наблюдается рост численности стафилококков, протей, дрожжеподобных грибов и других микроорганизмов, снижается популяционный уровень бифидо- и молочнокислых бактерий, а также «полезных» бацилл [1, 3, 9]. К основным причинам, вызывающим сдвиги в кишечном микробиоценозе, относятся первичные и вторичные иммунодефициты у молодняка, снижение колострального иммунитета, антибиотикотерапия, нарушение условий кормления и содержания матери и потомства [2].

Эффективным, безопасным и экономически целесообразным решением является производство и применение натуральных биокоррек-

торов, механизм действия которых направлен на заселение кишечника конкурентоспособными штаммами бактерий-пробионтов, которые осуществляют неспецифический контроль над численностью условно-патогенной микрофлоры путём вытеснения её из состава кишечного микробиоценоза, устраняют антибиотиковые дисбактериозы, стимулируют иммунитет, улучшают пищеварение и обмен веществ, повышают общую резистентность организма [7, 10].

Цель работы – определить биохимические и гематологические показатели у поросят при использовании комплексного препарата-синбиотика.

Материал и методика исследований. Для выполнения поставленной цели исследования проводили на свинокомплексе «Прогресс-Едки» Лидского района Гродненской области, научно-исследовательской лаборатории, кафедре микробиологии и эпизоотологии УО «Гродненский государственный аграрный университет».

Для проведения опыта было подобрано 2 группы поросят в возрасте 1-2 дня породы ландрас по 20 голов в каждой живой массой 1,1-1,3 кг – контрольная и опытная. Подопытные животные всех групп содержались в условиях технологии, принятой в хозяйстве. Поросята контрольной группы перорально один раз в день получали изотонический раствор натрия хлорида в дозе 4 мл/кг живой массы, поросятам опытной группы перорально с профилактической целью вводили комплексный препарат-синбиотик в дозе 4 мл/кг живой массы с 1 по 5 и с 14 по 18 дни жизни. Предварительно 1 г препарата (титр препарата не менее 10^{12} КОЕ/г) разводили в 1 л воды и получали титр 10^{8-9} КОЕ/мл. Хозяйство благополучно по инфекционным заболеваниям свиней.

В 1 и 18 дни опыта у животных опытной и контрольной групп брали пробы крови для исследований. Для проведения гематологических исследований кровь стабилизировали трилоном Б.

В крови определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина и гематокритную величину с помощью гематологического анализатора MEDONIC CA – 620 (Швеция).

Сыворотку крови получали выдерживанием крови в течение двух часов при комнатной температуре с последующим отделением свернувшейся крови от стенки пробирки стеклянной палочкой и центрифугированием в течение 10 мин при 3000 мин⁻¹.

Биохимические показатели сыворотки крови поросят определяли на автоматическом биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer 20010D.

Все результаты исследований в работе приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого

вариационного ряда, стандартные ошибки степеней, степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стьюдента - Фишера.

Результаты исследований и их обсуждение. В начале опыта существенных различий в биохимических показателях крови между опытной и контрольной группами не наблюдалось (таблица 1).

Содержание общего белка в первый день исследований было в пределах 60,85-61,50 г/л, альбуминов 30,60-32,22 г/л, глобулинов 29,28-30,25 г/л, общего билирубина – 2,33-2,40 мкмоль/л, мочевины 3,27-3,45 ммоль/л.

В результате применения синбиотика к концу исследований (18 день) отмечено увеличение показателей общего белка и альбуминов у животных опытной группы в сравнении с контрольной. Так, содержание общего белка увеличилось на 5,4% и составило 64,55 г/л, а альбуминов – на 4,5% и составило 31,60 г/л. В контрольной группе количество альбуминов к концу исследований, по сравнению с началом опыта, уменьшилось на 6,1% с одновременным увеличением количества глобулинов на 5,9%. В опытной группе также концентрация глобулинов увеличилась на 8,9% в сравнении с началом опыта.

Увеличение общего белка чаще происходит за счет глобулинов при одновременном снижении альбуминов. Поэтому в период интенсивного роста свиней уменьшение альбуминов на фоне увеличения глобулинов является нормой, так как эти две фракции белка в некоторой степени компенсируют друг друга.

Об интенсивности белкового метаболизма у подопытных животных можно судить по содержанию мочевины. Содержание мочевины в сыворотке крови в норме составляет 2,9-8,8 ммоль/л. Следовательно, снижение концентрации мочевины в отдельные возрастные периоды, и особенно в зависимости от кормового фактора, характеризует, по всей вероятности, усиление интенсивности белкового обмена. В опытной группе произошло снижение мочевины (в пределах физиологической нормы) в сыворотке крови в сравнении с началом исследований и составило 2,70 ммоль/л (в начале испытаний – 3,45 ммоль/л).

Общий белок и белковые фракции, а также мочевина отражают полноценность протеинового питания животных. Следовательно, изучение картины крови свидетельствует о состоянии здоровья животных, с одной стороны, и выявлении взаимосвязи с их продуктивностью – с другой.

К концу исследований у животных опытной группы в сравнении с контрольной отмечено снижение общего билирубина с 2,40 до 2,10 мкмоль/л, или на 12,5%. В результате применения синбиотика со-

держание общего холестерина снизилось на 22,8% ($P<0,01$) по сравнению с контролем. Холестерин обнаруживается во всех тканях и жидкостях организма, а также является важным структурным компонентом биологических мембран. Установлено, что до 90% холестерина от общего его содержания в организме содержится в тканях и 10% – в тканевых жидкостях. Следовательно, уровень холестерина в крови может и не отражать его содержания в организме несмотря на то, что весь холестерин тканей организма обладает способностью обмениваться с холестерином плазмы.

Ферменты АсАТ и АлАТ в наибольшем количестве содержатся в печени, миокарде, скелетных мышцах, поэтому определение активности данных ферментов в сыворотке крови имеет важное диагностическое значение при поражении данных органов.

Результаты исследований показали в контрольной группе незначительное повышение активности аминотрансфераз по сравнению с началом опыта. В опытной группе в конце исследований отмечено снижение в пределах физиологической нормы активности аспартатаминотрансферазы на 13,4% ($P<0,05$) и незначительное снижение аланинаминотрансферазы, что свидетельствует о нормальном функциональном состоянии печени (таблица 1).

Таблица 1 – Биохимические показатели крови у свиней

Группы	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Глобулины, г/л	Глюкоза, ммоль/л	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л	Общий били- рубин, мкмоль/л	Общий холе- стерин, ммоль/л	Мочевина, ммоль/л
1 день исследований									
Кон- трольная	61,50 ±1,17	32,22 ±1,55	29,28 ±1,36	4,45 ±0,45	38,13 ±2,22	25,69 ±1,72	2,33 ±0,19	1,35 ±0,10	3,27 ±1,23
Опытная	60,85 ±1,60	30,60 ±1,43	30,25 ±1,55	4,19 ±0,33	39,05 ±2,16	24,17 ±1,68	2,40 ±0,24	1,40 ±0,11	3,45 ±1,42
18 день исследований									
Кон- трольная	61,25 ±1,74	30,25 ±1,64	31,00 ±1,17	3,90 ±0,62	38,75 ±2,34	26,90 ±2,62	2,19 ±0,22	1,23 ±0,14	3,16 ±0,89
Опытная	64,55 ±1,12	31,60 ±1,25	32,95 ±1,24	4,92 ±0,28*	38,52 ±1,88	23,30 ±2,35*	2,10 ±0,27	0,95 ±0,09**	2,70 ±0,92
* - $P<0,05$; ** - $P<0,01$									

Известно, что минеральные вещества входят в состав всех органов и тканей организма и играют важную роль в процессах обмена. При недостатке минеральных веществ нарушается нормальное течение физиологических процессов, что ведет к задержке роста и развития молодняка, снижению продуктивности, возникновению различного рода заболеваний, нередко заканчивающихся гибелью животных.

В первый день исследований (таблица 2) содержание кальция, неорганического фосфора, магния у поросят было в пределах физиологической нормы и существенных различий между ними не наблюдалось. Концентрация железа у животных как контрольной, так и опытной групп была в пределах нижней границы физиологической нормы.

Основное значение минеральных веществ заключается в регуляции ряда физико-химических процессов, активности ферментов, кислотно-щелочного равновесия, проницаемости мембран, поддержании на определенном уровне осмотического давления крови, лимфы и др.

Таблица 2 – Показатели минерального обмена у свиней

Группы	Кальций, ммоль/л	Неорганический фосфор, ммоль/л	Магний, ммоль/л	Железо, мкмоль/л
1 день исследований				
Контрольная	2,50±0,17	1,67±0,12	0,90±0,15	26,70±1,23
Опытная	2,65±0,15	1,60±0,08	0,86±0,14	27,35±1,42
18 день исследований				
Контрольная	2,45±0,18	1,72±0,16	0,92±0,06	26,50±1,17
Опытная	2,74±0,21*	1,83±0,13	0,98±0,05	28,88±1,18*
* - P<0,05; ** - P<0,01				

К 18 дню исследований у животных опытной группы содержание кальция, неорганического фосфора, железа было выше, чем у животных контрольной группы, на 11,8%, 6,4%, 6,5% соответственно. К концу опыта отмечено достоверное увеличение железа у животных опытной группы на 9,0%.

Отмечено положительное влияние комплексного препарата-синбиотика на гематологические показатели. Следует отметить, что в начале опыта количество эритроцитов, гемоглобина и гематокрит у всех животных находились в пределах физиологической нормы и существенных различий между контрольной и опытной группами не наблюдалось (таблица 3). Содержание тромбоцитов у животных всех групп было несколько выше физиологической нормы (на 1,8-4,8%). В начале опыта содержание лейкоцитов у животных всех групп было в пределах $12,5-13,2 \cdot 10^9/\text{л}$, что соответствовало физиологической норме (рисунок 1).

К 18 дню исследований у животных контрольной группы отмечено увеличение гематологических показателей. Количество тромбоцитов превышало физиологическую норму на 18,7% (таблица 3). Уровень гематокрита в контрольной группе к концу исследований увеличился на 8,0% по сравнению с началом опыта. Также отмечено увеличение количества лейкоцитов с $12,5$ до $13,8 \cdot 10^9/\text{л}$, или на 10,4% в сравнении с началом опыта (рисунок 1). В контрольной группе отмечено также не-

значительное увеличение гемоглобина к 18 дню исследований по сравнению с началом опыта.

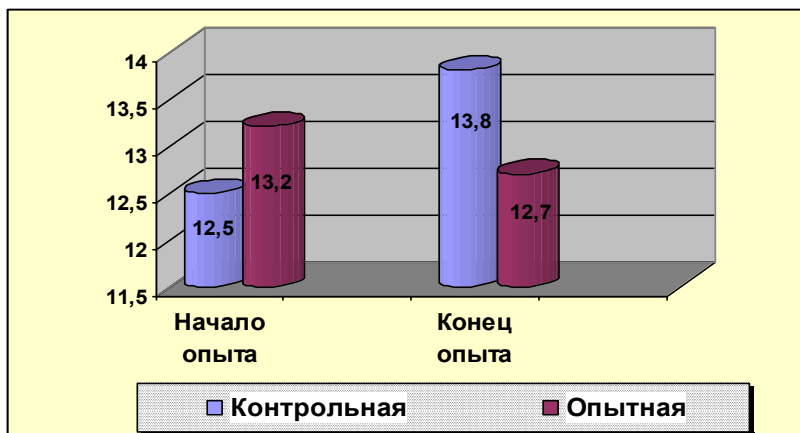


Рисунок 1 – Содержание лейкоцитов в крови поросят

Увеличение количества лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрита свидетельствует о развитии воспалительного процесса в организме животных контрольной группы и появлении поросят с признаками энтерита. У животных опытной группы в результате применения синбиотика гематологические показатели были в пределах физиологической нормы. Так, количество эритроцитов увеличилось на 17,9% в сравнении с началом опыта. Отмечено снижение, в сравнении с контролем, концентрации тромбоцитов и гематокрита на 14,1% и 3,7% соответственно (таблица 3).

Таблица 3 – Гематологические показатели поросят на фоне применения комплексного препарата-синбиотика

Группы	Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
1 день исследований				
Контрольная	$6,66 \pm 0,19$	$305,50 \pm 22,0$	$122,55 \pm 1,14$	$36,30 \pm 0,34$
Опытная	$6,12 \pm 0,15$	$314,4 \pm 18,5$	$120,60 \pm 1,30$	$37,16 \pm 0,44$
18 день исследований				
Контрольная	$6,90 \pm 0,29$	$335,6 \pm 24,6$	$124,50 \pm 2,10$	$39,20 \pm 0,65$
Опытная	$7,22 \pm 0,11$	$288,4 \pm 22,7^*$	$125,46 \pm 1,90$	$37,75 \pm 0,72$

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$

Количество лейкоцитов у животных опытной группы к 18 дню исследований уменьшилось (в пределах физиологической нормы) на 8,0% и составило $12,7 \cdot 10^9/\text{л}$ в сравнении с контролем (рисунок 1).

Заключение. Применение комплексного препарата-синбиотика в дозе 4 мл/кг живой массы один раз в день с 1 по 5 и с 14 по 18 дни жизни способствует улучшению морфологических показателей крови за счет активизации эритропоэза, а также усилению интенсивности белкового обмена и защитных сил организма за счет увеличения общего белка на 5,4%, глобулинов на 8,9% и, как следствие, повышает сохранность животных и их продуктивность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексин, М.М. Сравнительная профилактическая эффективность энтеробифидина и лактобактерина при диспепсии у новорожденных телят: автореф. дис. ...канд. вет. наук: 16.00.01 / М.М. Алексин // Витебская гос. акад. вет. медицины. - Витебск, 1996. - 19 с.
2. Андросик, Н.Н. Основные направления по разработке эффективных технологий производства ветпрепаратов / Н.Н. Андросик // Сб. науч. тр. – Минск, 2001. – Вып. 35: Ветеринарная наука – производству. – С. 3-12.
3. Андросик, Н.Н. Профилактика желудочно-кишечных заболеваний поросят с помощью пробиотика субцилина / Н.Н. Андросик, Л.Д. Андросик, Т.В. Безнос // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины: материалы Междунар. науч.-практ. конф. - Витебск, 1999. – Том. 35. – С. 24-27.
4. Бактериоценоз пищеварительного тракта телят / М.А. Тимошко [и др.] // Свиноводство. - 1987. - № 4. - С. 37-38.
5. Баталова, Т.А. Коррекция нормофлоры кишечника человека / Т.А. Баталова, Д.Н. Лазарева, Л.М. Голубева // Материалы науч.-практ. конф. -Уфа, 1993. - С. 14-17.
6. Безух, В.М. Якість молока корів і його вплив на неспецифічну резистентність та стан здоров'я телят: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01 / В.М. Безух; Інститут ветеринарної медицини УААН. - Біла Церква, 1998.- 17 с.
7. Бельмер, С.В. Антибиотик - ассоциированный дисбактериоз кишечника / С.В. Бельмер // Русский медицинский журнал. – 2004. – Т. 12. - № 3. – С. 22-28.
8. Карпуть, И.М. Иммунная реактивность свиней. / И.М. Карпуть. - Мн.: Ураджай, 1981. –С. 5-11.
9. Малик, Е. Пробиотики в профилактике желудочно-кишечных болезней свиней / Е. Малик // Гл. зоотехник. - 2007. - № 11. – С. 49-51.
10. Мехова, О.С. Влияние пробиотика "Клостат[™] сухой" на микробиоценоз кишечника поросят-сосунков / О.С. Мехова // Зоотехническая наука Беларуси: сборник научных трудов / Республиканское унитарное предприятие "Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству". - Минск, 2011. - Т. 46. - Ч. 2. - С. 308-314.

МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ТЕЛЯТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТА «БИЛАВЕТ»

О.В. Копоть, А.Н. Михалюк, А.П. Свиридова, С.Л. Поплавская

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. *Исследования по влиянию препарата «Билавет» на эффективность выращивания телят проводили на новорожденных животных. В результате проведенных исследований было установлено, что применение «Билавета» улучшает адаптивные реакции в онтогенезе, оказывает положительное влияние на показатели мясной продуктивности – живую массу и среднесуточный прирост живой массы, технологические показатели туш, а также к сокращению заболеваемости и продолжительности течения болезни телят.*

Summary. *Studies on the effect of the drug on the effectiveness Bilavet growing calves were performed on newborn animals. It is established that the use of Bilaveta improves adaptive responses in ontogeny, has a positive effect on the productivity of meat - live weight and average daily gain in body weight, technological characteristics of carcasses, as well as reduce of the incidence and duration of the disease of calves.*

Введение. Успешное развитие скотоводства во многом зависит от направленного выращивания молодняка, сочетающего высокую продуктивность с устойчивостью организма к заболеваниям. Это важно потому, что только от клинически здорового животного можно получить наибольшее количество продукции высокого качества.

Основной причиной высокой заболеваемости новорожденных телят является слабая устойчивость животных, выращиваемых в условиях промышленных комплексов. Желудочно-кишечные болезни обусловлены, в первую очередь, нарушениями обмена веществ и иммунологической резистентности. При этом на организм инфицированного или заболевшего теленка оказывает влияние как сам возбудитель, так и продукты обмена пораженных клеток, воздействующих на основные звенья иммунитета и обмена веществ организма. Для активизации обменных процессов в организме, повышения продуктивности, а также восстановления оптимальной физиологической функции желудочно-кишечного тракта животных важным является восстановление кишечного биоценоза путем введения в организм живых бактерий – представителей нормальной кишечной микрофлоры. Препараты, в состав которых они входят, известны под названием пробиотиков – препараты

из бактерий-сапрофитов, нормальной микрофлоры кишечника человека и животных. Они не губят нормальную микрофлору, а вытесняют болезнетворные микроорганизмы (сальмонеллу, шигеллу, стафилококк, стрептококк и др.) [1, 4, 5].

Целью настоящих исследований явилась разработка способа применения препарата «Билавет» телятам для увеличения показателей мясной продуктивности.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в СПК «Гродненский» Гродненского района, а также на кафедре микробиологии и эпизоотологии УО «ГГАУ».

«Билавет» – пробиотический препарат, полученный путем культивирования штаммов бифидобактерий *Bifidobacterium adolescentis* БИМ В-375 или *B. adolescentis* БИМ В-456 и лактобактерий *Lactobacillus plantarum* БИМ В-492, депонированных в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов и содержащий живые активные клетки бифидо- и молочнокислых бактерий. Количество жизнеспособных клеток в препарате – не менее 1×10^8 в 1 см³. Представляет собой жидкость от светло-желтого до светло-коричневого цвета.

Входящие в состав препарата штаммы бактерий являются непатогенными и нетоксигенными. Бифидобактерии, входящие в состав пробиотика, активно участвуют в метаболизме углеводов, белков, липидов в организме животных. Молочнокислые бактерии, как облигатные представители желудочно-кишечного тракта, принимают активное участие в ферментации углеводов и спиртов. Антагонистическая активность молочнокислых бактерий в отношении гнилостной, патогенной и условно-патогенной микрофлоры обусловлена их способностью синтезировать многочисленные антибиотические вещества.

«Билавет» предназначен для активизации окислительно-восстановительных и обменных процессов в организме, стимуляции роста и развития животных, повышения продуктивности и их иммунобиологического статуса, а также профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных. Лечебно-профилактический эффект пробиотика «Билавет» обусловлен:

- антагонистическим действием бифидо- и лактобактерий по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам в желудочно-кишечном тракте;
- отсутствием антагонистического действия бифидо- и лактобактерий на других представителей нормальной микрофлоры;
- формированием нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта;

- способностью бактерий к синтезу витаминов, аминокислот, органических кислот, антибиотических веществ;
- регуляцией иммунных функций макроорганизма и повышением иммунной реактивности и естественной резистентности [2, 3].

Для эксперимента новорожденных телят разделили на 2 группы по 10 голов. Подопытные телята содержались в одинаковых зоогигиенических условиях, подвергались плановым зооветеринарным обработкам. Научно-производственные опыты проводили в период с февраля по апрель 2012 года согласно представленной схемы (табл. 1).

Таблица 1 – Схема опыта

Группа телят	Количество животных в группе, гол.	Схема использования
Контрольная	10	Основной рацион
Опытная	10	ОР + Билавет

Препарат «Билавет» применяли с 1 по 6 и с 14 по 19 дни жизни перорально за 20-30 минут до кормления один раз в день с молоком по 1 мл/кг живой массы согласно «Временной инструкции по применению пробиотического препарата «Билавет» для стимуляции роста и развития, профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных и птицы» (УО «ГГАУ» и ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси»). Экспериментальная часть исследований выполнена в условиях научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный аграрный университет» при отделе диагностики болезней животных, регистрационный номер ВУ/112 02.1.0.0316 от 31 июля 2003 г., а также на кафедре технологии хранения и переработки животного сырья УО «Гродненский государственный аграрный университет».

Критерием мясной продуктивности подопытных телят считали живую массу и среднесуточные приросты живой массы в определенные возрастные периоды.

Результаты исследований и их обсуждение. Динамика роста и развития телят при использовании «Билавета» представлена в таблице 2.

В процессе проведения исследований отмечено, что при рождении (во время постановки животных на опыт) телята контрольной и опытной групп имели примерно равную живую массу. Уже в течение 1-го месяца выявлены различия продуктивности телят между группами. Так, животные опытной группы, получившие Билавет, имели несколько большую живую массу, чем телята в контроле. За первый месяц телята опытной группы увеличили живую массу на 6,1% по сравнению с животными контрольной группы, а среднесуточный прирост возрос на 16,8%.

Таблица 2 – Динамика роста и развития телят при использовании «Билавета»

Показатели	Группа телят		± к контрольным
	Контрольная	Опытная	
Живая масса при рождении, кг	28,8±0,40	28,9±0,50	0,3
Живая масса в 1-мес.возрасте, кг	44,3±0,5	47,0±0,8*	6,1
Среднесуточный прирост живой массы за 1 мес., г	516,7±20,4	603,3±22,0*	16,8
Живая масса в 2-мес.возрасте, кг	63,0±0,7	68,5±0,6*	8,7
Среднесуточный прирост живой массы за 2 мес., г	570,0±22,5	660,0±18,0*	15,8
Живая масса в 3-мес.возрасте, кг	81,0±1,5	91,0±1,7*	12,3
Среднесуточный прирост живой массы за 3 мес., г	580,0±20,5	690,0±35,0*	19,0
Абсолютный прирост живой массы за 3 мес., кг	52,2±0,8	62,1±1,2*	18,9

* - разница статистически достоверна ($P < 0,05$)

За второй и третий месяцы у животных опытной группы живая масса увеличилась по сравнению с контролем на 8,7% и 12,3% соответственно, а среднесуточные приросты живой массы соответственно на 15,8% и 19,0%. За 3 месяца выращивания отмечено возрастание абсолютного прироста на 18,9%.

Данные показатели свидетельствуют о высокой эффективности действия препарата.

Во время проведения исследований фиксировали заболеваемость подопытных телят расстройствами органов пищеварения и длительность переболевания. Оказалось, что изучаемые добавки способствуют укреплению здоровья молодняка. Из поголовья телят второй опытной группы заболело только 20% животных, а в контроле – 50%. Продолжительность болезни этого молодняка сократилась на 3,5 дней по сравнению со сверстниками первой контрольной группы. Таким образом, среди телят опытной группы отмечено уменьшение количества животных с расстройствами органов пищеварения и минимальная продолжительность болезни.

На заключительном этапе провели анализ мясной продуктивности телят на фоне введения препарата. Для изучения влияния на развитие внутренних органов и тканей телят был проведен контрольный убой.

Применение препарата оказало положительное влияние на технологические показатели туш бычков. У животных, использовавших препарат, достоверно увеличилась масса парной туши на 6,0%, убойная масса – на 6,86%, выход мякоти – на 2,9%, масса мякоти – на 9,7%, отмечено более низкое содержание массы костей в туше – на 10,8% по сравнению с указанными характеристиками животных контрольной группы.

Введение препарата активизировало жизнедеятельность симбионтной рубцовой микрофлоры, усилило гидролиз компонентов корма и усвояемость азота в организме животных. Такое суждение нашло подтверждение в достоверно большем содержании (на 3,18%) протеина в длиннейшей мышце спины. Отмечена тенденция к повышенному содержанию в мышце сухого вещества на 1,87%, золы – на 10,5% и влагосвязывающей способности мяса – на 4,18%.

Органолептические и лабораторные исследования туш показали, что животные к моменту убоя были физиологически здоровы. Органы и ткани отвечали требованиям ветеринарно-санитарной экспертизы, а их состояние указывало на отсутствие алиментарных заболеваний. Исследования также показали, что качество туш контрольной и опытной групп практически не отличалось.

Для определения кулинарных качеств мяса проведена дегустационная (балльная) оценка с участием дегустаторов. Результаты дегустационной оценки показали, что мясо и бульон, полученные от бычков опытной группы, практически не отличались от таковых у контрольных животных. Это указывает на то, что препарат не оказывает отрицательного влияния на органолептические параметры говядины.

Заключение. Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что использование телятам препарата «Билавет» позволяет интенсифицировать их рост и развитие, улучшить показатели мясной продуктивности, функционально-технологические и биохимические характеристики мяса, не оказывает отрицательного воздействия на органолептические свойства мяса. Введение телятам «Билавета» способствовало сокращению количества заболевших телят на 30%, а также сокращению продолжительности болезни на 3,5 суток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганина, В. И., Большакова, Е. В. Действие пробиотических продуктов на возбудителей кишечных инфекций // Молочная промышленность. – №11. – 2001. – С. 47-48.
2. Заводник, Л.Б., Каврус, М.А., Кипцевич, Л.С. Возможности нового препарата «Yeasugre» при выращивании телят. // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы. - Гродно, 2005. – Т.4. – Ч.2. – С.64-67.
3. Каврус, М.А., Кипцевич, Л.С., Миклаш, Е.А., Михалюк, А.Н. Использование пробиотиков для профилактики заболеваний телят с синдромом диареи // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы. - Гродно, 2004. – Т.3. – Ч.3. – С.4-6.
4. Каврус М.А., Михалюк А.Н. Влияние антибиотикорезистентных штаммов синбиотических бактериальных культур на естественную резистентность и иммунобиологическую реактивность лабораторных животных. //Современные технологии сельскохозяйственного производства. – Гродно, 2012. – С.237-239.
5. Копоть О.В., Михалюк А.Н., Фомкина И.Н., Закревская Т.В. Влияние препарата Билавет на мясную продуктивность телят-гипотрофиков. //Современные технологии сельскохозяйственного производства. – Гродно, 2012. – С.239-241.

6. Копоть О.В., Свиридова А.П., Поплавская С.Л. Естественная резистентность телят-гипотрофиков при использовании биологически активных веществ. //Современные технологии сельскохозяйственного производства. – Гродно, 2011. – С.197-199.
7. Копоть О.В., Свиридова А.П., Поплавская С.Л., Фомкина И.Н. Применение биологически активных веществ для повышения иммунобиологической реактивности телят-гипотрофиков. //Современные технологии сельскохозяйственного производства. – Гродно, 2011. – С.199-201.
8. Михалюк, А.Н. Влияние пробиотиков на обмен веществ и естественную резистентность поросят // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2003. - №3. – С.19-21.
9. Михалюк А.Н., Каврус М.А. Экономическая эффективность использования пробиотического препарата «Билавет С» в хозяйствах Гродненского района. //Современные технологии сельскохозяйственного производства. – Гродно, 2011. – С.225-227.
10. Субботин, В.В. Основные элементы профилактики желудочно-кишечной патологии новорожденных животных // Ветеринария: стилистический научно-практический журнал. – М., 2004. - №1. – С.3-6.

УДК 619:57.082.26:615.28

ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ КЛЕТОК MDBK ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ БИОЭЛЕМЕНТОВ

П.А. Красочко¹, Д.С. Борисовец¹, А.Э. Станкуть¹, М.С. Струк¹,
В.Л. Радько²

¹ – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

² – УО «Международный государственный экологический университет
имени А.Д. Сахарова»,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Изучены культуральные свойства перевиваемых линий клеток почки эмбриона крупного рогатого скота (MDBK) при взаимодействии с наночастицами цинка и серебра. Установлено, что нанопрепараты оказывают негативное влияние на пролиферацию клеток и их жизнеспособность. При увеличении концентрации препарата наночастиц цинка отмечалось достоверное снижение индекса пролиферации клеток на 19,79-26,94%, коэффициента жизнеспособности – на 7,72-13,29%; при повышении концентрации препарата наночастиц серебра данные показатели снижались в 1,09-4,76 раза и на 9,25-54,48% соответственно; выявлено увеличение уровня ЛДГ в культуральной питательной среде.

Summary. The cultural properties of MDBK cell line by interaction with zinc and silver nanoparticles were studied. The negative effect of nanopreparations on a cell proliferation and viability was established. The significant decrease of cell proliferation index by 19.79-26.94% and cell viability ratio by 7.72-13.29% with in-

creasing of concentration of zinc nanoparticles was indicated; decrease of this indexes in 1.09-4.76 times and by 9.25-54.48% respectively with increasing of concentration of silver nanoparticles and the increase of LDH levels in the culture medium were established.

Введение. В развитии современных нанотехнологий значительную роль играют исследования наночастиц металлов. Это обусловлено, прежде всего, широким спектром возможностей их практического применения, в которых используются специфические свойства как самих наночастиц, так и модифицированных ими материалов [1, 2].

Наноматериалы и наночастицы, являющиеся продуктом современных нанотехнологий, обладают комплексом уникальных свойств, которые открывают широкие перспективы их промышленного применения [3, 4]. Одновременно это создаёт риск возможных неблагоприятных воздействий наноматериалов на организм человека, сельскохозяйственных животных и растения, компоненты природных биоценозов [5, 6].

С одной стороны, преимущество использования наночастиц очевидно. С другой стороны, на настоящий момент проблема обнаружения наночастиц не изучена, и возможность влияния их на живой организм остается открытой. Данные, полученные в различных исследованиях о влиянии наночастиц на организмы, достаточно противоречивы, но забывать об актуальности данной проблемы не стоит [5, 7].

Вопросы токсического действия наночастиц на живой организм требуют проведения научных исследований, особенно на уровне клеточных систем, в процессе их роста и размножения.

Культурально-морфологические свойства клеточных культур представляют собой совокупность важнейших характеристик, которые позволяют судить о физиологическом состоянии клеточной линии под воздействием различных фармакологических препаратов. Основными культуральными показателями являются пролиферативная активность, определяющая в конечном итоге степень развития клеточного моноклона, число жизнеспособных клеток в пассаже, уровень активности лактатдегидрогеназы. В случае тестирования препаратов данные показатели, наряду с результатами цитоморфологических и других исследований, позволяют судить о степени цитотоксичности веществ.

Цель работы – изучить культуральные свойства перевиваемых линий клеток почки эмбриона крупного рогатого скота (MDBK) при взаимодействии с наночастицами цинка и серебра.

Материалы и методика исследований. Влияние препарата на культурально-морфологические свойства клеточных линий определяли с учетом показателей жизнеспособности клеток (КЖ) и индекса про-

лиферации культуры (ИП). Подсчет и морфологию клеток в культуре контролировали при помощи инвертированного светового микроскопа OLYMPUS OM-4 при увеличении объективов 10, 20, 40.

Концентрацию клеток в клеточной суспензии, а также количество жизнеспособных клеток определяли при помощи камеры Горяева с применением 0,5%-го раствора трипановой сини, рассчитывая на 1 мл среды. За жизнеспособные принимались неокрашенные клетки с хорошо выраженным ядром и неокрашенной цитоплазмой. Индекс пролиферации определяли через соотношение числа выросших клеток к числу засеянных.

Все расчеты производили по общепринятым методикам, оценивая культуральные показатели клеточных линий (Дьяконов Л.П., Ситьков В.И., 2000).

В работе была исследована динамика данных показателей при различных режимах воздействия препаратов на основе наночастиц серебра и цинка, кратко изложенных в таблице 1.

Таблица 1 – Режимы воздействия наночастиц цинка и серебра при исследовании культурально-морфологических показателей перевиваемой линии клеток MDBK

Режим воздействия	Время экспозиции, ч.		
Внесение препарата непосредственно в клеточную суспензию	24	48	72
Внесение препарата на растущую клетку – 1-суточный монослой	24	48	72
Внесение препарата на сформировавшийся 2-3-суточный монослой	24	48	72

Концентрацию ЛДГ определяли в среде инкубации. Для изучения уровня указанного фермента препарат вносили в трех последовательных минимальных разведениях, при которых не наблюдалось изменений клеток в монослое дегенеративного характера. Препарат вносили в 3-х режимах воздействия, указанных в таблице 1. Наличие заметной активности фермента в среде инкубации свидетельствует об «утечке» его из клеток в результате существенного повреждения плазматической мембраны и является широко используемым показателем цитотоксического эффекта и клеточного некроза.

Активность ЛДГ в среде инкубации определяли с использованием автоматического биохимического анализатора DIALAB autolizer 20010D.

Результаты исследований и их обсуждение. Влияние препарата на культурально-морфологические свойства клеточных линий определяли с учетом показателей жизнеспособности клеток (КЖ) и индекса пролиферации культуры (ИП) (таблица 2, 3).

Таблица 2 – Изменения культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препарата на основе наночастиц серебра в суспензию клеток

Разведение препарата	Время экспозиции, ч.					
	24		48		72	
	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %
1:20	0,65± 0,08***	42,5± 0,95***	0,71± 0,08***	37,75± 3,9***	1,10± 0,28***	39,25± 1,25***
1:40	0,81± 0,21	74,0± 2,35***	1,4± 0,07***	68,25± 0,85***	2,85± 0,27**	62,0± 1,29***
1:80	1,15± 0,03*	84,25± 2,5*	2,06± 0,22**	77,0± 1,29***	3,72± 0,13**	75,5± 1,04***
Контроль	1,32± 0,05	93,0± 2,16	3,38± 0,08	95,25± 1,31	5,12± 0,33	95,75± 1,25

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$.

Из таблицы 2 видно, что наночастицы серебра оказывают существенное влияние на рост и размножение популяции клеток, способствуя их угнетению, т.к. в разведениях 1:20-1:80 показатели индекса пролиферации и коэффициент жизнеспособности были достоверно ниже контроля. При этом прослеживалось снижение индекса пролиферации в 1,15 – 4,76 раза относительно контроля, коэффициент жизнедеятельности снижался относительно контроля на 21,14 – 43,50%.

Применение препарата наночастиц серебра в концентрации 1:80 оказало наименьшее негативное воздействие на клеточный рост за все время экспозиции.

Таблица 3 – Изменения культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препарата оксида цинка в суспензию клеток

Разведение препарата	Время экспозиции, ч.					
	24		48		72	
	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %
1:320	0,59± 0,12 ***	24,5± 1,04***	-	отсутствие роста	-	дегенерация монослоя
1:640	1,37±0,07*	85,5± 1,44***	2,18± 0,08**	77,25± 22,9***	2,34± 0,09***	73,25± 0,48***
1:1280	1,47±0,08	90,5± 2,02*	3,02±0,25	93,75± 1,84	3,85± 0,25**	85,0± 0,41***
Контроль	1,69±0,08	97±0,82	3,46±0,24	96,0±0,41	5,27±0,1	95,75±0,85

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$.

Из таблицы 3 видно, что наночастицы оксида цинка оказывают существенное влияние на рост и размножение популяции клеток, способствуя их угнетению, т.к. в разведениях 1:320-1:1280 показатели индекса пролиферации и коэффициент жизнеспособности были досто-

верно ниже контроля. При этом прослеживалось снижение ИП на 26,94% и КЖ на 11,2%.

Применение препарата наночастиц оксида цинка в концентрации 1:1280 оказало наименьшее негативное воздействие на клеточный рост за все время экспозиции.

Для изучения степени повреждения мембран клеток в суспензии использовали биохимический метод определения активности лактатдегидрогеназы (рисунок 1, 2).

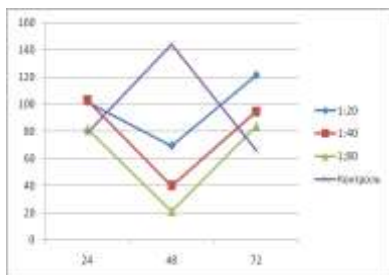


Рисунок 1 – Изменение уровня ЛДГ при внесении препарата на основе наночастиц серебра в суспензию клеток

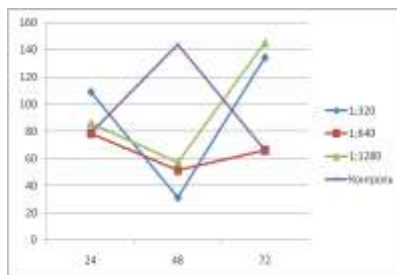


Рисунок 2 – Уровень ЛДГ при внесении препарата на основе наночастиц оксида цинка в суспензию клеток

Из рисунков 1, 2 видно, что при больших концентрациях наночастиц серебра и оксида цинка уровень активности ЛДГ выше, что свидетельствует о повреждающем воздействии высоких концентраций препаратов на мембраны клеток, находящихся в суспензии, в результате которого происходит выход фермента из клеток во внешнюю среду культивирования.

Для дальнейшего изучения культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препаратов на растущую клетку были выбраны разведения, которые оказывают минимальное цитотоксическое действие (таблица 4, 5).

Данные таблицы 4 свидетельствуют о существенной корреляции между концентрацией препарата, показателями коэффициента жизнеспособности и индексом пролиферации. Индекс пролиферации снижался в 1,24-2,74 раза относительно контроля, а коэффициент жизнедеятельности снизился относительно контроля на 6,39-54,48%.

Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии исследуемого препарата на рост и размножение клеток, однако оно

является менее выраженным, чем при внесении разведений препарата на основе наночастиц серебра на суспензию клеток.

Таблица 4 – Изменения культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препарата на основе наночастиц серебра на растущую клетку

Разведение препарата	Время экспозиции, ч.					
	24		48		72	
	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %
1:20	1,22±0,29*	77,75± 1,65***	1,73± 0,23***	47,0± 3,26***	2,54± 0,13****	44,5± 0,64***
1:40	1,68±0,11*	90,5± 0,96	3,32± 0,08***	87,25± 1,18***	4,24± 0,16***	88,75± 0,25***
1:80	1,7±0,12*	90±0,71	3,82± 0,11**	92,75± 1,31*	5,05± 0,25**	91,5± 0,96**
Контроль	2,12±0,1	92,25± 1,31	4,74± 0,13	97,25±0,75	6,51±0,08	97,75±0,75

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$.

Из таблицы 5 видно, что применение препарата на основе наночастиц оксида цинка оказывает отрицательное, но в то же время менее выраженное воздействие на рост и размножение клеток в популяции при внесении препарата на растущую клетку в сравнении с клеточной суспензией. В процессе опыта прослеживалось динамичное снижение ИП на 26,32% и КЖ на 13,29% с повышением концентрации нанопрепарата оксида цинка, а к 72 часам наблюдали дегенерацию монослоя (разведение – 1:320).

Таблица 5 – Изменения культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препарата на основе наночастиц оксида цинка на растущую клетку

Разведение препарата	Время экспозиции, ч.					
	24		48		72	
	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %
1:320	0,79± 0,04	43,7± 0,75***	0,83± 0,15***	35,0± 1,08***	-	дегенерация монослоя
1:640	1,53± 0,04***	86,7± 0,85***	1,84± 0,21***	83,25± 1,55***	3,91± 0,13***	78,25± 0,85***
1:1280	1,85± 0,07**	88,7± 1,55*	2,74± 0,11***	93,25± 0,95**	4,62± 0,18***	84,75± 0,63***
Контроль	2,28± 0,04	95,0±1,08	4,04±0,05	97,75±0,63	6,27± 0,1	97,75±0,63

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$.

Динамика уровня фермента ЛДГ при нарушении целостности мембраны после внесения нанопрепаратов на растущую клетку представлена на рисунках 3, 4.

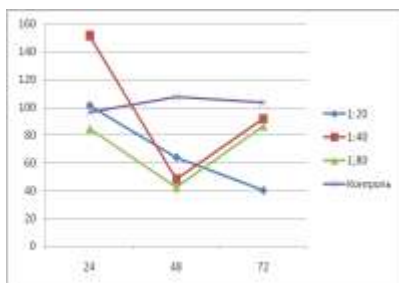


Рисунок 3 – Изменение уровня ЛДГ при внесении препарата на основе наночастиц серебра на растущую клетку

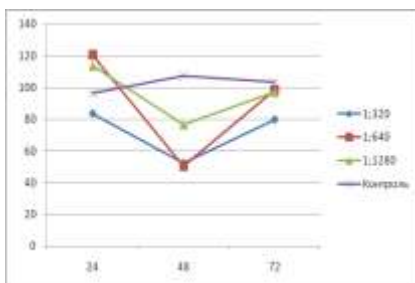


Рисунок 4 – Уровень ЛДГ при внесении препарата наночастиц оксида цинка на растущую клетку

Из рисунков 3, 4 видно, что наибольший уровень ЛДГ в культуральной питательной среде при воздействии нанопрепаратов на растущую клетку отмечается для наночастиц серебра – в разведении 1:20, оксида цинка – 1:320, что подтверждает данные о повреждающем их действии на клеточные мембраны.

Проведено изучение культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препарата на основе наночастиц серебра и оксида цинка на сформированный монослой клеток (таблица 6, 7).

Таблица 6 – Изменения культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препарата на основе наночастиц серебра на сформировавшийся монослой

Разведение препарата	Время экспозиции, ч.					
	24		48		72	
	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %
1:20	1,63± 0,03***	80,0± 0,41***	2,81± 0,07***	65,22± 1,18***	3,72± 0,19***	67,25± 0,25***
1:40	1,86± 0,03***	92,5± 0,29***	3,49± 0,17**	85,5± 0,65***	5,24± 0,14***	88,25± 0,75***
1:80	2,03± 0,29	92,0± 0,41***	3,91± 0,13*	90,5± 1,94**	6,17± 0,08**	87,0± 0,41***
Контроль	2,56± 0,09	97,75±0,63	4,57± 0,13	98,0± 0,41	6,73± 0,07	97,25±0,85

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$.

Данные таблицы 6 свидетельствуют о существенной корреляции между концентрацией препарата, индексом пролиферации и коэффициентом жизнеспособности, уровень которых снижался в 1,09-1,8 раза и на 9,25-30,85% относительно контроля соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии исследуемого препарата на рост и размножение клеток, однако оно является менее выраженным, чем при внесении разведений препарата на основе наночастиц серебра на растущую клетку.

Таблица 7 – Изменения культурально-морфологических показателей культуры клеток MDBK при внесении препарата на основе наночастиц оксида цинка на сформировавшийся монослой

Разведение препарата	Время экспозиции, ч.					
	24		48		72	
	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %	ИП	КЖ, %
1:320	0,99± 0,08***	84,2± 0,85***	1,55± 0,13***	76,0± 1,14***	2,28± 0,08***	72,0± 0,41***
1:640	1,56± 0,12*	93,2±0,25	2,82± 0,14***	90,0± 2,27*	4,97± 0,15***	88,0± 0,71***
1:1280	1,61± 0,15*	92,7±0,48	3,17± 0,05***	93,75± 1,55*	5,43± 0,09**	89,5± 0,87***
Контроль	2,14±0,12	95,0±1,08	4,75±0,06	98,25± 0,48	6,77±0,24	97,0±0,82

Примечание: * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$.

Из таблицы 7 видно, что при применении разведений препарата на основе наночастиц оксида цинка клетки сформировавшегося 100%-го монослоя более устойчивы к токсическому действию препарата и характеризуются менее выраженными дегенеративными изменениями в сравнении с растущей клеткой. Наблюдалось увеличение активности ЛДГ в питательной среде в процессе разрушения клеточной мембраны под действием наночастиц цинка. При этом прослеживалось снижение ИП на 19,79% и КЖ на 7,73%.

Результаты изучения степени повреждения сформировавшегося 2-3-суточного монослоя клеток MDBK под действием наночастиц биоэлементов представлены на рисунках 5, 6.

Таким образом, из рисунков 5 и 6 видно, что наиболее высокий уровень ЛДГ при воздействии на сформировавшийся монослой клеток отмечается при воздействии наночастиц серебра в разведении 1:20, оксида цинка – 1:320, которые существенно отличаются от показателя в контроле.

Важно отметить, что в сформировавшемся 2-3-суточном монослое уровень активности ЛДГ при концентрации наночастиц серебра 1:80, оксида цинка – 1:640-1:1280 близок к уровню активности ЛДГ в контроле, что свидетельствует о большей устойчивости клеток в постоянных культурах.

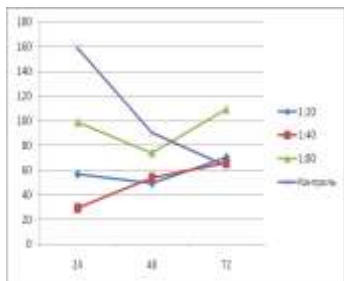


Рисунок 5 – Изменение уровня ЛДГ при внесении препарата на основе наночастиц серебра на сформировавшийся монослой клеток MDBK

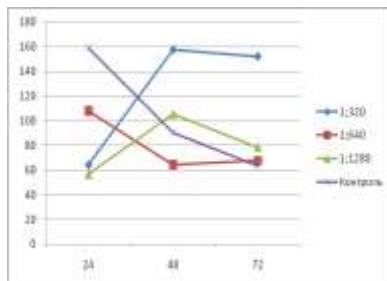


Рисунок 6 – Изменение уровня ЛДГ при внесении препарата на основе наночастиц оксида цинка на сформировавшийся монослой клеток MDBK

Заключение. Таким образом, исследования по изучению культурально-морфологических свойств культуры MDBK при экспозиции с препаратами наночастиц серебра и оксида цинка показали, что данные нанопрепараты оказывают негативное влияние на пролиферацию клеток и их жизнеспособность.

При увеличении концентрации препарата на основе наночастиц оксида цинка отмечается достоверное снижение индекса пролиферации на 19,79-26,94%, коэффициента жизнеспособности – на 7,72-13,29%; при повышении концентрации препарата на основе наночастиц серебра – ИП снижается в 1,09-4,76 раз, КЖ – на 9,25-54,48%. При воздействии нанопрепаратов в более высоких концентрациях уровень ЛДГ также был значительно выше, что свидетельствовало о повреждающем действии препаратов на перевиваемую линию клеток MDBK.

Кроме того, результаты проведенных исследований указывают на зависимость цитотоксического эффекта препаратов на основе наночастиц серебра и оксида цинка от возраста клетки и стадии роста, на которой находится клеточная популяция.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кобаяси, Н.И. Введение в нанотехнологию. – М.: Бином. Лаборатория знаний, – 2007. – 134 с.
2. Глушкова, А.В., Радилов, А.С., Рембовский, В.Р. Нанотехнологии и нанотоксикология – взгляд на проблему // «Методологические проблемы изучения и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей среды». Материалы пленума Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздравсоцразвития Российской Федерации под редакцией академика РАМН Ю.А. Рахманина, – Москва, 2007. – С. 20-27.
3. Генералов, М.Б. Криохимическая нанотехнология: Учеб. пособие для вузов. –М.: ИКЦ “Академкнига”, 2006. – 325 с.

4. Zhua, S., Oberdörster, E., Haascha, M.L. Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C60) in two aquatic species, *Daphnia* and fathead minnow // *Marine Environmental Research*. – 2006. – Vol. 62. – PP. 5-9.
5. Adili, A., Crowe S., Gustin K.E. Differential cytotoxicity exhibited by silica nanowires and nanoparticles // *Nanotoxicology*. – 2008. – Vol. 2, Iss. 1 – PP. 1-8.
6. Chang, J.Sh., Hwang, D.-F., Kong, Z.-L. In Vitro Cytotoxicity of Silica Nanoparticles at High Concentrations Strongly Depends on the Metabolic Activity Type of the Cell Line // *Environmental Science of Technologies*. – 2007. – Vol. 41, Iss. 6. – PP. 2064–2068.
7. Geys, J., Nemmar, A., Verbeke, E. Acute toxicity and prothrombotic effects of quantum dots: impact of surface charge // *Environmental Health Perspectives* – 2008. – Vol. 116, No. 12. – PP. 1607-1613.

УДК 619:615.9:615.28

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА И СЕРЕБРА В СИСТЕМЕ IN VITRO

П.А. Красочко¹, Д.С. Борисовец¹, А.Э. Станкуть¹, М.С. Струк¹,
В.Л. Радько²

¹ – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
им. С.Н. Вышелесского»,

г. Минск, Республика Беларусь

² – УО «Международный государственный экологический университет
имени А.Д. Сахарова»,

г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Проведено изучение цитоморфологических характеристик культуры клеток MDBK под действием наноразмерных частиц серебра и оксида цинка. Установлена более высокая цитотоксичность наночастиц цинка в сравнении с нанопрепаратом на основе серебра, который оказывает цитотоксический эффект в разведении 1:5-1:320 в сравнении с наночастицами серебра, вызывающими дегенерацию монослоя клеток в разведениях 1:5 и 1:10. Препараты на основе наночастиц серебра и цинка оказывали цитотоксическое действие, которое проявлялось в округлении клеток, расширении межклеточных контактов и нарушении развития клеточного монослоя.

Summary. The study of cytomorphological characteristics of MDBK cell culture under the influence of nano-sized particles of silver and zinc oxidize is carried out. The higher cytotoxicity of zinc nanoparticles as compared to silver nanopreparation, which has a cytotoxic effect at dilutions of 1:5-1:320 versus silver nanoparticles causing degeneration of the cell monolayer at dilutions of 1:5 and 1:10 was established. Preparations based on silver and zinc nanoparticles had the cytotoxic effect, which manifested itself in the rounding of cells, expansion of intercellular contacts and infringement of development of a cell monolayer.

Введение. Нанотехнологии на сегодняшний день являются одним из приоритетных направлений развития науки и техники. Естественные и искусственные наночастицы, чьи размеры измеряются в нанометрах, находят широкое применение в фундаментальной и прикладной науке.

В последние годы разработано большое разнообразие наночастиц, различающихся по составу и размерам, а также различного функционального назначения [1, 2].

В биологии, медицине все большее значение приобретают наночастицы благородных металлов, которые могут быть использованы в качестве зондов, для целенаправленной доставки лекарственных препаратов, покрытия инструментов, шовных материалов и в других целях.

Тем не менее многие наночастицы токсичны и представляют потенциальную опасность для организма [3, 4]. Сейчас уже выпускаемые промышленностью некоторые наночастицы содержат тяжелые металлы и ядовитые соединения. В связи с этим подчеркивается важность исследования механизмов биологического действия наночастиц и определения условий их безопасного применения. Хотя степень опасности и ядовитости некоторых определяется их концентрацией и свойством накапливаться в организме, многие уже применяются в различных технологиях, в том числе и медицинских.

Во всем мире нет однозначного ответа по поводу опасности наночастиц, поскольку нет полного понимания их физико-химических свойств, воздействия на организм и отдаленных последствий такого воздействия.

Так как наночастицы получают все большее распространение, при их создании и расширении возможностей применения необходимо оценивать их цитотоксичность и установить предельно допустимые концентрации для каждого из нанообъектов.

Классическими модельными тест-системами для изучения цитотоксических и цитогенетических свойств препаратов на основе наночастиц биоэлементов остаются первичные и постоянные культуры клеток и человека.

Цель работы – изучить цитоморфологические характеристики перерываемой культуры клеток почки эмбриона крупного рогатого скота (MDBK) под действием наноразмерных частиц серебра и оксида цинка.

Материалы и методика исследований. Исследовали токсические свойства препаратов на основе наночастиц серебра «Наноарго-вир» и цинка «Иммунонаноцинк», произведенные в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В основе метода получения коллоидов металлов были положены реакции восстановления ионов серебра и цинка, входящих в различные соли и стабилизация полученных металлических частиц различными добавками. Управление размерами частиц достигалось варьированием концентрации восстановителя, стабилизирующих добавок, а также добавок, влияющих на вязкость раствора.

Для определения цитотоксического действия препаратов на основе наночастиц биоэлементов на линию клеток MDBK готовили двукратные разведения препаратов от 1:5 до 1:1280. Каждое разведение вносили в лунки 24-луночных полистироловых планшетов в 3-х режимах воздействия – в клеточную суспензию, на растущую клетку и сформированный монослой. На каждое разведение препарата приходилось по 4 лунки. Время экспозиции составляло 24, 48 и 72 часа. Культивирование проводилось в CO₂-инкубаторе при 37 °С. Результаты эксперимента оценивали по наличию дегенеративных изменений монослоя в лунках планшета.

В работе была исследована цитотоксичность препаратов на основе наночастиц биоэлементов на различных стадиях роста и размножения клеток (таблица 1).

Таблица 1 – Режимы воздействия наночастиц на перевиваемой линии клеток MDBK

Режим воздействия	Время экспозиции, ч.		
Внесение препарата непосредственно в клеточную суспензию	24	48	72
Внесение препарата на растущую клетку – 1-суточный монослой	24	48	72
Внесение препарата на сформировавшийся 2-3-суточный монослой	24	48	72

Для изучения цитоморфологии клеточной линии MDBK на фоне влияния наночастиц биоэлементов клетки выращивали на 24-луночных полистироловых планшетах на покровных стеклах в течение 48 часов. На сформировавшийся монослой клеток вносили препарат в трех последовательных разведениях, при которых не наблюдалось изменений клеток в монослое дегенеративного характера. Экспозиция клеток с препаратом составляла 24 часа, после чего покровные стекла извлекали из лунок при помощи пинцета и окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятым методам.

Световую микроскопию окрашенных препаратов проводили при помощи инвертированного светового микроскопа OLYMPUS OM-4 при увеличении объективов 10, 20, 40.

Определяли следующие морфологические изменения культуры клеток под влиянием наночастиц: общий вид культуры, форму клеток и ядер, структуру цитоплазмы, наличие многоядерных клеток и др.

Результаты исследований и их обсуждение. В работе использована перевиваемая культура клеток почки эмбриона крупного рогатого скота MDBK (Madin and Darby Bovine Kidney), представленная клетками эпителиоподобного типа полигональной формы с четко различимыми границами. Цитоплазма клеток прозрачная, не зернистая, ядра клеток округлой формы с 1-4 ядрышками, что соответствует их стандартным музейным характеристикам.

Контроль перевиваемой культуры клеток MDBK на стерильность показал, что за период наблюдения в течение 10 суток на питательных средах (МПА, МПБ, Сабуро, Кит-Тароцци) с посевами клеточной суспензии, роста бактерий и грибов не выявлено. Пробирки с питательными средами и посевами исследуемой суспензии клеток оставались без изменений (цвета, наличия осадка и т.д.), что свидетельствует об отсутствии контаминации клеточной культуры посторонней микрофлорой.

Для изучения влияния препарата на монослойформирующие способности и развитие постоянной культуры MDBK препараты наночастиц вносили в двукратных разведениях от 1:5 до 1:1280 в клеточную суспензию. Учет реакции проводили, оценивая наличие дегенерации монослоя (таблица 2).

Таблица 2 – Цитотоксическое действие наночастиц серебра и оксида цинка при внесении в суспензию клеток MDBK

Разведение препарата	Количество пробирок (лунок)	Время экспозиции, ч.					
		24		48		72	
		Ag	ZnO	Ag	ZnO	Ag	ZnO
1:5	4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
1:10	4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
1:20	4	4/1	4/4	4/2	4/4	4/2	4/4
1:40	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:80	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:160	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:320	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:640	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
1:1280	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
Контроль	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0

Примечание: 4/1 – в числителе – количество пробирок (лунок) с культурой клеток в опыте, в знаменателе – количество пробирок (лунок) с культурой клеток, в которых отмечена дегенерация клеток.

Было выявлено, что при концентрациях наночастиц серебра 1:5-1:10, оксида цинка – 1:5-1:320 дегенерация клеток наблюдалась во всех

лунках через 24, 48 и 72 часа, что свидетельствует об их цитотоксическом эффекте на клетки.

При концентрации наночастиц серебра 1:20 наблюдалась частичная дегенерация. Через 24 часа дегенерация наблюдалась в одной из четырех лунок, а через 48 и 72 часа – в двух лунках из четырех.

Разведения наночастиц серебра 1:40-1:1280, оксида цинка – 1:640 и 1:1280 дегенерацию клеток не вызывали.

Для определения цитотоксических эффектов наночастиц серебра и оксида цинка на растущую клетку – двукратные разведения препараты вносили на суточный 30-50%-й монослой клеток (таблица 3).

Таблица 3 – Цитотоксическое действие наночастиц серебра и оксида цинка при внесении на растущую клетку линии MDBK

Разведение препарата	Количество пробирок (лунок)	Время экспозиции, ч.					
		24		48		72	
		Ag	ZnO	Ag	ZnO	Ag	ZnO
1:5	4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
1:10	4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
1:20	4	4/0	4/4	4/1	4/4	4/1	4/4
1:40	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:80	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:160	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:320	4	4/0	4/2	4/0	4/3	4/0	4/4
1:640	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
1:1280	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
Контроль	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0

По данным таблицы 3 установлено, что концентрации наночастиц серебра 1:5-1:20 и оксида цинка – 1:5-1:320 оказывают цитотоксический эффект на растущую клетку. Но, в отличие от действия на суспензию клеток, при действии препаратов на сформировавшийся суточный монослой наблюдается менее выраженный цитотоксический эффект.

Для определения цитотоксических эффектов наночастиц цинка на сформированный монослой клеток MDBK двукратные разведения препаратов на основе наночастиц биоэлементов вносили на 2-3-суточный 100%-й монослой клеток.

Результаты исследования цитотоксического действия наночастиц серебра и оксида цинка на 2-3-суточный монослой клеточных культур представлены в таблице 4.

По данным таблицы 4 дегенерация 100%-го монослоя при использовании наночастиц серебра в разведении 1:20 не проявлялась, при внесении наночастиц оксида цинка в разведении 1:320 была поражена только одна лунка из 4-х через 24, 48 и 72 часа. Полученные данные свидетельствуют о менее выраженном повреждающем действии иссле-

дуремых препаратов на сформировавшийся монослой в сравнении с растущей клеткой.

Таблица 4 – Цитотоксическое действие наночастиц серебра и оксида цинка при внесении на сформированный 2-3-суточный монослой MDBK

Разведение препарата	Количество пробирок (лунок)	Время экспозиции, ч.					
		24		48		72	
		Ag	ZnO	Ag	ZnO	Ag	ZnO
1:5	4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
1:10	4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
1:20	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:40	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:80	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:160	4	4/0	4/4	4/0	4/4	4/0	4/4
1:320	4	4/0	4/1	4/0	4/1	4/0	4/1
1:640	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
1:1280	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0
Контроль	4	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0	4/0

Следующим этапом работы явились цитологические исследования культуры MDBK, позволяющие выявить направление и глубину морфологических изменений под действием нанопрепаратов серебра и оксида цинка.

В процессе исследований проводилось изучение 2-суточной культуры клеток MDBK обработанной тремя последовательными разведениями препаратов, при которых не наблюдалось изменений клеток в монослое дегенеративного характера с экспозицией 24 часа и последующим окрашиванием гематоксилин-эозином.

Изучение окрашенных цитологических препаратов показало, что в норме культура MDBK образует сплошной клеточный монослой с равномерным распределением клеток по поверхности стекла (рисунок 1).



Рисунок 1 – Культура MDBK. Контроль (x 20)

Границы клеток четко различимы. Клетки плотно прилегают друг к другу. Морфологически клетки эпителиоподобного типа полигональной формы. Ядра крупные, овальной или округлой формы, расположены в центральной части цитоплазмы. Цитоплазма неоднородна, имеет рыхлый матрикс.

Препараты наночастиц серебра в разведении 1:10, оксида цинка – 1:160 вызвали задержку развития клеточного монослоя, нарушали целостность сформировавшихся участков клеточного пласта вследствие возникновения очагов дегенерации различной интенсивности. Отмечалось расширение межклеточных контактов, в монослое образовались «окна» и разрывы значительных размеров. Клетки имели нехарактерную округлую форму. Наблюдались множественные случаи многоядерности. По частоте встречаемости двуядерных клеток при длительном культивировании данные по препаратам превосходили контрольный показатель более чем в 2 раза (рисунок 2, 3).

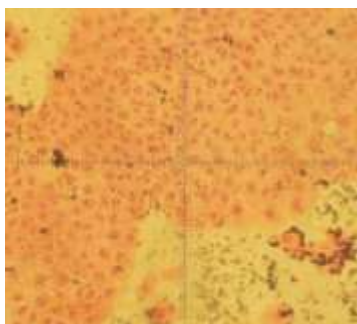


Рисунок 2 – Культура MDBK при экспозиции с препаратом наночастиц серебра в разведении 1:10 (x 20)

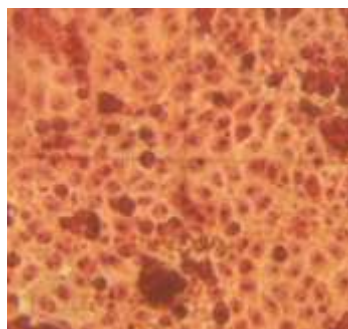


Рисунок 3 – Культура MDBK при экспозиции с препаратом наночастиц цинка в разведении 1:160 (x 40)

Препараты наночастиц серебра в разведении 1:20, оксида цинка – 1:320 вызывали такие же цитоморфологические изменения, как в предыдущих разведениях - 1:10 и 1:160 соответственно, но в меньшей степени. Под воздействием наночастиц серебра наблюдалось расширение межклеточных контактов, но при этом не отмечалось образование «окон» и разрывов (рисунок 4). Нанопрепарат оксида цинка вызывал задержку развития клеточного монослоя, нарушал целостность сформировавшихся участков клеточного пласта вследствие возникновения очагов дегенерации различной интенсивности. Отмечалось расширение межклеточных пространств. Клетки имели

нехарактерную округлую форму. Наблюдались множественные случаи многоядерности (рисунок 5).

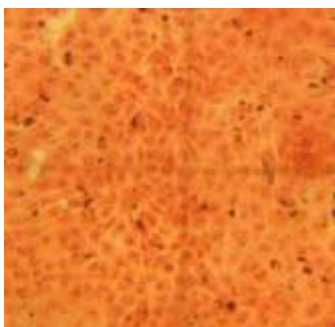


Рисунок 4 - Культура MDBK при экспозиции с препаратом наночастиц серебра в разведении 1:20 (x 20)

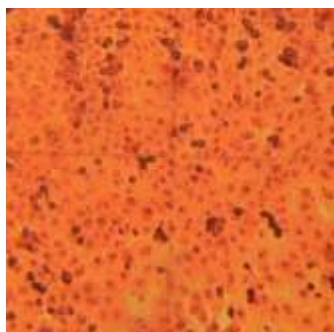


Рисунок 5 – Культура клеток MDBK при экспозиции с препаратом наночастиц цинка в разведении 1:320 (x 20)

По данным световой микроскопии препарат наночастиц серебра в разведении 1:40, оксида цинка – 1:640 не влиял на морфологию клеток, внешний вид культуры соответствовал норме (рисунок 6, 7). Границы клеток четкоразличимы. Клетки плотно прилегают друг другу. Морфологически клетки эпителиоподобного типа полигональной формы. Ядра крупные, овальной или округлой формы, расположены в центральной части цитоплазмы.

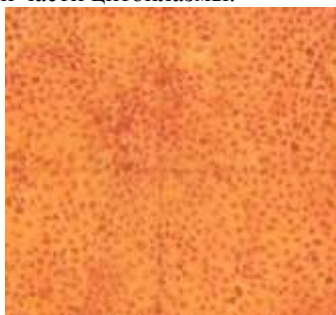


Рисунок 6 – Культура MDBK при экспозиции с препаратом наночастиц серебра в разведении 1:40 (x 10)

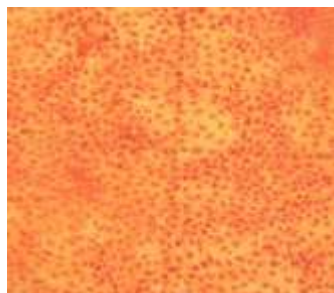


Рисунок 7 – Культура клеток MDBK при экспозиции с препаратом наночастиц цинка в разведении 1:640 (x 10)

Таким образом, цитоморфологические исследования изменений в культуре клеток MDBK свидетельствуют о наличии цитотоксического

эффекта препарата наночастиц серебра при концентрациях 1:10 и 1:20, оксида цинка – 1:160 и 1:320.

Заключение. 1. В результате сравнительного изучения цитотоксического действия наночастиц серебра и цинка на перевиваемые культуры клеток MDBK на различных стадиях размножения и роста клеточной линии установили, что цитотоксический эффект препаратов на основе наночастиц серебра и цинка зависит от возраста клетки и стадии роста, на которой находится клеточная популяция. Таким образом, молодые растущие клетки являются более чувствительными, чем зрелые клетки сформировавшегося монослоя.

2. Установлена более высокая цитотоксичность наночастиц цинка в сравнении с нанопрепаратом на основе серебра, который оказывает цитотоксический эффект в разведении 1:5-1:320 в сравнении с наночастицами серебра, вызывающими дегенерацию монослоя клеток в разведениях 1:5 и 1:10.

3. При изучении морфологии клеточных культур с использованием специфических методов окраски установлено, что препараты на основе наночастиц серебра и цинка оказывают цитотоксическое действие, которое проявляется в округлении клеток, расширении и нарушении межклеточных контактов, нарушении развития клеточного монослоя и т.д.

ЛИТЕРАТУРА

1. Губин, С. П. Магнитные наночастицы: методы получения, строение, свойства / С. П. Губин, Ю. А. Кошкарлов, Г. Б. Хомутов, Г. Ю. Юрков // Успехи химии – 2005 - №74(6). – С. 539–574.
2. Penn, S. G. Nanoparticles for bioanalysis. / S.G. Penn, L. He and M.J. Natan // Current opinion in chemical biology. - October 2003. – Vol. 7, № 5. – P. 609–615.
3. Bystrzejewska-Piotrowska, G. Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management / G. Bystrzejewska-Piotrowska, J. Golimowski and P.L. Urban // Waste Management. - September 2009. – Vol. 29, №9. – P.2587–2595.
4. Nishimori, H. Silica nanoparticles as hepatotoxicants / H. Nishimori, M. Kondoh, K. Isoda, S.-I. Tsunoda, Y.Tsutsumi and K.Yagi // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. - August 2009. – Vol. 72, №3. – P. 496-501.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ К НАНОЧАСТИЦАМ СЕРЕБРА И МЕДИ

П.А. Красочко¹, А.О. Кукса²

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

² – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 01.07.2013 г.)

Аннотация. Проведены исследования по определению уровня концентрации препарата содержащего наночастицы серебра и меди, для подавления роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Показано, что при разведении 1:5 наблюдается полное подавление роста приведенных ниже микроорганизмов, при разведении 1:10 частичное подавление роста, при разведениях 1:20; 1:50; 1:100 устойчивый рост микроорганизмов.

Summary. Researches by definition of level concentration of a preparation containing nanoparticle silver and copper for suppression of growth of pathogenic and is conditional-pathogenic microorganisms are carried out.

It is shown, that at cultivation 1:5 full suppression of growth resulted below microorganisms is observed, at cultivation 1:10 partial suppression of growth, at cultivations 1:20; 1:50; 1:100 steady growth of microorganism is observed .

Введение. В последние годы с развитием нанотехнологий интерес к серебру как антибиотику и бактерицидному средству сильно возрос. Нанотехнологии позволили удешевить и сделать более доступными препараты на основе серебра и меди для лечения многих инфекционных заболеваний [2]. Благодаря малым размерам, составляющим лишь 1–2 нанометра в диаметре, наночастицы обладают уникальным свойством, они чрезвычайно активны и убивают вирусы, бактерии, грибы.

После того как были изобретены антибиотики, интерес к серебру резко снизился. Но, как показала практика, антибиотики далеко не всегда являются панацеей, и поэтому все больше врачей склоняется к использованию препаратов, содержащих в составе коллоидный раствор серебра. Ведь за положительным эффектом от антибиотиков зачастую скрываются такие побочные факторы, как адаптация к ним вредных микроорганизмов [1].

И в этом отношении терапия ионами меди и серебра является одним из наиболее перспективных лечебных средств антигомотоксической медицины.

Цель – определить концентрацию препарата, содержащего наночастицы серебра и меди, для подавления роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Материал и методы исследования. Определение чувствительности музейных штаммов микроорганизмов к исследуемому препарату проводили по методу серийных разведений в агаре. Принцип метода заключался в посеве тестируемых микроорганизмов на чашки Петри. Препарат, включающий в себя наночастицы серебра и меди, исследовали в следующих концентрациях: 1:5; 1:10; 1:20; 1:50; 1:100.

Сухие агаризованные питательные среды растворяли и автоклавировали в соответствии с инструкцией изготовителя. После автоклавирования колбы с питательной средой помещали на водяную баню при 48-50 °С, где выдерживали до достижения указанной температуры, после чего в них асептически вносили препарат в необходимых концентрациях. Затем среду тщательно перемешивали и разливали по чашкам Петри, толщина слоя среды составляла 3-4 мм. После застывания делали лунки, в которые вносили музейные штаммы микроорганизмов.

Таблица 1 – Чувствительность микроорганизмов к указанным концентрациям препарата (метод серийных разведений в агаре)

Музейные штаммы микроорганизмов	1:5	1:10	1:20	1:50	1:100
1. <i>E. coli</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
2. <i>C. albicans</i>	рост	рост	рост	рост	рост
3. <i>S. enteritidis</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
4. <i>S. typhimurium</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
5. <i>P. vulgaris</i>	частичное подавление роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
6. <i>S. epidermidis</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
7. <i>S. aureus</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
8. <i>P. mirabilis</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
9. <i>B. cereus</i>	частичное подавление роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
10. <i>Kl. pneumoniae</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
11. <i>Ent. faecalis</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост
12. <i>S. pyogenes</i>	полное подавл. роста	частичное подавление роста	рост	рост	рост

Заключение. Проведенные исследования показали, что для полного подавления роста таких микроорганизмов, как *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *B. cereus*, *Kl. pneumoniae*, *Ent. faecalis*, *S. pyogenes* концентрация исследуемого препарата, содержащего наночастицы серебра и меди, составляет 1:5, для частичного подавления роста концентрация 1:10.

Таким образом, механизм действия серебра на микробную клетку заключается в том, что ионы серебра сорбируются клеточной оболочкой, которая выполняет защитную функцию. Клетка остается жизнеспособной, но при этом нарушаются некоторые ее функции, например деление (бактериостатический эффект). Как только на поверхности микробной клетки сорбируется серебро, оно проникает внутрь клетки и ингибирует ферменты дыхательной цепи, а также разобщает процессы окисления и окислительного фосфорилирования в микробных клетках, в результате чего клетка гибнет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Орлов, Д.С., Шамова, О.В. Действие комплексов природных антимикробных пептидов и наночастиц серебра на микроорганизмы / Д.С. Орлов, О.В Шамова//Цитокины и воспаление.-2010. - №2-С. 15-18
2. Вельховер, Е. С., Ромашов, Ф. Н., Селюкова, В. В. Применение меди и ее солей в лечебной практике // Методические рекомендации. М.: Университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, 1982.
3. Микробиология./ Под ред.А.А. Воробьева. - М.: Медицина, 1998.
4. Борисов, Л.Б. «Руководство к практическим занятиям по микробиологии». - М., 1994.
5. Воробьев, А.А., Быков, А.С. Микробиология.- М., 1995.
- 6.Титов, Л.П. «Иммунология. Терминологический словарь». – Мн, 2002.
7. Асонов, Н.Р. Микробиология: Учебник -4-е изд., перераб. и доп.- М.: КолосС,2009.- 352с.
8. Колычев, Н.М. Ветеринарная микробиология: Учебник для вузов, - 3-е изд., перераб. и доп. – М.:Колос, 2008. – 432 с.
9. Колычев, Н.М., Госманов, Р.Г. Ветеринарная микробиология и иммунология: учебник для вузов - 3-е издание. – М.: Колос, 2009. – 432 с.
10. Электронный дидактический комплекс по ветеринарной микробиологии и иммунологии / В.Н. Кисленко, Н.М. Колычев, В.И. Плешакова, Е.С. Воронин, Р.Г. Госманов. – Гриф МСХ РФ, 2009. – 419с.

ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ФЛОКСВИРИН» ПРИ БРОНХОПНЕВМОНИИ У ТЕЛЯТ

А.М. Курилович, П.И. Пахомов

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия
ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 01.07.2013 г.)

Аннотация. Применение препарата «Флоксвирин» в комплексной терапии телят, больных бронхопневмонией, способствует нормализации гематологических показателей, ускоряет сроки выздоровления животных на 2 дня и повышает эффективность лечения.

Summary. Application of the Flocksvirin in complex therapy of calves bronchopneumonia promotes normalization of hematological parameters, accelerates the recovery period of the animals for 2 days and increases the effectiveness of treatment.

Введение. Животноводство является одной из основных отраслей агропромышленного комплекса, от дальнейшего развития которого зависит уровень обеспечения населения полноценными продуктами питания, а промышленности – сырьем.

В силу сложившихся благоприятных природных условий Беларусь является одной из ведущих животноводческих республик на постсоветском пространстве, программой дальнейшего развития которой предусматривается повышение продуктивности всех видов животных. Но продуктивность животных, высокие привесы, надои молока, отменное качество продукции зависят от здоровья животных. Поэтому ветеринарная служба несет огромную ответственность и решает проблемы по обслуживанию животноводства, снижению заболеваемости и др. Это, в свою очередь, требует повышения эффективности работы научных и учебных учреждений, внедрения их достижений в практику, выполнения каждым специалистом своих обязанностей на высоком уровне.

Одной из основных причин, препятствующих полной реализации генетического потенциала животных, являются незаразные болезни молодняка сельскохозяйственных животных, среди которых болезни дыхательной системы занимают лидирующее место. Эти заболевания имеют, как правило, полиэтиологическую природу, а развитие патологического процесса может начинаться по-разному и зависит от сочетания этиологических факторов. Нередко они носят массовый характер и наносят хозяйствам большой экономический ущерб [2, 5, 6, 10].

При этом на одном из первых мест по частоте, массовости и величине экономического ущерба приходится на бронхопневмонию. В условиях промышленного животноводства этим заболеванием может переболеть до 50% поголовья молодняка в возрасте от 20 дней до 3 месяцев на протяжении всего года.

Изучению данной патологии у телят посвящены многие работы современных отечественных и зарубежных ученых [1, 3, 8]. Однако решение данной проблемы требует более глубокого и детального изучения причин и механизмов развития бронхопневмонии у телят и изыскания новых высокоэффективных и экономически выгодных способов лечения.

Цель работы – изучить терапевтическую эффективность препарата «Флоксвирин» при бронхопневмонии у телят.

Материал и методика исследований. Исследования проводились на телятах белорусской черно-белой породы в возрасте 2-3 месяцев на базе ОАО «Горяны-Агро» Полоцкого района Витебской области.

Согласно результатам бактериологического, вирусологического и паразитологического исследований, проводившихся в Витебской областной лаборатории, хозяйство является благополучным по основным инфекционным и инвазионным заболеваниям молодняка крупного рогатого скота.

Для изучения терапевтической эффективности препарата «Флоксвирин» было сформировано 3 группы телят по 5 животных в каждой. Телятам 1-й группы внутримышечно применяли препарат «Флоксвирин» подкожно в дозе 1 мл на 10 кг массы животного 1 раз в сутки, телятам 2-й группы – препарат «Тилозин» в дозе 1 мл на 10 кг массы животного 1 раз в сутки. В 3-й группе находились клинически здоровые телята, которые служили контролем.

Дополнительно больным телятам 1-й и 2-й групп применяли в качестве отхаркивающего средства внутрь натрия гидрокарбонат в дозе 5 г на животное, для снятия интоксикации организма внутривенно вводили 50 мл 20%-го раствора глюкозы. Телятам 3-й группы – никакого лечения не оказывалось.

Кормление, уход и содержание телят было одинаковое во всех группах. Ежедневно их подвергали клиническому исследованию по общепринятому плану. При этом основное внимание обращали на состояние органов дыхания (характер носовых истечений, выдыхаемого воздуха, состояние носовой полости, придаточных пазух, исследовали гортань, трахею, легкие, оценивали кашель).

О полном выздоровлении животных в группах судили по исчезновению клинических признаков болезни, восстановлению аппетита, динамике лабораторных показателей.

В начале опыта и на 9-й день опыта от животных каждой группы были отобраны пробы крови для морфологического и биохимического анализа [9].

Кровь брали из яремной вены с соблюдением правил асептики и антисептики [3]. Полученные пробы крови отправлялись в научно-исследовательский институт прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «ВГАВМ» (Аттестат аккредитации № ВУ 11202.1.0.087).

Морфологические исследования проводились с использованием гематологического анализатора «Medonic CA 620» (Швеция). Биохимические исследования крови проводились на биохимическом анализаторе «Evrolazer» (Великобритания) с использованием наборов производства фирмы «Cormeu» (Польша) [5]. В крови определяли количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, концентрацию гемоглобина, выводили лейкограмму. При биохимическом исследовании определяли содержание в сыворотке крови общего белка, неорганического фосфора, общего кальция, резервную щелочность, активность АсАТ и АлАТ.

Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса телят проведена на кафедре ВСЭ УО «ВГАВМ». Отбор проб для исследований проводился согласно ГОСТу 7269-79. «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести» [7].

Экономическая эффективность лечебных мероприятий рассчитывалась по «Методике определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» [4]. Полученный цифровой материал обработан статистически с использованием персональной ЭВМ, единицы измерения приведены в соответствие с Международной системой единиц.

Результаты исследований и их обсуждение. У животных опытных групп в начале заболевания отмечались следующие симптомы: общая слабость и апатия, снижение аппетита, сухой кашель, серозно-катаральное истечение из носовых отверстий, жесткое дыхание, смешанная одышка, вначале сухие, а на 3-й день влажные хрипы в легких, повышение температуры тела на 1-1,5⁰С, учащение пульса и дыхания (таблица 1).

Таблица 1 – Клинические показатели телят опытных групп (М±m)

Группы	Температура, °С	Частота пульса, уд./мин.	Частота дыхания, дых. движ./мин.
Контрольная группа	38,6±0,12	68,4±1,32	26,0±0,63
Опытная группа № 1	40,0±0,10	86,0±1,41	29,6±0,40
Опытная группа №2	39,9±0,12	88,0±0,51	30,4±0,74

При перкуссии легких были выявлены ограниченные очаги приглушения, граничащие с участками нормального легочного перкутор-

ного звука и обнаруживаемые преимущественно в области сердечных долей легкого. При аускультации в легких прослушивалось жесткое везикулярное дыхание и мелкопузырчатые хрипы.

При анализе морфологических показателей (таблица 2) у заболевших бронхопневмонией телят было установлено повышение количества эритроцитов в 1,3 раза и лейкоцитов в 1,6 раза по сравнению с телятами контрольной группы, что объясняется наличием воспалительного процесса в легких. Концентрация гемоглобина, гематокритная величина и содержание тромбоцитов было приблизительно одинаковым и достоверных отличий не имело.

Таблица 2 – Морфологические показатели крови телят опытных групп ($M \pm m$)

Группы	Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, л/л	Тромбоциты, $10^9/\text{л}$
До опыта					
Контрольная группа	$8,4 \pm 1,13$	$5,6 \pm 0,50$	$108,4 \pm 3,78$	$28,4 \pm 3,07$	$517,8 \pm 69,07$
Опытная группа № 1	$13,6 \pm 0,33$	$7,3 \pm 0,55$	$106,7 \pm 6,96$	$31,9 \pm 1,17$	$527,0 \pm 10,97$
Опытная группа № 2	$13,8 \pm 0,30$	$6,2 \pm 0,41$	$105,3 \pm 4,33$	$31,8 \pm 2,70$	$489,3 \pm 41,27$
На 9-й день опыта					
Контрольная группа	$7,9 \pm 0,94$	$5,5 \pm 0,55$	$106,8 \pm 1,28$	$28,2 \pm 2,88$	$518,4 \pm 67,60$
Опытная группа № 1	$9,3 \pm 0,43$	$7,5 \pm 0,50$	$132,4 \pm 3,26$	$34,0 \pm 1,53$	$592,6 \pm 59,75$
Опытная группа № 2	$9,7 \pm 0,75$	$7,4 \pm 0,32$	$128,0 \pm 3,84$	$31,6 \pm 2,91$	$578,4 \pm 40,54$

В это же время лейкограмма (таблица 3) больных животных характеризовалась простым регенеративным сдвигом ядра в нейтрофильной группе и незначительным моноцитозом. Все это указывает на наличие острого воспаления и интоксикации организма.

Таблица 3 – Лейкограмма крови телят опытных групп, % ($M \pm m$)

Группы	Базо- филы	Эозино- филы	Нейтрофилы				Лимфо- циты	Моно- циты
			М	Ю	П	С		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
До опыта								
Контрольная группа	0	$3,0 \pm 0,40$	0	0	$3,0 \pm 0,3$	$27,8 \pm 1,24$	$62,4 \pm 1,24$	$3,8 \pm 0,58$
Опытная группа № 1	$0,6 \pm 0,66$	$4,0 \pm 0,50$	0	$1,0 \pm 0,5$	$7,0 \pm 1,6$	$28,6 \pm 1,66$	$50,3 \pm 1,45$	$8,3 \pm 3,17$
Опытная группа № 2	$0,3 \pm 0,33$	$2,6 \pm 0,66$	0	$1,6 \pm 0,33$	$7,3 \pm 0,33$	$32,6 \pm 1,66$	$43 \pm 2,6$	$7 \pm 2,0$

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
На 9-й день опыта								
Контрольная группа	0	3,4± 0,50	0	0	3,4± 0,50	29,8± 0,80	60,2± 0,66	3,2± 0,37
Опытная группа № 1	0,2± 0,20	5,0± 0,6	0	0	3,2± 0,58	31,2± 1,93	55,8± 1,65	4,8± 0,80
Опытная группа № 2	0,6± 0,40	5,4± 0,7	0	0	3,8± 0,58	29,0± 1,40	57,2± 1,77	4,0± 0,70

При биохимическом исследовании (таблица 4) сыворотки крови у больных телят отмечалось снижение уровня общего белка на 10%, общего кальция на 30%, неорганического фосфора - на 17% и резервной щелочность на 33% по сравнению с телятами контрольной группы. Активность ферментов АсАТ и АлАТ у телят опытных групп во все сроки исследований существенно не отличалась от показателей телят контрольной группы и достоверных отличий не имела. Это свидетельствует о нарушении обмена веществ, связанного со снижением уровня газообмена в тканях организма животных, что вызвано нарушениями в функционировании легочной ткани.

Таблица 4 – Биохимические показатели крови телят опытных групп (M±m)

Группы	Общий белок, г/л	Общий кальций, ммоль/л	Неорган. фосфор, ммоль/л	АсАТ, U/L	АлАТ, U/L	Резервная щелочность, об%CO ₂
До опыта						
Контрольная группа	70,4± 2,99	1,67± 1,304	1,98± 0,116	125,3± 11,83	52,9± 6,69	46,4±1,30
Опытная группа № 1	64,3± 2,25	1,49± 0,653	1,69± 0,271	105,0± 5,05	52,5± 1,14	36,5±1,26
Опытная группа № 2	63,9± 3,21	1,28± 1,267	1,72± 0,331	97,0± 5,05	47,2± 6,72	34,8±0,65
На 9-й день опыта						
Контрольная группа	69,5± 3,20	1,62± 1,017	1,92± 0,221	126,7± 11,27	54,9± 4,90	44,8±1,01
Опытная группа № 1	61,7± 1,24	1,65± 0,766	1,70± 0,163	101,4± 4,45	45,5± 2,16	42,7±1,26
Опытная группа № 2	64,1± 1,57	1,60± 1,258	1,75± 0,094	106,3± 12,85	51,2± 5,94	40,3±1,26

У телят, которым оказывалась лечебная помощь, устанавливались различия как по длительности, так и по характеру проявления признаков заболевания в зависимости от применяемого метода лечения (Таблица 5).

У телят первой опытной группы, которым для лечения применялся препарат «Флоквилин», заболевание протекало в легкой форме и характеризовалось отсутствием дальнейшего прогрессирования уже

имеющихся симптомов. Выздоровление животных в отдельных случаях наступало уже на 6 день, а средняя продолжительность болезни по группе составила 6,8 дня. Как правило, после выздоровления у телят данной группы рецидивов не наблюдалось.

Таблица 5 – Основные показатели терапевтической эффективности препарата «Флокссирин» при лечении телят, больных бронхопневмонией ($M \pm m$)

Показатели	Опытная группа № 1	Опытная группа № 2
Количество больных животных на начало опыта, гол.	5	5
Пало, голов	0	0
Смертность, %	0	0
Средняя продолжительность болезни, дней	6,8 $\pm$ 0,2	8,8 $\pm$ 0,2
Терапевтическая эффективность, %	100	100

У телят второй опытной группы, которым для лечения применялся препарат «Тилозин», заболевание принимало более тяжелую форму, с характерными для нее симптомами. Также у телят выздоровление приходилось на 9 сутки с момента назначения им лечения, причем отмечалась яркая выраженность клинических признаков. После переболевания такие животные еще долгое время отличались от своих сверстников упитанностью и поведением и у них имели место рецидивы.

В результате лечения (таблица 2) у телят 1-й группы, в которой применяли препарат «Флокссирин», повышалось количество эритроцитов на 3%, концентрация гемоглобина на 25%, резервная щелочность на 15%, снижалось количество лейкоцитов в 1,4 раза. У телят 2-й опытной группы также отмечалось восстановление вышеперечисленных показателей, но менее интенсивно. В лейкограмме (таблица 3) у животных опытных групп отмечалось нормальное содержание всех видов клеток.

К окончанию лечения результаты биохимического исследования (таблица 4) крови телят опытных групп также характеризовались нормализацией основных показателей и не имели существенных отличий от животных контрольной группы.

Через 14 дней после завершения опыта была проведена оценка качества мяса телят опытных и контрольной групп. При органолептическом исследовании туш и органов телят опытных групп установлено, что патологоанатомических изменений ни в одной из проб не выявлено, степень обескровливания хорошая, на мясе с поверхности формируется корочка подсыхания бледно-розового цвета. На разрезе мясо плотное, упругое, влажное, от светло-красного до красного цвета. Запах мяса с поверхности и на разрезе слабовыраженный кисломолочный, свойствен-

ный для свежей говядины. Жир плотной консистенции, светло-желтого цвета, без запаха. Сухожилия упругие, плотные, поверхность суставов гладкая, блестящая. Бульон прозрачный и ароматный.

При бактериологическом исследовании мышечной ткани и внутренних органов микрофлора из взятых проб не выделена.

Физико-химические показатели мяса опытных и контрольных групп существенных различий не имели и были в пределах нормы. pH мяса животных опытных групп был в пределах 5,86-5,98, а мяса телят контрольной групп – 5,97, реакция с сернокислой медью и формалином была отрицательной, а реакция на пероксидазу – положительной во всех исследуемых пробах.

Показатели химического состава мяса опытных и контрольных групп также достоверных отличий не имели. Так, в пробах мяса телят опытных групп содержание влаги было в пределах 74,26-76,02%, жира – 0,85-0,9%, белка – 20,1-20,86%, золы – 0,83-0,98% и в контроле влаги – 77,12%, жира – 0,88%, белка – 20,98%, золы – 1,02% соответственно.

При определении безвредности проявления токсичности для инфузорий не установлено. Процент патологических форм клеток в 1-й группе составил – 0,2, во 2-й группе – 0,1 и в контроле – 0,2. Относительная биологическая ценность мяса телят 1-й группы составила 101,6%, а 2-й группы – 99%.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что мясо телят опытной группы, которым применяли препарат «Флоксвирин» по органолептическим, бактериологическим и физико-химическим показателям, а также биологической ценности и безвредности не уступает мясу контрольной группы и может быть допущено на пищевые цели без ограничений через 14 дней после последнего применения препарата.

Также применение данной схемы лечения является экономически целесообразным. Так, при применении препарата «Флоксвирин» экономический эффект возрастал на 365600 руб., а экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на рубль затрат составила 2,98 рублей.

Заключение. В результате проведенных исследований нами установлено, что применение препарата «Флоксвирин» подкожно в дозе 1 мл на 10 кг массы животного 1 раз в день не оказывает негативного влияния на клинические, морфологические и биохимические показатели телят, сокращает сроки лечения животных и снижает затраты на проведение ветеринарных мероприятий. Мясо может быть допущено на пищевые цели без ограничений через 14 дней после последнего применения препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов, С.С. Бронхопневмония / Профилактика незаразных болезней молодняка / С.С. Абрамов [и др.]; под ред. И.М. Карпутя. – Минск : Ураджай, 1989. – 90 с.
2. Анохин, Б.М. Внутренние незаразные болезни с/х животных / Б.М. Анохин [и др.]. – Москва : Агропромиздат, 1991. – 397 с.
3. Баженов, А.Н. Профилактика внутренних незаразных болезней и лечение крупного рогатого скота в промышленных комплексах / А.Н. Баженов [и др.]. – Москва : Агропромиздат, 1987. – 267 с.
4. Безбородкин, Н.С. Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий / Н.С. Безбородкин. – Витебск, 2000. – 185 с.
5. Внутренние незаразные болезни животных: учебник / И.М. Карпутя [и др.]. – Минск : Беларусь, 2006. – 679 с.
6. Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных / Б.М. Анохин [и др.]. – Москва : Агропромиздат, 1991. – 575 с.
7. ГОСТ 7269-79. Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести. - Введ. 23.02.79. - М.: Изд-во стандартов, 1980. – 5 с.
8. Данилевский, В.М. Рекомендации по профилактике и лечению бронхопневмонии телят в специализированных комплексах промышленного типа при выращивании и откорме молодняка крупного рогатого скота и их экономическая эффективность / В.М. Данилевский [и др.]. – Москва : Колос, 1980. – 428 с.
9. Курдеко, А.П. Взятие крови у животных / А.П. Курдеко [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2008. – 50 с.
10. Щербаков, Г.Г. Внутренние болезни животных / Г.Г. Щербаков. – Москва : Издательский центр «Академия», 2006. – 512 с.

УДК 619:616.72-002-022.6:615.37:636.5.053

БАКТЕРИЦИДНО-ЛИЗОЦИМНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ И ПОКАЗАТЕЛИ ФАГОЦИТОЗА У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ИХ СУХОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА

Н.О. Лазовская

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

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. В статье приведены данные о влиянии иммунизации цыплят-бройлеров против реовирусного теносиновиита отечественной сухой живой вакциной на неспецифические факторы иммунной защиты (БАСК, ЛАСК, фагоцитоз).

Summary. The article presents data on the effect of immunization of broiler chickens against reovirus tenosynovitis on the nonspecific immune defense factor by the domestic dry live vaccine(BASK , LASK , phagocytosis).

Введение. Птицеводство как отрасль сельского хозяйства в Республике Беларусь развивается стремительно и динамично [5]. Поэтому для сохранения и дальнейшей положительной динамики от руководителей птицеводческих предприятий требуется мобилизация всех имеющихся ресурсов, будь-то человеческий, умственный, финансовый и т.д.

Тенденции, связанные с интеграцией, таят в себе множество подводных камней, а именно: ввоз племенной или промышленной птицы (инкубационного яйца) из-за границы, использование для приготовления комбикормов зарубежного сырья и т.д.

Современное птицеводство в Республике Беларусь является одной из наиболее развивающихся отраслей сельского хозяйства [5].

В настоящее время птицеводство в Беларуси развивается в соответствии с программой развития на 2011–2015 годы. Целью данной программы является обеспечение стабильного снабжения населения республики высококачественной птицеводческой продукцией, позволяющей полностью удовлетворить потребности в яйце и мясе птицы, а также реализовать данную продукцию на экспорт. Для полного удовлетворения потребностей населения Республики Беларусь необходимо производить 243 тыс. т мяса птицы или 357 тыс. т в живом весе. Оставшиеся 212 тыс. т птицы в живом весе будут переработаны на мясо и мясопродукты: 100 тыс. т мяса птицы планируется реализовать на экспорт, а также получить 32 тыс. т мяса механической обвалки, что исключит импорт этого продукта свободными экономическими зонами республики.

В области яичного птицеводства Программой предусматривается:

- увеличение производства яиц к 2015 г. на 20% в сравнении с уровнем 2009 г., обеспечив в сельскохозяйственных организациях среднегодовой прирост 4% и повышение конкурентоспособности продукции на основе внедрения передовых технологий;

- увеличение яйценоскости кур-несушек до 315 штук яиц в год, снижение затрат кормов на производство одной тысячи яиц до 1,3 центнера [5, 8].

Как известно, в настоящее время производство мяса птицы сосредоточено на крупных специализированных предприятиях, мощности которых позволяют осуществить единовременную посадку миллиона и более голов. Это в свою очередь создает определенные трудности в соблюдении принципа «все пусто – все занято», приводит к сокращению санитарных разрывов. К тому же зачастую стада комплектуются привезенной из-за границы птицей с недостаточной либо недостоверной информацией о ее происхождении. На фоне нарушений в кормлении и содержании, несоблюдения ветеринарно-санитарных правил и

неизбежности технологических стрессов происходит угнетение иммунной системы птицы и снижение резистентности ее организма, что приводит к активизации возбудителей инфекционных болезней различной этиологии. К таким заболеваниям относят реовирусную инфекцию птиц.

Реовирусы птиц впервые были выделены в 1954 году J.E. Fahey и J.F. Crawley из респираторного тракта цыплят с хроническим респираторным синдромом. В дальнейшем в 1957 г. Olsen и соавт. выделили реовирус от цыплят, пораженных синовитом, и эти поражения не были связаны с микоплазмозами [10]. Реовирусов считают причиной многих патологических состояний таких как артрит/теносиновит, малабсорбционный синдром, перикардит, миокардит, панкреатит, иммуносупрессия, хронический респираторный синдром. Однако многие из этих симптомов описаны и при заболеваниях, связанных с возбудителями других вирусных и бактериальных инфекций. Исключением является вирусный артрит или теносиновит, при котором этиологическое и патогенетическое значения вируса доказаны полностью [2, 9].

Реовирусная инфекция (теносиновит кур, вирусный артрит) – контагиозная болезнь, проявляющаяся хромотой, связанной с воспалением сухожилий и суставов конечностей, высокой ранней смертностью, плохим ростом, снижением яйценоскости и выводимости цыплят. При хроническом течении болезнь сопровождается разрывом сухожилий голени и эрозиями суставных хрящей. Чаще болеет птица мясного направления [1, 2, 4].

Вирус, вызывающий данное заболевание, является иммуносупрессором, что, в свою очередь, ведет к снижению способности иммунной системы цыплят адекватно отвечать на последующие вакцинации против других вирусных инфекций. Вследствие снижения иммунного статуса возникают благоприятные условия для развития сопутствующих инфекций, которые трудно поддаются лечению [2, 11].

У разных возрастных групп птиц симптомы болезни различны: у 5-8-нед. цыплят вначале появляются отеки сухожильных влагалищ и кровоизлияния в них, в полости суставов накапливается выпот. Болезнь протекает хронически. Ведущий клинический признак - разрыв сухожилий конечностей. Поражения ног наиболее выражены в области скакательного и голеноплюсневых суставов. При подостром течении отмечается скопление в суставах экссудата соломенного или красноватого цвета. Встречаются эрозии хряща в области дистальной части большеберцовой кости, а также кровоизлияния в синовиальной полости. В дальнейшем экссудат становится плотной консистенции, обычно желтовато-белого цвета. Пораженные суставы отечны, увеличены. При хрониче-

ском течении синовиальная оболочка утолщается и обызвествляется, сухожилия имеют волокнистую структуру, могут некротизироваться и разрываться, особенно у взрослой птицы. Разрыв сухожилий чаще происходит в области голени, в результате этого нога сгибается в обратную сторону. Патогенез разрывов до настоящего времени не определен.

Во внутренних органах обнаруживают катаральный энтерит, увеличение почек, гиперемия поджелудочной железы, дряблость сердечной мышцы. В оболочке сухожилий формируются лимфоидные фолликулы. В сердечной мышце отмечают пролиферацию ретикулоэндотелиальных клеток. В седалищных нервах – диссеминированные увеличенные очажки, с опуханием оболочки миелина, атрофию и фрагментацию осевого цилиндра. В крови – лимфоцитоз и лимфоцитопению [3].

В настоящее время профилактика реовирусной инфекции цыплят производится путем вакцинации родительского поголовья [6,7]. В Республике Беларусь птицефабрики, выращивающие родительское стадо, также вакцинируют птицу против данной болезни по различным схемам вакцинами зарубежного производства. В соответствии с Государственной программой развития производства ветеринарных препаратов на 2010–2015 годы сотрудниками РУП «Институт экспериментальной ветеринарии» г. Минск была разработана сухая живая вакцина против реовирусного теносиновита цыплят.

Целью наших исследований явилось изучение влияния отечественной сухой живой вакцины против реовирусного теносиновита цыплят на фагоцитарную активность псевдоэозинофилов, бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови цыплят-бройлеров в разные сроки вакцинации.

Материалы и методы исследований. Для реализации поставленной цели нами было сформировано 3 группы птиц. Иммунизацию цыплят первой группы (15 голов) проводили в суточном возрасте, цыплят второй группы (20 голов) – в возрасте 7 суток, а птица третьей группы (20 голов) служила контролем. Вакцину вводили внутримышечно в верхнюю часть внутренней стороны бедра в дозе 0,2 мл/гол. На 7-й, 14-й и 21-й дни после иммунизации проводили убой пяти цыплят из каждой группы методом декапитации с одновременным забором крови для изучения фагоцитарной активности псевдоэозинофилов, а также бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови.

Определение фагоцитарной активности псевдоэозинофилов проводили по методу А.И. Иванова и Б.А. Чухловина (1967). При этом определяли следующие показатели:

1. Процент фагоцитоза (ПФ) – процент фагоцитировавших псевдоэозинофилов из общего числа подсчитанных.

2. Фагоцитарный индекс (ФИ) – среднее число фагоцитированных микробов на один подсчитанный псевдоэозинофил.

3. Фагоцитарное число (ФЧ) – среднее число фагоцитированных микробов на один активный псевдоэозинофил.

4. Процент переваривания (ПП) – отношение числа убитых микробов к общему числу фагоцитированных микробов.

5. Индекс переваривания (ИП) – среднее число убитых микробов на один подсчитанный псевдоэозинофил.

Лизоцимную и бактерицидную активность сыворотки крови определяли по В.Г. Дорофейчику (1966).

Полученный цифровой материал был статистически обработан с помощью компьютерной программы Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Нами при исследовании неспецифических факторов защиты сыворотки крови цыплят-бройлеров было установлено, что на 7-й день после вакцинации бактерицидная активность сыворотки крови у птицы 2-й группы была достоверно выше – на 41,77%, чем у интактной и составляла $40,89 \pm 0,98$, $P < 0,001$; $23,81 \pm 0,68$ соответственно (Таблица 1).

Таблица 1 – Бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови цыплят, вакцинированных против реовирусного теносиновита ($M \pm m$, P)

Группы	Показатель	
	Бактерицидная активность	Лизоцимная активность
	Срок исследования	
1	2	3
На 7-й день после вакцинации		
2 группа	$40,89 \pm 0,98$ $P < 0,001$	$3,86 \pm 0,1$ $P < 0,001$
3 группа	$23,81 \pm 0,68$	$2,22 \pm 0,16$
На 14-й день после вакцинации		
1 группа	$36,28 \pm 0,68$ $P < 0,001$	$3,26 \pm 0,12$ $P < 0,05$
2 группа	$39,74 \pm 0,99$ $P < 0,001$ $P_1 > 0,05$	$4,01 \pm 0,17$ $P < 0,05$ $P_1 > 0,05$
3 группа	$25,63 \pm 0,85$	$2,0 \pm 0,03$
На 21-й день после вакцинации		
1 группа	$32,17 \pm 0,44$ $P < 0,001$	$3,18 \pm 0,14$ $P < 0,05$
2 группа	$34,18 \pm 0,65$ $P < 0,001$ $P_1 > 0,05$	$3,51 \pm 0,18$ $P < 0,05$ $P_1 > 0,05$
3 группа	$26,01 \pm 0,49$	$2,38 \pm 0,16$

Примечание: P – по сравнению с 4-й контрольной группой; P_1 – по сравнению с 1-й группой, вакцинированной в суточном возрасте.

Лизоцимная активность сыворотки крови у цыплят 2-й группы на данном сроке исследования превышала таковой показатель у цыплят контрольной группы в 1,74 раза.

На 14-й день после вакцинации сохранилась аналогичная тенденция, что и в предыдущий срок исследования. Так, бактерицидная активность сыворотки крови цыплят контрольной группы была ниже по сравнению с птицей 1-й и 2-й групп в 1,42 и 1,55 раз соответственно. Данный показатель у цыплят первой группы был незначительно ниже, чем у цыплят второй группы и составлял 36,28% и 39,74% соответственно.

Лизоцимная активность сыворотки крови на 14-й день после вакцинации у птицы 1-й и 2-й групп была выше в 1,63 и 2,01 раз соответственно. Данный показатель у цыплят первой группы был незначительно ниже, чем у цыплят второй группы, и составлял 3,26% и 4,01% соответственно.

Бактерицидная активность сыворотки крови у вакцинированных цыплят 1-й и 2-й групп на 21-й день после вакцинации постепенно снижалась по сравнению с предыдущими сроками исследования до 32,17% и 34,18% соответственно. Однако была по-прежнему выше, чем у цыплят контрольной группы, на 19,15% и 23,9% соответственно. Данный показатель у птицы 1-й группы был меньше, чем у цыплят 2-й группы, на 2,01%.

Аналогичная тенденция отмечалась и при исследовании лизоцимной активности сыворотки крови цыплят. Так данный показатель у цыплят первой группы составил $3,18 \pm 0,14$, $p < 0,05$, у цыплят второй – $3,51 \pm 0,18$, $p < 0,05$ и у цыплят контрольной – $2,38 \pm 0,16$.

При изучении фагоцитарной активности псевдоэозинофилов у цыплят, иммунизированных против реовирусной инфекции, нами было установлено, что на 7-й день после вакцинации у цыплят 2-й группы процент фагоцитоза был достоверно выше – на 30,94%, фагоцитарный индекс в 2,35 раз больше, а процент переваривания на 13,61% выше, чем у птицы контрольной группы (Таблица 2).

Таблица 2 – Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов у цыплят, иммунизированных против реовирусной инфекции ($M \pm m$, P)

Группа	Показатель				
	ПФ	ФЧ	ФИ	ПП	ИП
	Срок исследования				
1	2	3	4	5	6
7-й день после вакцинации					
2 группа	$50,8 \pm 2,4$ $P < 0,01$	$3,12 \pm 0,06$ $P > 0,05$	$1,41 \pm 0,16$ $P < 0,01$	$56,77 \pm 2,54$ $P < 0,05$	$1,36 \pm 0,04$ $P > 0,05$
3 группа	$35,08 \pm 2,25$	$1,93 \pm 0,02$	$0,6 \pm 0,03$	$49,04 \pm 2,16$	$0,49 \pm 0,03$

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
14-й день после вакцинации					
1 группа	55,2±2,73 P<0,01	3,35±0,03 P>0,05	1,65±0,23 P>0,05	58,49±2,47 P<0,05	1,56±0,14 P>0,05
2 группа	58,8±2,54 P<0,001 P ₁ >0,05	3,94±0,06 P>0,05 P ₁ >0,05	1,72±0,09 P<0,01 P ₁ >0,05	64,66±2,31 P<0,01 P ₁ <0,05	1,53±0,02 P>0,05 P ₁ >0,05
3 группа	45,8±2,23	3,06±0,11	1,19±0,16	56,34±2,22	1,02±0,06
21-й день после вакцинации					
1 группа	52,0±3,04 P>0,05	2,84±0,02 P>0,05	1,15±0,27 P>0,05	50,65±2,12 P<0,05	1,36±0,14 P>0,05
2 группа	56,6±2,36 P<0,05 P ₁ >0,05	3,18±0,02 P>0,05 P ₁ >0,05	1,27±0,28 P>0,05 P ₁ >0,05	56,86±2,36 P<0,05 P ₁ <0,05	1,47±0,13 P>0,05 P ₁ >0,05
3 группа	48,2±2,64	2,76±0,03	1,14±0,04	49,09±2,41	0,56±0,23

Примечание: Р – по сравнению с 4-й контрольной группой; Р₁ – по сравнению с 1-й группой, вакцинированной в суточном возрасте.

На 14-й день после вакцинации процент фагоцитоза у птицы 1-й и 2-й групп был достоверно выше, чем у интактной птицы, в 1,21 и 1,28 раз соответственно. А данный показатель у цыплят 1-й и 2-й групп незначительно отличался друг от друга и составлял 55,2±2,73 и 58,8±2,54, Р₁>0,05 соответственно.

Процент фагоцитоза на данном сроке исследования у цыплят 1-й и 2-й групп был выше по сравнению с интактной птицей на 3,68% и 12,87% соответственно. Данный показатель у цыплят 2-й группы был выше такового у птицы 1-й группы в 1,11 раз.

В то же время фагоцитарное число, фагоцитарный индекс и индекс переваривания значительно не отличались от аналогичных показателей у цыплят контрольной группы.

К 21 дню исследований фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, процент переваривания существенно не отличались от таковых показателей у цыплят контрольной группы. Процент фагоцитоза у цыплят 1-й и 2-й групп снизился по сравнению с предыдущими сроками исследования до 52,0% и 56,6%, соответственно, однако по прежнему превышал данный показатель у интактных цыплят в 1,08 и 1,17 раз соответственно. В то время как у цыплят 1-й и 2-й групп данный показатель составил 52,0±3,04 и 56,6±2,36, Р₁>0,05 соответственно.

Вывод. Вакцинация цыплят отечественной сухой живой вакциной против реовирусного теносиневита приводит к статистически достоверному повышению фагоцитарной активности псевдоэозинофилов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, что свидетельствует об активизации неспецифических факторов им-

мунной защиты. Существенной разницы данных показателей в зависимости от срока иммунизации цыплят не наблюдается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев, А.С. Реовирусная инфекция птиц / А.С. Алиев // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2005. – №12. – С. 28-32.
2. Алиев, А.С. / Реовирусная инфекция птиц : Обзор иностранной литературы / А.С. Алиев // Ветеринария. – 2002. – №1. – С. 53-57.
3. Бакулин, В.А. Болезни птиц / В.А.Бакулин. – Санкт-Петербург, 2006 – 638с.
4. Вирусные болезни животных / В.Н.Сюрин [и др.] ; под общ.ред. В.Н. Сюрин. – Москва: ВНИТИБП, 1998. – 928с.
5. Киселев, А.И. Тенденции развития мирового и отечественного птицеводства / А.И. Киселев // Наше сельское хозяйство. – 2012. – с. 45-49.
6. Коровин, Р. Основы профилактики вирусных болезней / Р. Коровин, Б. Трефилов // Птицеводство. – 2004. – №8. – с. 5-9.
7. Насонов, И. В. Диагностика и профилактика пневмовирусной и реовирусной инфекций в промышленных стадах птицы / И. В. Насонов, Н. И. Костюк // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария : международный научно-теоретический журнал. – 2008. – № 3. – с. 15-21.
8. Программа развития птицеводства в Республике Беларусь в 2011–2015 годах [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. – [Б. м.], 2013. – Режим доступа: <http://mshp.minsk.by/programs/ebf73c044b612a8a.html>. – Загл. с экрана.
9. Трефилов, Б. Реовирусная инфекция птицы / Б. Трефилов, В. Пругло // Животноводство России. – 2003. – №10. – С. 32-33.
10. Rosenberger, J.K. Viral arthritis / J.K. Rosenberger // Diseases of poultry. – 2003. – № 11. – P. 284-295.
11. S.Leeson Broiler breeder Production / S.Leeson and J.D.Summers. - Nottingham, England: Nottingham University Press Manor Farm, 2009 – с.

УДК 619: 616.98-085.37:636

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ПУЛСАЛ» В КОМПЛЕКСНОЙ ПРОФИЛАКТИКЕ ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В.А. Лазовский

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

(Поступила в редакцию 20.06.2013 г.)

Аннотация. Применение живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота и иммунокорректора Пулсал для комплексной профилактики болезни позволяет формировать у животных напряженный иммунитет и получить экономическую эффективность 7,5 рубля на один рубль затрат, что в 1,7 раза выше, чем применение вакцины без иммунокорректора.

Summary. The associated use of the dry alive vaccine against trichophytosis in cattle and the immune corrector Pulsal for complex prevention of the

disease leads to intensive immunity and economic efficiency 7,5 rubles per 1 ruble of expenditures that is 1,7 times higher than the use of vaccine without the immune corrector.

Введение. В настоящее время промышленное скотоводство характеризуется концентрацией большого поголовья животных на ограниченных территориях. В этих условиях необходимо обеспечить стойкое ветеринарное благополучие животноводческих ферм и комплексов, что можно достигнуть при рациональном и своевременном проведении специфических профилактических мероприятий.

Дерматофитозы сельскохозяйственных животных в Республике Беларусь и других странах мира по-прежнему занимают одно из ведущих мест среди микотических болезней. Одним из опасных и распространенных заболеваний, вызванных различными видами грибов, является трихофития. В последние годы трихофития крупного рогатого скота превратилась в серьезную экономическую и социальную проблему для большинства экономически развитых государств мира, где отмечается рост как спорадических случаев, так и массовых вспышек заболевания. Это заболевание представляет экономическую и медико-социальную проблему, так как больные животные снижают количество и качество продукции, часто служат источником заражения людей. Экономический ущерб от трихофитии у телят складывается из затрат на лечение больных животных, снижения среднесуточных привесов на 12-20%, дополнительных расходов на каждое больное животное до 100 корм. ед. корма, ухудшения качества кожанного сырья и дополнительных затрат труда ветспециалистов на проведение лечебных и профилактических мероприятий.

Согласно данным отчетности Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь с 1999 года в сельскохозяйственных организациях страны трихофития крупного рогатого скота регистрируется в виде единичных случаев, вместе с тем проведенные собственные исследования показали, что болезнь имеет более широкое распространение на животноводческих фермах и комплексах республики.

Основным возбудителем трихофитии крупного рогатого скота в Республике Беларусь является *Trichophyton verrucosum*. На долю этого возбудителя приходится от 11,7 до 61,8% от всех случаев дерматофитозов, однако не исключается этиологическая роль и других возбудителей, в том числе *Trichophyton mentagrophytes*. Возбудитель трихофитии во внешней среде сохраняется в зависимости от места локализации до 8-10 лет. Устойчивость возбудителя во внешней среде, длительный

инкубационный период болезни усложняют работу ветспециалистов в достижении надежного оздоровления хозяйств от трихофитии. Как правило, в неблагополучном хозяйстве заболевание имеет тенденцию к стационарности.

Специфическая профилактика занимает ведущее место в комплексе мероприятий по недопущению возникновения и распространения трихофитии. В Республике Беларусь прививают против трихофитии весь молодняк крупного рогатого скота общественного сектора с 30-дневного возраста. Несмотря на широкое применение вакцин отечественного и зарубежного производства, в последнее время наблюдаются участвовавшие случаи заболевания крупного рогатого скота трихофитией. Согласно литературным данным, указанные биопрепараты позволяют создать напряженный иммунитет у животных в идеальных условиях, и профилактическая эффективность достигает 90-95%. Однако результаты наших исследований показывают, что после применения вакцин отмечается заболевание телят трихофитией в 4-5% случаев. Это связано со снижением иммунологической реактивности организма, обусловленное нарушением кормления, ветеринарно-санитарных и зоогигиенических норм содержания животных, присутствием сопутствующих заболеваний. Снижение реактивности организма ведет к ослаблению иммунного ответа при вакцинации и созданию иммунитета недостаточной напряженности. Важной причиной такого состояния организма являются иммунные дефициты: врожденные, возрастные, приобретенные, возникающие в результате дефицита питания, недостатка белков, витаминов и микроэлементов; влияния физических факторов, длительного воздействия лекарственных веществ, повышенного расхода защитных факторов, а также иммунодепрессивного действия некоторых возбудителей инфекционных и инвазионных болезней, что приводит иногда к прорыву иммунитета. В условиях промышленного животноводства на организм животных воздействуют стресс – факторы химического, физического, биологического, технологического и кормового происхождения.

Перспективным направлением с целью повышения иммунологической реактивности организма животных является разработка методов иммунокорректирующей терапии и профилактики заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных с использованием иммунокорректоров производных бактерий и других биологически активных веществ.

«Пулсал» представляет собой водный раствор, содержащий в качестве действующего вещества химически модифицированную липид-полисахариднополипептидную фракцию О-соматического антигена сальмонеллезных бактерий группы D₁, который стимулирует неспеци-

фическую и специфическую гуморальную защиту: лизоцимную, бактерицидную активность сыворотки крови, продукцию иммуноглобулинов и цитокинов, усиливает лейкопоз, фагоцитарную активность микро- и макрофагов, образование Т- и В-лимфоцитов.

Цель работы – изучить реактогенность и иммунологическую эффективность живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота с применением препарата «Пулсал».

Материал и методика исследований. Исследования проводились в условиях ЗАО «Липовцы» Витебского района Витебской области, кафедры эпизоотологии и НИИ экспериментальной ветеринарии и биотехнологии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». Для проведения исследований было сформировано 2 группы телят по 30 животных в каждой. Животным первой (опытной) группы вводили живую сухую вакцину против трихофитии крупного рогатого скота и препарат «Пулсал», телятам второй (контрольной) группы – вводили живую сухую вакцину против трихофитии крупного рогатого скота (производства ОАО «БелВитунифарм»), применяемую в хозяйстве постоянно.

Перед иммунизацией и после нее животных тщательно осматривали ветеринарные специалисты хозяйства и сотрудники УО «ВГАВМ». Во время проведения опытов телят не подвергали химио- и вакцинотерапии против других болезней. Вакцинированных животных содержали в изолированных станках, и каждый из них имел индивидуальный ушной номер.

Иммунизация телят обеих групп проводилась по следующей схеме: на 10-15 день после формирования производственных групп телят (30-45 день жизни) им вводилась вакцина двукратно с интервалом 10 дней в дозах по 5 см³ для телят первой и второй групп, повторно вводили вакцины в тех же дозах. Животным 1-й группы подкожно применяли препарат «Пулсал» в дозе 5 см³ также двукратно.

Об эффективности опытной серии биопрепарата судили по следующим тестам: клиническое наблюдение за животными в течение 30 дней после иммунизации с определением общей и местной реакции организма, определения количества лейкоцитов, уровня общего белка, белковых фракций, иммуноглобулинов, фагоцитарной активности нейтрофилов, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови, уровня трихофитийных антител в РА, превентивных свойств сыворотки крови.

Для контроля иммунобиологических показателей у 15 телят опытной группы и 15 телят контрольной, до и через 10 после первой и 10, 20 дней после второй вакцинации производили взятие крови.

О реактогенности вакцины с применением препарата «Пулсал» и состоянием иммунного ответа судили по следующим тестам: клиническим состоянием животных после иммунизации с определением общей и местной реакции организма, по гематологическим показателям и высоте титра антител в РА.

Результаты исследований и их обсуждение. Установлено, что через 10 дней после первой вакцинации в крови животных 1 группы увеличилось количество лейкоцитов на 21,4%, тромбоцитов – на 11,0%, альбуминов – на 1,2%, гаммаглобулинов – на 32%, фагоцитарная активность – на 4,2%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно на 4,6% и 7,9%.

Через 10 дней после второй вакцинации количество лейкоцитов увеличилось на 35,4%, тромбоцитов – на 46,0%, альбуминов – на 7,8%, гаммаглобулинов – на 21,1%, фагоцитарная активность – на 12,5%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно – на 9,9% и 17,1%. Через 20 дней количество лейкоцитов увеличилось на 5,3%, тромбоцитов – на 38,5%, количество альбуминов снизилось на 25,4%, гаммаглобулинов увеличилось – 90%, фагоцитарная активность – на 12%, бактерицидная активность и лизоцимная активность соответственно – на 6,8% и 11,5%.

У животных 2 группы через 10 дней после первой вакцинации, количество лейкоцитов увеличилось на 22,1%, тромбоцитов – на 6,4%, альбуминов – на 1,5%, гаммаглобулинов – на 14,6%, фагоцитарная активность – на 5,8%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно – на 4,7% и 4,3%. Через 10 дней после второй вакцинации количество лейкоцитов увеличилось на 26,5%, тромбоцитов – на 30%, альбуминов – на 6,4%, гаммаглобулинов – на 11,4%, фагоцитарная активность – на 13,9%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно – на 9,4% и 11,6%. Через 20 дней после вакцинации количество лейкоцитов увеличились на 15,4%, тромбоцитов – на 22,8%, количество альбуминов снизилось – на 15,6%, гаммаглобулинов увеличилось – на 22,9%, фагоцитарная активность – на 16%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно – на 7,4% и 8,5%.

Одновременно в сыворотке крови животных определяли количество антигенсвязывающих клеток в РА. Полученные результаты исследований показали, что в сыворотке крови телят 1 и 2 групп до иммунизации противотрихофитиных агглютининов не обнаружено. Через 10 дней после первой вакцинации титр агглютинирующих антител в сыворотке крови телят обеих групп составил 1:40 - 1:80. Через 10 дней после второй вакцинации титр агглютинирующих антител в первой группе составил 1:160 – 1:320, во второй – 1:80-1:160. Через 20 дней

произошло нарастание титра антител у животных первой группы до 1:320 – 1:640, во второй – до 1:160-1:320. Через 30 дней после иммунизации в сыворотке крови животных первой группы их содержание возросло до 1:640 - 1:1280, а у животных контрольной группы этот показатель составил 1:320-1:640.

В течение 30 дней после вакцинации проводили клиническое наблюдение за состоянием привитых животных. За период наблюдения физиологических отклонений в организме телят опытной группы не наблюдалось. Температура тела после вакцинации увеличивалась на 0,5-0,7⁰С, что не выходит за пределы физиологической нормы. Животные охотно принимали корм и воду.

Через 10-15 дней после второго введения вакцины на месте инъекции образовывались локализованные поверхностные корочки диаметром 15-20 мм, которые на 20-25 день самопроизвольно отторгались и не требовали обработки лечебными средствами. У телят контрольной группы отторжение корочек происходило на 25-30 день.

Таким образом, применение живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота и иммунокорректора «Пулсал» для комплексной профилактики не повышает реактогенности вакцины, а позволяет формировать у животных напряженный иммунитет и получить экономическую эффективность 7,5 рубля на один рубль затрат, что 1,7 раза выше, чем применение вакцины без иммунокорректора.

Заключение. Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что применение живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота и иммунокорректора «Пулсал» для комплексной профилактики не вызывало повышения реактогенности вакцины, отклонений со стороны функций сердечно-сосудистой системы, органов дыхания и других систем не отмечалось. На более высоком уровне стимулируется неспецифическая и специфическая гуморальная защита: лизоцимная, бактерицидная активность сыворотки крови, усиливается лейкопоэз, фагоцитарная активность микро- и макрофагов, образование Т- и В-лимфоцитов. В поствакцинальный период вызывает у иммунизированных животных образование противотрихофитийных антител на более высоком уровне по сравнению с применением живой сухой вакцины без иммунокорректора, а экономическая эффективность составляет 7,5 рубля на один рубль затрат, что 1,7 раза выше в сравнении с применением одной вакцины.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Алешкевич, В.Н. Трихофития крупного рогатого скота.– Витебск : ВГАВМ, 2011.–258 с.
2. Алешкевич, В. Н. К вопросу о трихофитии крупного рогатого скота // В. Н. Алешкевич, В. С. Прудников, Н. И. Лабусова // Ученые записки ВГАВМ. – 2000. - Т. 36. - Ч. 1. - С 6-7.

3. Иммунология: учеб. пособие /П. А. Красочко, Ю. Н. Федоров, В. С. Прудников и др.; под. Ред. П. А. Красочко, Н. Д. Лисова. – Мн.: Аверсэв, 2005. -107с.
4. Лазовский, В. А. Эпизоотическая ситуация и профилактика трихофитии крупного рогатого скота / В. А. Лазовский // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал / Витебская государственная академия ветеринарной медицины ; ред. А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2006. – Т. 42, вып. 2, ч. 1 (июль - декабрь) – С. 118–121.
5. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович, В.В. Зайцев, Г.Э. Дремач и др // Ветеринарная наука - производству: научные труды / Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского НАН Беларуси; ред. А.П. Лысенко. - Минск, 2005. – Вып. 38: Материалы Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы ветеринарной медицины в условиях современного животноводства ", посвященной 75-летию ИЭВ им. С.Н. Вышеслесского и 100-летию со дня рождения Р.С. Чеботарева. - С.359-361.
6. Moretti, A., Boncio, L., Pasquali, P., Piergili Fioretti, D. Epidemiological aspects of dermatophyte infections in horses and cattle // J.veter.Med.Ser.B.-1998.-Vol/ 45, № 4. – P.205 – 208. et. al., 1990.

УДК 619: 616.98-085.37:636

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА ПАСТЕРЕЛЛЕЗА И ТРИХОФИТИИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ПРИМЕНЕНИИ ВАКЦИН

В.А. Лазовский

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

(Поступила в редакцию 29.06.2013 г.)

Аннотация. Одновременная вакцинация против пастереллеза и трихофитии крупного рогатого скота не проявляется реактогенностью вакцин и угнетением иммунного ответа на их введение. Использование метода одновременной вакцинации позволяет формировать у животных напряженный иммунитет против двух болезней и снизить затраты на ветеринарные мероприятия в 1,4 раза.

Summary. The simultaneous vaccination against bovine pasteurellosis and trichophytia does not appear reactogenicity of vaccines and immune response to the oppression of their introduction. Using the method of simultaneous vaccination can generate intense immunity in animals against the two diseases and reduce the cost of veterinary measures in 1.4 times.

Введение. В настоящее время при интенсивном ведении животноводства на крупных фермах и промышленных животноводческих комплексах повышается опасность вспышек и распространения заразных болезней, в том числе и таких, которые ранее не наносили серьез-

ного ущерба. В животноводческих хозяйствах страны значительное распространение имеют респираторные, желудочно-кишечные и кожные болезни, которые наносят существенный экономический ущерб. Некоторые инфекционные болезни благодаря своевременной профилактики не регистрируются или имеют ограниченное распространение, однако представляют потенциальную опасность.

Большая концентрация животных на ограниченных площадях изменяет закономерности течения многих болезней, что требует пересмотра ряда положений по содержанию животных и организации ветеринарного обслуживания. Повышением экономической эффективности ветеринарных мероприятий в значительной мере связано с повышением производительности труда ветеринарных работников, снижение затрат на профилактику заразных болезней и лечения животных с применения более эффективных биопрепаратов, методов и организационных форм проведения противозoonотических и лечебных мероприятий.

Среди инфекционных болезней, регистрируемых у крупного рогатого скота, в хозяйствах республики значительное распространение имеют пастереллез и трихофития. По количеству неблагополучных пунктов, заболевших и павших животных, пастереллез занимает третье место после колибактериоза и сальмонеллеза.

Возрастная восприимчивость телят к пастереллезу и трихофитии в неблагополучных хозяйствах практически одинаковая – с 30-дневного возраста и преимущественно до 1 года. Кроме того, отмечается тождественная сезонность при данных инфекциях – осенне-зимне-весенние периоды.

Пастереллы и трихофитоны потенциально опасны для здоровья человека, причем большинство случаев заболеваний у людей наблюдаются после контактов с больными животными.

В комплексе мер борьбы с трихофитией и пастереллезом крупного рогатого скота важное место отводится вакцинопрофилактике. Для специфической профилактики в республике применяют вакцины отечественного и зарубежного производства. В настоящее время активная иммунизация телят против пастереллеза и трихофитии проводится раздельно моновакцинами, что требует определенных затрат средств, времени и труда ветеринарных специалистов. Использование моновакцин растягивает сроки прививок, что затрудняет создание иммунитета у животных в короткие сроки. Применение метода одновременной вакцинации телят против указанных болезней имеет большое преимущество по сравнению с раздельной вакцинацией, так как экономит средства, рабочее время и труд ветспециалистов и животноводов.

При отработанной, рассчитанной с учетом местных факторов системе профилактических мероприятий с применением высокоэффективных вакцин пастереллез и трихофитию крупного рогатого скота можно реально искоренить. Такая крупная задача осуществима при участии международных организаций (ВОЗ, МЭБ, ФАО, ЮНЕП и ветеринарных ассоциаций стран мира).

Цель работы – изучить реактогенность вакцин и состояние иммунного ответа при одновременной иммунизации телят против пастереллеза и трихофитии.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в условиях сельскохозяйственных организаций Витебского района Витебской области, кафедры эпизоотологии и НИИ экспериментальной ветеринарии и биотехнологии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». Для проведения исследований было сформировано 4 группы телят по 20 животных в каждой. Животным первой группы одновременно вводили полужидкую гидроокисьюалюминиевую вакцину против пастереллеза крупного рогатого скота и буйволов и живую сухую вакцину против трихофитии крупного рогатого скота, телятам второй группы – полужидкую гидроокисьюалюминиевую вакцину против пастереллеза крупного рогатого скота и буйволов, животным третьей группы – живую сухую вакцину против трихофитии крупного рогатого скота и четвертая группа (контрольная) – интактные животные. Для вакцинации применяли биопрепараты производства ОАО «БелВитунифарм» Республики Беларусь.

Перед иммунизацией и после нее животных тщательно осматривали ветеринарные специалисты хозяйства и сотрудники УО ВГАВМ. Во время проведения опытов телят не подвергали химио- и вакцинотерапии против других болезней. Вакцинированных животных содержали в изолированных станках и каждый из них имел индивидуальный ушной номер.

Иммунизация телят опытных групп проводилась по следующей схеме: вакцину против пастереллеза вводили двукратно с интервалом 10 дней в дозах 5 см³ и 10 см³ в область средней трети шеи внутримышечно, вакцину против трихофитии – в дозе 5 см³ и 5 см³ внутримышечно в область ягодичных мышц. Интактным животным вводили внутримышечно стерильный физиологический раствор в дозах 1 см³ и 1 см³ с тем же интервалом, что и вакцины.

О реактогенности вакцин и состоянием иммунного ответа при одновременной иммунизации судили по следующим тестам: клиническим состоянием животных после иммунизации с определением об-

щей и местной реакции организма, по гематологическим показателям и высоте титра антител в РА.

У телят опытных и контрольной групп до и через 7 дней после первой вакцинации и 7, 14 и 21 дней после второй брали кровь для гематологического и серологического исследования.

Результаты исследований и их обсуждение. Установлено, что при одновременной иммунизации телят против пастереллеза и трихофитии у животных отмечали незначительное повышение температуры тела. В течение первого дня после иммунизации температура тела повысилась на $0,3^{\circ}\text{C}$, на второй день на $0,78^{\circ}\text{C}$ и составила $39,7^{\circ}\text{C}$. Достоверное увеличение ее также было зарегистрировано на третий день после вакцинации и составило $39,3^{\circ}\text{C}$. В течение последующих пяти дней температура тела иммунизированных животных нормализовалась до пределов физиологической нормы. При раздельном способе вакцинации температура тела животных повысилась в течение первого дня на $0,24^{\circ}\text{C}$, второго – $0,52^{\circ}\text{C}$, к четвертому и пятому возвращалась к норме.

В местах введения биопрепаратов образовывался небольшой отек, который в течение двух суток рассасывался. Общее состояние телят опытных групп было удовлетворительное, снижение аппетита не наблюдалось, животные охотно принимали корм и воду. Через 10-15 дней после второго введения живой сухой вакцины против трихофитии на месте инъекции образовывались локализованные поверхностные корочки диаметром 15-20 мм, которые на 20-25 день самопроизвольно отторгались.

Отклонений со стороны функций сердечно-сосудистой системы, органов дыхания и других систем не отмечалось. Это свидетельствует о том, что одновременная иммунизация телят полужидкой гидроокись-алюминовой вакциной против пастереллеза крупного рогатого скота и буйволов и живой сухой вакциной против трихофитии крупного рогатого скота не усиливает реактогенность применяемых вакцин.

У животных контрольной группы, которым вводили физиологический раствор, температура тела оставалась в пределах физиологической нормы, общее состояние не изменялось. Отклонений со стороны работы пищеварительной, сердечно-сосудистой системы и органов дыхания выявлено не было.

Изменение картины периферической крови отражает функциональные сдвиги в различных органах и системах организма, поэтому ее изучение имеет важное значение для расшифровки иммуногенеза при одновременной и раздельной вакцинаций против пастереллеза и трихофитии.

В результате исследований было установлено:

На 7-ой день после первой иммунизации в периферической крови вакцинированных животных 1-ой группы увеличивалось количество лейкоцитов на 12,9% и составило $11,12 \pm 0,7,2 \cdot 10^9/\text{л}$ по сравнению с показателями в контрольной группе и было больше на 3,8%, чем эти показатели у телят 2-ой группы. Количество эритроцитов и содержание гемоглобина оставалось без существенных изменений во всех группах. Число лимфоцитов у животных первой группы увеличилось на 4,8% и составило $60,4 \pm 1,28\%$, этот показатель был выше, чем у телят 2-ой группы 2,7% и 3-ей на 3,4%. Количество палочкоядерных нейтрофилов увеличилось с $6,2 \pm 0,8\%$ до $8,0 \pm 0,7\%$ у животных 1-ой группы и было выше на 2,1% и 2,5% с показателями во второй и третьей группах. Число сегментоядерных нейтрофилов снизилось у телят всех групп.

На 7-ой день после второго введения вакцин было установлено, что количество лейкоцитов продолжало возрастать (на 15,6%) и составило у животных 1-ой группы $14,1 \pm 1,46 \cdot 10^9/\text{л}$, что выше на 6,2%, чем у телят 2-ой группы, и 6,8% – третьей группы. Количество эритроцитов и уровень гемоглобина незначительно повысился у животных всех опытных групп. Число лимфоцитов у телят 1-ой группы достоверно возросло на 3,6% и было выше на 2,8%, чем у животных 2-ой группы и 3,3% – в третьей. Количество палочкоядерных нейтрофилов увеличилось на 27,5% у животных 1-ой группы и было выше на 8,8% с показателем во 2-ой группе, 10,8% – третьей группы. Число сегментоядерных нейтрофилов снизилось у телят опытных групп на 27,5%, 22% и 17% соответственно.

На 14-ый день после первой иммунизации в периферической крови, вакцинированных животных 1-ой группы количество лейкоцитов увеличилось на 7,8% и составило $15,2 \pm 1,59 \cdot 10^9/\text{л}$, а у телят 2-ой группы этот показатель был ниже на 2,7%, в третьей – на 3,3%. Количество эритроцитов и содержание гемоглобина оставалось без существенных изменений во всех группах. Число лимфоцитов у животных первой группы увеличилось на 4,7% и составило $65,6 \pm 1,43\%$, этот показатель был выше, чем у телят 2-ой группы, на 3,1%, третьей – на 3,4%. Количество палочкоядерных нейтрофилов увеличилось с $10,2 \pm 0,96\%$ до $12,4 \pm 1,21\%$ у животных 1-ой группы и было выше на 9,7% с уровнем показателей во второй группе и 12,7% в третьей. Число сегментоядерных нейтрофилов продолжало снижаться у телят всех групп на 25,3%, 24,4% и 21,4% соответственно.

На 21-ый день после второго введения вакцин было установлено снижение количества лейкоцитов (на 15,2%) и составило у животных 1-ой группы $12,9 \pm 1,17 \cdot 10^9/\text{л}$, этот показатель был выше на 1,2%, чем у

телят 2-ой группы и 1,5% – в третьей группе. Количество эритроцитов и содержание гемоглобина оставалось без существенных изменений во всех группах. В этот срок исследования также установлено незначительное снижение количества лимфоцитов и палочкоядерных нейтрофилов, и эти показатели у животных всех опытных групп значительно не отличались между собой.

Следовательно, в опытах установлено, что в поствакцинальный период при одновременной и раздельных иммунизациях отмечается лейкоцитоз, лимфоцитоз и нейтрофилия.

Количество общего белка сыворотки крови у телят иммунизированных одновременно против пастереллеза и трихофитии через 7 и 14 дней после первой вакцинации и через 7, 14 и 21 день после второй составляло соответственно $71,8 \pm 1,24$, $72,3 \pm 1,9$, $73,1 \pm 1,86$ г/л, у животных контрольной группы этот показатель составил $69,0 \pm 1,2$ г/л. Увеличение количества общего белка сыворотки крови отмечалось и у телят, иммунизированных раздельно моновакцинами против указанных болезней.

Одновременно в сыворотке крови животных определяли количество антигенсвязывающих клеток к возбудителям пастереллеза и трихофитии. Полученные результаты исследований показали, что до иммунизации титр пастереллезных агглютининов у телят колебался от $3,65 \pm 0,17$ до $3,98 \pm 0,16 \log_2$, а противотрихофитиных агглютининов обнаружено не было.

После одновременной иммунизации телят против пастереллеза и трихофитии и раздельной вакцинации против пастереллеза титр противопастереллезных агглютининов резко возрастал.

У телят, вакцинированных одновременно против двух инфекций, титр противопастереллезных агглютининов составлял через 7 дней после первой иммунизации $5,74 \pm 0,35 \log_2$, через 14 дней – $6,18 \pm 0,17 \log_2$.

Через 7 и 21 день после второй вакцинации титр противопастереллезных агглютининов увеличивался и составил соответственно $7,82 \pm 0,34 \log_2$ и $8,65 \pm 0,34 \log_2$.

У телят, иммунизированных раздельно против пастереллеза полужидкой гидроокисьалюминиевой вакциной против пастереллеза крупного рогатого скота и буйволов, динамика титра специфических агглютининов наблюдалась такая же, как и у животных, иммунизированных одновременно против пастереллеза и трихофитии.

Титр противотрихофитиных агглютининов у телят при одновременной вакцинации против пастереллеза и трихофитии на 7-й день после первой прививки составил $3,65 \pm 0,17 \log_2$, при моновакцинации

против трихофитии живой сухой вакциной против трихофитии крупного рогатого скота $4,74 \pm 0,34 \log_2$.

На 14-й день после второй одновременной иммунизации животных титр противотрихофитиных агглютининов составил $5,42 \pm 0,17 \log_2$, при раздельной – $6,08 \pm 0,32 \log_2$.

Через 21 день после второй вакцинации у животных, иммунизированных одновременно, титр противотрихофитиных агглютининов составил $7,12 \pm 0,32 \log_2$, а у телят, привитых моновакциной, – $6,94 \pm 0,32 \log_2$.

Таким образом, иммунобиологическая перестройка организма при введении вакцинных антигенов характеризуется появлением специфических антител в сыворотке крови телят на высоком уровне как при одновременной, так и при раздельных вакцинациях без существенных отличий.

Экономическая эффективность при одновременной вакцинации против пастереллеза и трихофитии, согласно нашим расчетам составляет 4,3 рубля на один рубль затрат, что позволяет снизить затраты на ветеринарные мероприятия в 1,4 раза.

Заключение. Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что применение одновременной вакцинации против пастереллеза и трихофитии крупного рогатого скота не вызывало реактогенности вакцин, отклонений со стороны функций сердечно-сосудистой системы, органов дыхания и других систем не отмечалось. В поствакцинальный период при одновременной и раздельной иммунизации отмечается лейкоцитоз, лимфоцитоз и нейтрофилия. Иммунобиологическая перестройка организма при введении вакцинных антигенов характеризуется появлением специфических антител в сыворотке крови телят на одном и том же уровне как при одновременной, так и при раздельной вакцинации. Экономическая эффективность при одновременной вакцинации против пастереллеза и трихофитии согласно нашим расчетам составляет 4,3 рубля на один рубль затрат, что позволяет снизить затраты на ветеринарные мероприятия в 1,4 раза, за счет повышения производительности труда, экономии трудовых и материальных ресурсов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенов А.М. Задачи ветеринарной медицины в стабильном развитии животноводства республики / А.М. Аксенов // Современные вопросы патологии сельскохозяйственных животных : материалы междунар. Науч. – практ. Конф., Минск, 23-24 октября 2003 года. – Минск, 2003. – С. 3-6.
2. Лях Ю. Г. Специфическая профилактика в комплексе мер борьбы с пастереллезом крупного рогатого скота / Ю. Г. Лях, Н. Н. Андросик, И. С. Шляхто // Ветеринарная наука – производству: сб. науч. тр. – Минск : Хата, 1999. – Вып. 34. – С. 136-141.
3. Алешкевич В.Н. Трихофития крупного рогатого скота. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 265 с.

4. Алешкевич В. Н. К вопросу о трихофитии крупного рогатого скота // В. Н. Алешкевич, В. С. Прудников, Н. И. Лабусова // Ученые записки ВГАВМ. – 2000. - Т. 36. - Ч. 1. - С 6-7.
5. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические: Справочник / Б.И. Антонов, Т.Ф. Яковлева, В.И. Дерябина и др.; Под ред.Б.И. Антонова.- М.: Агропромиздат, 1991.- 287 с.
6. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович, В.В. Зайцев, Г.Э. Дремач и др // Ветеринарная наука - производству: научные труды / Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского НАН Беларуси; ред. А.П. Лысенко. - Минск, 2005. – Вып. 38: Материалы Международной научно-практической конференции " Актуальные проблемы ветеринарной медицины в условиях современного животноводства ", посвященной 75-летию ИЭВ им. С.Н. Вышеслесского и 100-летию со дня рождения Р.С. Чеботарева. - С.359-361.
7. Лях Ю. Г. Пастереллез в структуре инфекционных заболеваний свиней и крупного рогатого скота в Беларуси / Ю.Г. Лях, Л.А. Крот, Л.Н. Прибыш // Ветеринарная медицина в Беларуси. – Минск, 2004. – № 4. – С. 5-6.
8. Диагностика, профилактика, лечение и меры борьбы с пастереллезом сельскохозяйственных животных : методические рекомендации / Ю.Г. Лях, А.Ю. Финогенов, Ю.А. Пивоварчик, Л.А. Крот. – Минск, 2004. – 27 с.

УДК 619.618.19.002

МОРФОЛОГИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ И ЕЕ РЕАКЦИЯ ПРИ РАЗВИТИИ МАСТИТА

В.В. Малашко, А.В. Башура, Дм.В. Малашко, А.С. Вилькевич

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 08.06.2013 г.)

Аннотация. *Исследованы структурные изменения в молочной железе коров при разных формах мастита. Установлена комплексная реакция на патологический процесс, включающий компенсаторно-приспособительные перестройки железистых и стромальных структур и микроциркуляторного русла молочной железы коров.*

Summary. *Structural changes of mammary gland in cows with different forms of mastitis have been studied. As a result, we have stated complex reaction on the pathological process, including compensatory and adaptive rearrangements of glandular and stromal structures, as well as of microcirculatory channel in a mammary gland of cows.*

Введение. Лактационная функция присуща лишь женскому организму – одному из наиболее высокоорганизованных классов позвоночных. Мелочная железа и способность вскармливать новорожденных детенышей молоком является одним из довольно поздних филогенетических приобретений в эволюции позвоночных и представляет пример

важнейшего эволюционного скачка [1]. У современных видов млекопитающих молочная железа как система клеток и тканей, выполняющих специфическую функцию, обнаруживает общность основных принципов организации и функциональных отпавлений для всех видов млекопитающих [2].

Молочная железа всех млекопитающих представляет сложноорганизованный орган, состоящий из ряда тканей, среди которых различают секреторную, или паренхиматозную (железистую), тесно связанную с протоковыводящей системой, миоэпителиальную и гладкомышечную, соединительную (строму) и жировую, кровеносные и лимфатические сосуды, а также нервы с их окончаниями [3, 4].

Особенности секреторного цикла в клетке молочной железы издавна привлекали внимание исследователей [5]. Наряду с голо- и апокриновым типами секреции в молочной железе выявлен и мерокриновый тип. При этом типе секреции капля секрета (жира), продвигаясь к апикальной части клетки, оттесняет к базальной мембране цитоплазму и ядро. Апикальная плазмалемма обтекает жировую каплю и отрывается вместе с ней, не увлекая за собой фрагментов цитоплазмы [6]. Таким образом, в молочной железе могут иметь место как апокриновый, так и мерокриновый типы секреции. Голокриновый тип секреции – скорее исключение.

Из секреторных клеток продукты секрета выделяются по мере их синтеза. Существует пять основных фаз секреторного цикла эпителиальных клеток молочной железы: поглощение (сорбция) клеткой накопления предшественников молока, приносимых в нее из крови и тканевой жидкости; внутриклеточный синтез сложных молекул в результате внутриклеточного метаболизма; формирование синтезируемого продукта в гранулы или капли секрета; продвижение их к апикальному участку клетки (внутриклеточный транспорт); выход (экструзия) секрета из клетки в просвет альвеолы, после чего наблюдаются восстановление исходной структуры клетки и начало нового цикла [7].

У коров, в отличие от других животных, в сосках обнаруживаются сложные и крупные чувствительные нервные окончания, очень похожие на окончания в руке человека. Сосковый канал известен еще под названием «полосатого канала». Для усиления сфинктера верхний конец соскового канала снабжен широкой складкой слизистой оболочки «розетка Фюрстенберга». Прижимаясь книзу, розетка закрывает отверстие канала и препятствует вытеканию молока. У 19-37% коров такой складки не существует.

Кожа сосков не имеет волос, потовых и сальных желез, но увеличивается содержание мышечной ткани, утолщение эпидермиса. Эпи-

дермис кожи в соске имеет до 35-40 клеточных слоев, которые врастают в дерму соска [8]. Соски защищены от низкой температуры развитыми артерио-венозными анастомозами типа замыкающих артерий. Слизистая оболочка соска покрыта многослойным ороговевающим эпителием и становится менее прозрачной [9]. Поверхность протока покрыта массой слущенных (десквамированных) клеток. Слизистая оболочка протока содержит бактериостатические и бактерицидные вещества, липиды, в первую очередь, жирные кислоты (лавровую, миристиновую, олеиновую, линоленовую). Данный продукт имеет сходство с кожным салом, поэтому его называют «молочным салом – лактосебум - lactosebum». Лактосебум оказывает бактерицидное действие на *Str. agalactiae* и др. микробы. Кератинизация (особенно у старых коров) снижает защитные свойства лактосебума [10]. Если в содержимом канала сосков содержится жирных кислот (лавровой, миристиновой) до 20 мг, то в данном случае коровы реже болеют маститом, а наличие в сосках в преобладающем количестве олеиновой и линоленовой кислот – высокая восприимчивость животных к маститу.

Барьерная функция сосков против микробов сразу после доения довольно значительная и медленно повышается в течение первых 30 мин, через 120 мин барьерная функция снижается (до минимальной) на 72-76%, после чего в интервале 120-140 мин наблюдается подъем на 55% от первоначального периода и держится в течение 4-8 часов после доения. По физиологической норме канал остается открытым после машинного доения в течение 30-40 мин, но чаще этот процесс затягивается до 1-2 часов и более. Поврежденные соски и при мастите они остаются частично открытыми на постоянной основе.

В зависимости от массы вымени отмечается различное соотношение тканей вымени: при массе вымени свыше 20 кг: интерстициальная ткань составляет 13,2%, жировая ткань – 8,1%, просветы альвеол – 62,7%, межальвеолярная ткань – 7,9%. Паренхима железы включает: количество альвеол на 3 мм^2 – 122, объем альвеол – 16669 мкм^3 . При массе вымени 10-15 кг соотношение тканей следующее: интерстициальная ткань составляет 12,9%, жировая ткань – 7,9%, просветы альвеол – 61,2%, межальвеолярная ткань – 6,5%. Паренхима железы включает: количество альвеол на 3 мм^2 – 152, объем альвеол – 149345 мкм^3 . У старых коров количество интерстициальной ткани увеличивается до 23%, а жировой ткани уменьшается – с 11,4% до 8,0% [11].

Микробы в вымени преимущественно локализуются в цистернах и более крупных молочных протоках, т.к. мелкие молочные протоки секретируют лизоцим, что препятствует проникновению микробов в верхние части вымени. В крупных молочных протоках и цистернах

температура более низкая, что является «комфортной средой» для развития микробов.

Существенный «недостаток» молочной железы – низкая способность противостоять инфекции за счет малого количества соединительной ткани, которая выполняет защитную функцию, отсутствует заметная фагоцитарная способность эндотелиоцитов капилляров, например, в отличие от печени и селезенки, выводящая система вымени сообщается с внешней средой – источником инфекции.

Цель работы – изучить морфологические и иммунологические особенности реакции молочной железы коров и дать оценку качества молока при мастите.

Материал и методика исследований. Исследовались образцы молочной железы коров, больных субклиническим, катарально-геморрагическим и гнойным маститом. Всего было исследовано 47 тканевых образцов и 26 проб от клинически здоровых животных, выбранных по причине болезней опорно-двигательного, пищеварительного и дыхательного аппаратов. Материал отбирался на ОАО «Гродненский мясокомбинат» на протяжении 2010-2013 годов.

Биоптаты вымени фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалином по Р. Лилли, жидкости И. Карнуа, фиксаторе ФСУ А. М. Бродского, 70° спирте, а для проведения гистохимических исследований биоматериал замораживали в жидком азоте ($t = -196^{\circ}\text{C}$) в сосуде Дьюара. Для получения обзорной информации структурных компонентов молочной железы гистосрезы окрашивали гематоксилин - эозином по П. Эрлиху, прочным зеленым по И. Ван Гизону, эозином – метиленовым синим по Лейшману, альциновым синим с докраской ядер гематоксилином. Микроциркуляторное русло молочной железы выявляли по методу В. В. Куприянова. Для электронно-микроскопического исследования ткань фиксировалась в 2%-й раствор глутарового альдегида. В последующем ткани помещали в 5% раствор глутарового альдегида на 2 часа. Глутаровый альдегид готовился на 0,1М фосфатном буфере pH 7,2-7,4 и фиксировали при $t + 4^{\circ}\text{C}$. Затем изготавливали кубики с длиной края 1-1,5 см. После 3-кратной промывки в 0,1М фосфатном буфере материал обрабатывали 2%-ым раствором четырехокси осмия, дегидрировали в спиртах, возрастающей концентрации, контрастировали уранил ацетатом и заключали в аралдит. Срезы готовили на ультрамикротоме ЛКБ (Швеция), контрастировали цитратом свинца и просматривали под микроскопом JEM -100B и JEM-100CX «JEOL» (Япония).

Результаты исследований и их обсуждение. Технологическая эксплуатация здоровой лактирующей коровы в качестве физиологической машины по производству молока требует особого контроля усло-

вий для полноценной реализации соответствующих процессов в ее организме по превращению питательных веществ корма в самую совершенную для человека пищу – молоко. Молочная железа включает секреторный, или железистый, отдел и емкостную систему, состоящую из выводных протоков и цистерн. Сократительные элементы выводящего аппарата представлены миоэпителиальными клетками альвеол и мелких протоков, а также гладкомышечными клетками крупных выводных протоков, цистерн и соскового сфинктера.

Как показывают наши исследования, защитный механизм вымени зависит в основном полиморфноядерных лейкоцитов, количество которых при мастите может достигать до 90% от всех соматических клеток молока. Вместе с тем их фагоцитарная активность в молоке ниже, чем в крови, что зависит от меньшей концентрации в молоке опсонин-нов – факторов иммунной сыворотки, усиливающие фагоцитоз.

При мастите в связи с уменьшением диаметра жировых шариков (диаметр жировых шариков при физиологической норме достигает 3,0-3,29 мкм, в 1 см³ содержится до 2-4 млрд. жировых шариков) и одновременно увеличением их количества, поверхность жировых шариков увеличивается, что приводит к адсорбции каротина на их поверхности. Таким образом, если в молоке физиологически здоровых коров содержание каротина в среднем составляет 3,1 мкг/г жира, то при мастите – 4,5 мкг/г жира. При снижении содержания жира с 4,3% до 3,9%, наоборот, концентрация каротина увеличивается с 5,7 мкг/жира до 7,32 мкг/г жира.

При сравнении содержания лизоцима в молоке здоровых и больных коров маститом установлено, что у здоровых животных его концентрация составила 0,20-0,25 усл. ед., при субклиническом мастите – 0,27-0,29 усл. ед., катарально-геморрагическом – 0,55-0,62 усл. ед. и гнойном мастите – 0,44-0,48 усл. ед. Следовательно, лизоцим способствует уничтожению бактерий.

Проведенный гистологический анализ вымени показал, что высота железистых клеток в норме достигает 6,8- 12,4 мкм и зависит от состояния секреции. При развитии субклинического мастита размеры клеток не имели достоверных различий от нормы и достигали 5,6-11,3 мкм. Особенно существенные изменения выявлены при гнойном мастите, где размер клеток составлял от 3,9 мкм до 4,2 мкм ($P<0,05$).

Отмечена общая тенденция к пролиферативному процессу. Изменения, характерные для альтерации и экссудации, более выражены при катарально-геморрагическом мастите. Наблюдалось разрастание не только междольковой, но и внутريدольковой соединительной ткани, которая делила дольки на железистые островки. Строма вымени коров,

больных маститом, содержит на 12-36% ($P < 0,05$) больше коллагеновых волокон, что свидетельствует о коллагенизации паренхимы молочной железы. Коллагеновые волокна были набухшие, местами фрагментированными и фуксинофильно окрашенными, что является показателем накопления кислых мукополисахаридов. Избыточное накопление этих продуктов отрицательно сказывается на эластичности молочной железы. Это обнаруживается при окраске препаратов резорцин-фуксином по К. Вейгерту. Эластические волокна в стенке кровеносных сосудов вакуолизированы, а находящиеся в строме – булавовидно вздуты или имели ампулообразные расширения. Несколько меньше подвержены изменениям внутридольковые эластические волокна.

В кровеносных сосудах наблюдалось повышение проницаемости (особенно при катарально-геморрагическом мастите), о чем свидетельствовало фибриноидное пропитывание стенки и периваскулярной соединительной ткани. В стенке сосудов обнаружена выраженная пролиферативная реакция в виде набухания и размножения клеток эндотелия и адвентиции. Периваскулярный клеточный инфильтрат был представлен полиморфными клетками. Сюда входили преимущественно тучные клетки, лимфобласты, макрофаги и в меньшем количестве – плазмоциты и эозинофилы. Повышение проницаемости кровеносных сосудов позволяет эмиграции лейкоцитов в молочные протоки и цистерну вымени (рис. 1).

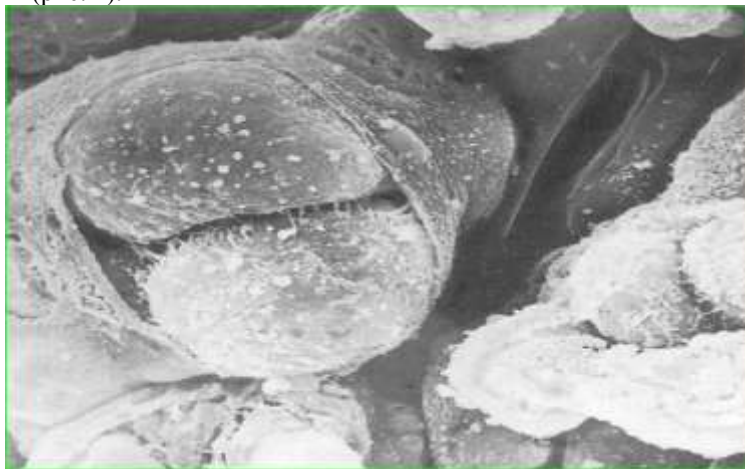


Рисунок. 1 – Выход лейкоцитов из капиллярного русла в просвет молочных протоков. Электронограмма. Ув.: 40000.

Тучные клетки (основной компонент соединительной ткани) располагались преимущественно периваскулярно, их количество превы-

шала норму на 23-33% ($P<0,05$). Морфологически они несколько отличались друг от друга по размерам, по концентрации цитоплазматических гранул.

В сложном комплексе биохимических, физиологических и морфологических реакций, особая роль принадлежит системе фагоцитирующих мононуклеаров (СФМ) и ее важнейшей клетке – макрофагу. Это антигенпредставляющая клетка, выделяющая антигенные детерминанты и передающая их лимфоцитам, что приводит к запуску иммунных реакций. Макрофаги являются весьма существенным звеном системы ауторегуляции при репаративных процессах и важнейший регулятор межклеточных и клеточно-матриксных взаимоотношений. Макрофаги активизируют систему фибробластов и коллагенез. Нами установлена следующая динамика изменения макрофагов при мастите: при субклиническом мастите их содержание увеличилось на 12,4-23,8% ($P<0,05$), катарально-геморрагическом – на 57,0-66,1% ($P<0,01$) и гнойном мастите – на 34,6-38,3% ($P<0,05$) по отношению к физиологической норме. Известно, макрофаги фагоцитируют бактерии, спирохеты, актиномицеты, грибы, простейшие, омертвевшие ткани и поврежденные клетки.

Следует отметить, что при гнойном мастите увеличивается концентрация эозинофилов на 28,4-34,5% ($P<0,05$). Эозинофилы – клетки – эффекторы, участвующие в защитных реакциях при взаимодействии с базофилами, тучными клетками, макрофагами, IgE и системой комплемента, в аллергических реакциях и являются важным фактором поддержания тканевого гомеостаза. Чаще эозинофилы контактировали с нейтрофилами, это связано, по-видимому, с хемотаксической функцией эозинофилов.

Наиболее выраженные сосудистые изменения наблюдались при катарально-геморрагическом мастите. Эти изменения проявлялись: неравномерностью сосудов (23-57%), веноулярными саккуляциями (12-21), сетевидной структурой сосудов (8-12%), нарушением параллелизма сосудов (9-15%), микроаневризмами (12-16%), нарушением соотношения диаметров артериол и соответствующих им венул (18-26%).

Нами сформулировано положение о капилляротрофической недостаточности при мастите у коров, которая базируется на следующих сосудистых перестройках: 1) извилистость и сужение артериол, прекапилляров и венул; 2) извитость истинных капилляров и их сужение достигало 3,3-3,6 мкм в наружном диаметре; 3) эритроциты в суженных капиллярах изменяли свою форму, становились более растянутыми, цилиндрическими, изменялся соотношение их диаметра и длины; 4) накопление фибриноидного материала в стенке и просвете сосудов;

5) сужение венул, артериол и капилляров играет важную роль в процессе увеличения периферического сопротивления крови, а деформация эритроцитов приводит к развитию гемолитической анемии и гипоксии.

При развитии воспалительного процесса в вымени прослеживается тенденция к снижению энергетического обеспечения синтетической функции клеток. Это связано с резким набуханием и деструктивными изменениями в митохондриях, объемная доля которых возрастает на 25,9-33,4% ($P < 0,05$) по отношению к норме. Можно предположить, что резкое набухание митохондрий подавляет энергообразующую функцию клетки.

С учетом литературных и собственных данных можно выделить восемь признаков патологии вымени: 1) увеличение в молоке числа лейкоцитов и соматических клеток; 2) изменение содержания жира и казеина; 3) снижение содержания лактозы, кальция и фосфора; 4) увеличение содержания хлора и натрия; 5) активизация ферментов - амилазы, кислой фосфатазы, ксантиноксидазы, дегидратаз, липазы и особенно каталазы; 6) снижение кислотности, рефракционного числа; 7) повышение pH и вязкости, что изменяет термостабильность, створаживаемость и коагуляцию; 8) способность к процеживанию и созреванию.

Заключение. В странах с развитым молочным скотоводством ежегодные потери от воспаления молочной железы достигают значительных размеров. Потери складываются за счет сокращения производства молока – 69,2%, выбракованного молока – 11,0%, расходов на ветеринарные услуги и лекарственные препараты – 5,0%, увеличение затрат труда – 1,9%, повышения стоимости ремонта стада из-за преждевременной выбраковки коров – 12,9%.

Проведенные исследования и литературные данные свидетельствуют о том, что существует взаимосвязь между показателями молочной продуктивности коров и защитной системой молочной железы. Установлено, что между числом соматических клеток и защитной системой молочной железы (лактоферрином, лизоцимом, IgG, IgM) установлена значительная корреляция ($r=0,34$; $0,54$; $0,24$ и $0,28$). Однако с увеличением молочной продуктивности концентрация лактоферрина, лизоцима, IgG и IgM снижается.

Без знания структурных перестроек в молочной железе при мастите невозможно рациональное и эффективное лечение. Проведенный морфологический мониторинг показал, что железистая и стромальная части вымени реагируют на воспалительный процесс, на это указывает активизация плазмоклеточной и тучноклеточной реакции, а также дезорганизация соединительной ткани и нарушение местной циркуляции

крови. Следовательно, местный процесс в молочной железе является отражением общей иммунологической реакции организма на развитие разных форм мастита у коров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галанцев, В. П. Эволюция лактации /В. П. Галанцев, Е. П. Гуляева. – Л.: Наука, 1987. -176 с.
2. Грачев, И. И. Цитофизиология секреции молока /И. И. Грачев, С. М. Попов, В. Г. Скопичев. – Л.: Наука, 1976. -238 с.
3. Кокорина, Э. П. Особенности рефлекса молокоотдачи у коров различного типа нервной системы /Э. П. Кокорина //Вопросы физиологии машинного доения. – М., 1970. –С. 33-40.
4. Гостев, А. В. К морфологии кровеносных капилляров молочной железы /А. В. Гостев //Нервная система. -1968. –Вып. 9 –С. 71-76.
5. Turner, C. W. The mammary gland. 1. The anatomy of the udder cattle and domestic animals /C. W. Turner. –Columbia, 1952. -472 p.
6. Kurosumi, K. Elektron microscopic analysis of the secretion mechanism /K. Kurosumi //Intern. Rev. Cytol. -1961. –Vol. 11. –P. 1-117.
7. Newton, M. Human lactation. Milk the mammary gland and its secretion /M. Newton. – New York – London, 1961. –P. 281-320.
8. Эспе, Д. Секреция молока /Д. Эспе. – М.: Мир, 1950. -343 с.
9. Галанцев, В. П. Особенности кровоснабжения молочных желез /В. П. Галанцев //Териология. -1972. –Т. 1. –С. 61-73.
10. Грачев, И. И. Функциональная система лактации /И. И. Грачев, В. П. Галанцев //Нервная система. -1978. –Вып. 18. –С. 78-88.
11. Тверской, Г. Б. Регуляция секреции молока /Г. Б. Тверской. – Л.: Наука, 1972. -357 с.

УДК 612.335:636.4

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗРЕЛОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ – ВАЖНЫЙ ФАКТОР В ПРОФИЛАКТИКЕ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

**В.В. Малашко, Д.Н. Харитоник, Г.А. Тумилович, В.Л. Сукач,
Н.К. Гойлик, А.М. Казыро, Д.В. Малашко, А.Н. Петушок,
А.С. Юшкевич**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 08.06.2013 г.)

Аннотация. Телята-гипотрофики имеют на 44,2-45,7% меньшую живую массу по сравнению с нормотрофиками. У телят-гипотрофиков при рождении наблюдается повышенное содержание в крови молочной кислоты, содержание Ig достигало 16,9%, у телят-нормотрофиков – 30,5%. После приема молозива у телят с живой массой 18 - 21 кг содержание лимфоцитов увеличилось на 7,9%, с массой 28-37 кг – в 1,6 раза. Сформулировано положение о капилляротрофической недостаточности системы микрогемоциркуляции тонкого кишечника у телят-гипотрофиков.

Summary. Calves - hypotrophics have a 44.2-45.7% less body weight in comparison with calves - normotrophics. At a birth of calves - hypotrophics elevated blood levels of lactic acid content is observed, Ig content reached 16.9%, calves - normotrophics had 30,5 %. After receiving colostrum in calves with a live weight of 18 - 21 kg the content of lymphocytes increased by 7.9%, with a mass of 28-37 kg - 1.6 times. For the first time the regulations about capillartrochic failures of system microhemacirculation of a thin intestine in calves-hypotrophics are formulated.

Введение. Желудочно-кишечный тракт представляет собой весьма сложный комплекс с высокой степенью структур, гистологической и биохимической дифференциации [1]. Требуют решения вопросы расшифровки этиологической структуры желудочно-кишечных заболеваний для оценки темпов роста и развития животных [2]. Структурно-элементный анализ действия промышленной технологии свидетельствует, что ее регламент построен без согласования с периодами индивидуального развития и функционального состояния животных [3]. Большой процент молодняка животных рождается недостаточно зрелым. Функциональная незрелость важных систем организма – главная причина низкой адаптивной способности животных. Отставание в развитии нервной системы приводит к тому, что поддержание гомеостаза деятельности систем организма осуществляется ценой длительного напряжения многих нервных образований и происходит истощение ресурсов мозга [4]. В развитии функциональных систем наблюдается значительный гетерохронизм. Выделяют четыре группы основных периодов постнатального роста и развития животных: 1) критические; 2) доминирования; 3) ретардации и 4) стабилизации функциональных систем. Структурно-функциональная стабилизация систем происходит гетерохронно; для желудочно-кишечного тракта – с 4 - 6 месяцев, сердечно-сосудистой системы – с 12 месяца, дыхательной системы – с 6-7 месяца [5].

Телята, полученные от коров, содержащихся на промышленных комплексах, эти периоды по времени наступления и продолжительности сдвинуты в сторону запаздывания, т.к. системы организма, предопределяющие их адаптацию к окружающей среде ко времени рождения, функционально недостаточно зрелы [6]. У поросят к моменту рождения при достаточно сформированном клеточном иммунитете наблюдается незрелость его гуморального звена, формирование которого заканчивается после рождения. При рождении отмечается дефицит в Т-системе иммунитета (особенно Т-хелперов), стабилизация наблюдается к 6-месячному возрасту [7]. У поросят существенно опережает рост органов желудочно-кишечного тракта по отношению ко всему организму. В этот период интенсивного роста алиментарной системы

поросята особенно чувствительны к резким сменам рационов и кормов [8]. Как отмечает Л. В. Кведер [8], интенсивность роста, а также некоторые физиологические и биохимические функции организма свиней изменяются с промежутком от 8 до 18 дней [9]. В настоящее время ритмичность роста подтверждена на кроликах, лошадях, свиньях, телятах, утках и овцах. Длина волны роста (от одной максимальной точки до другой) для всех видов животных составляет 10,5-13 суток. Было выявлено, что ряд физиологических и биохимических процессов в организме протекает также ритмично (потребление O_2 , выделение CO_2 , теплопродукция, количество и качество желудочного сока, количество эритроцитов и гемоглобина в крови и др.). В процессе роста меняется характер и направление обмена веществ от углеводного к белковому, жировому и снова к углеводному обмену [10]. У новорожденных телят не в полной мере развита система терморегуляции, поэтому у слабых телят в первые 1-2 часа после рождения температура может снижаться на 1-2°C и более (нормальная температура у клинически здоровых 1-14-дневных телят – $t+39,5^{\circ}C$ с колебаниями от $t+38,5^{\circ}C$ до $t+40,5^{\circ}C$). У телят-гипотрофиков, а также необсохших телят в холодном, сыром, плохо вентилируемом помещении температура тела может снижаться до $t+33-34^{\circ}C$, что нередко приводит к их гибели.

Физиологическая незрелость – состояние новорождённых, характеризующееся отставанием физиологического возраста от календарного срока. Для физиологически незрелых животных характерны ацидотические черты гомеостаза, снижение иммунобиологической резистентности. Недостаточная физиологическая зрелость является predisposing причиной болезней многих систем, в том числе дыхательной и пищеварительной [11, 12].

Проблемой современного молочного скотоводства является рождение функционально недостаточно зрелых телят (телят-гипотрофиков) и поросят (поросята-гипотрофики). Важным научным направлением является исследование функционирования желудочно-кишечного тракта в условиях физиологической незрелости новорожденных животных, а также состояние обменных процессов, что приближает нас к пониманию механизмов развития компенсаторно-приспособительных реакций.

Характерной чертой интенсивной системы выращивания животных является то, что отдельные реакции особи отражают реакции целой группы животных, то есть носят стадийный характер. Появилась новая форма патологии, для которой учёные предложили термин «околопатология». Она рассматривает патологические изменения в связи с условиями внешней среды, всей экологической системы. В настоящее

время используется термин «Crowding disease complex» (комплекс болезней краудинг). В более узком смысле слова под «Crowding complex» понимают смешанные повсеместно встречающиеся условно патогенные микробы, вызывающие нетипично протекающие болезни из-за низкой резистентности организма животных. В этой связи одной из актуальных задач современной ветеринарной медицины является глубокое и всестороннее изучение морфо-биохимических и иммунологических перестроек в организме животных при разном функциональном состоянии и на фоне развития патологического процесса в алиментарной системе. Знание механизмов и закономерностей структурно функциональных изменений в пищеварительной системе и в организме в целом на ранних этапах онтогенеза важно для скрининга лекарственных и кормовых средств.

При оптимальном воздействии на обменные процессы у растущих животных эффективность биосинтеза, в принципе, может быть повышена в достаточно широких пределах. За счет направленного изменения обменных процессов эффективность биосинтеза в организме животных возрастает на 20%. При управлении обменными процессами экономия энергетических затрат составляет 3-5% [13]. Известно, что затраты на функционирование футильных (энергетически невыгодных) циклов значительны, например, на транспорт ионов расходуется 30-40%, на обновление белков – 10-14% от величины основного обмена [14]. Суммарная эффективность синтеза тканевых компонентов белков варьирует в пределах от 35% до 75% в зависимости от физиологического состояния организма. К тому же потери энергии в тонком кишечнике составляют 6%, в толстом кишечнике – 5-20%.

Следовательно, при управлении обменными процессами экономия энергозатрат может составить 3-5%. Чтобы найти подходы к реализации такой возможности, необходимо изучить количественные взаимосвязи, определяющие динамику процессов транспорта, внутриклеточного обмена и синтеза основных компонентов тканей [15].

Все функциональные процессы деятельности клетки, в том числе метаболические и энергетические, разворачиваются на определенном морфологическом субстрате субклеточных органелл. Поэтому изучение ультраструктурных показателей функционирования клеток является путем к более глубокому пониманию таких важных свойств, как пластичность и адаптация на воздействие экзо- и эндогенных факторов.

До настоящего времени остаются невыясненными ранние этапы изменений в морфологии иммунной системы, обмене веществ, а также ряд вопросов, относительно структурно-функциональных адаптаций в

пищеварительной системе физиологически зрелых (телята-нормотрофики) и физиологически незрелых телят (телята-гипотрофики).

Цель работы – изучить структурно-функциональные особенности органов пищеварения в зависимости от физиологической зрелости новорожденного молодняка сельскохозяйственных животных.

Материал и методика исследований. Исследовались образцы тонкого кишечника телят молозивно-молочного периода. Биоптаты тонкого кишечника фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалином по Р. Лилли, жидкости И. Карнуа, фиксаторе ФСУ А. М. Бродского, 70° спирте, а для проведения гистохимических исследований биоматериал замораживали в жидком азоте ($t=-196^{\circ}\text{C}$) в сосуде Дьюара. Для получения обзорной информации структурных компонентов тонкого кишечника гистосрезы окрашивали гематоксилин - эозином по П. Эрлиху, прочным зеленым по И. Ван Гизону, эозином - метиленовым синим по Лейшману, альциновым синим с докраской ядер гематоксилином. Определение плазмоцитов проводили по методу Ж.Браше. Для выявления тучных клеток срезы окрашивались по методу М. Г. Шубича с использованием основного коричневого (бисмарка).

Микроциркуляторное русло тонкого кишечника выявляли по методу В.В. Куприянова. Для импрегнации кровеносных сосудов азотно-кислым серебром применяли тотальные пленочные препараты тонкой кишки телят, изготовленные по методике В.В. Малашко [1993]. Для электронно-микроскопического исследования брали соответствующие участки тонкого кишечника около 3-6 см, которые были лигированы, и интралиминально вводился методом диффузии 2%-й раствор глутарового альдегида. В последующем ткани помещали в 5%-й раствор глутарового альдегида на 2 часа. Глутаровый альдегид готовился на 0,1М фосфатном буфере pH 7,2-7,4 и фиксировали при $t+4^{\circ}\text{C}$. Затем делали вертикальные разрезы по отношению к оси кишки и изготавливали кубики с длиной края 1-1,5 см. После 3-кратной промывки в 0,1М фосфатном буфере, материал обрабатывали 2%-ым раствором четырехокси осмия, дегидрировали в спиртах, возрастающей концентрации, контрастировали уранил ацетатом и заключали в аралдит. Срезы готовили на ультрамикротоме ЛКБ (Швеция), контрастировали цитратом свинца и просматривали под микроскопом JEM -100B и JEM-100CX «JEOL» (Япония).

Определение активности лизоцима в сыворотке крови телят проводили нефелометрическим методом по В.Г. Дорофейчук. Бактерицидную активность сыворотки крови телят (БАСК) оценивали по методике Мюнсея и Треффенса [1956] в модификации О. В. Смирновой и др. [1966]. Фагоцитарная активность лейкоцитов выражается процентным

отношением активных, участвовавших в фагоцитозе лейкоцитов, к общему числу подсчитанных, которую проводили по методу В.С. Новикова [1982]. Определение сывороточных иммуноглобулинов классов (Ig) А, М и G в сыворотке крови телят проводили методом радиальной иммунодиффузии (РИД) по G. Mancini et al. [1965]. Определение макро- и микроэлементов в сыворотке крови телят проводили с использованием атомно – абсорбционного спектрометра МГА – 915, гематологические исследования проводили на гематологическом анализаторе «Medonic CA – 620», активность аланинаминотрансферазы (АлАТ, КФ 2.6.1.2) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ, КФ 2.6.1.1) проводили на биохимическом анализаторе DIALAB Autolysers.

Результаты исследований и их обсуждение. Наши исследования показывают, что физиологически нормальный уровень содержания Ig в крови 2-3-дневных телят имеется только у 18-35% животных, а у остальных – Ig меньше физиологической нормы. У телят с живой массой 18-21 кг концентрация Ig в сыворотке крови составляла через 2 часа IgA – 18%, IgG – 21% и IgM – 2,5%. В течение последующих 24 часов уровень IgA достиг 29%, IgG – 24%, а IgM, наоборот, снизился до 1,8%. К 36 часам в этой группе телят уровень IgA в сыворотке крови снизился до 17,5%, IgG – до 20,5% и IgM – до 1,2%. В группе телят с живой массой 21-26 кг концентрация IgA с 2 часов до 36 часов наблюдений увеличилась с 21% до 33%, IgG – с 23% до 27-28%, а содержание IgM резко снижалось с 3,5% до 1,7% к 36 часам исследований. Следовательно, к 36 часам постнатальной жизни телята-нормотрофики имеют более высокий уровень Ig, особенно IgA и IgG.

У телят с низкой живой массой при рождении выявлено повышенное содержание молочной кислоты в сыворотке крови – до $4,5 \pm 1,43$ ммоль/л – $5,6 \pm 2,04$ ммоль/л, при физиологической норме – $0,77-1,84$ ммоль/л. Исследована фагоцитарная активность лейкоцитов, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови и содержание лимфоцитов. До приема молозива не установлено достоверных различий по фагоцитарной активности лейкоцитов, хотя у физиологически зрелых телят этот показатель несколько выше и составляет $60,21 \pm 2,30\%$, у телят-гипотрофиков – $57,16 \pm 2,14\%$, а после приема молозива – $62,50 \pm 2,71\%$ и $60,50 \pm 2,72\%$ соответственно. Бактерицидная активность сыворотки крови у телят-гипотрофиков достигла $19,40 \pm 1,74\%$, у телят-нормотрофиков – $24,11 \pm 1,19\%$. После приема молозива в первый день после рождения у телят с живой массой 28-37 кг бактерицидная активность повысилась – в 1,8 раза. Лизоцимная активность сыворотки крови у телят-нормотрофиков выше по сравнению с телятами-гипотрофиками и после приема молозива достигает

3,45±0,24%, у телят-гипотрофиков – 1,85±0,21%. Содержание лимфоцитов у телят – гипотрофиков до приема молозива составляло $1,14 \pm 0,18 \cdot 10^9/\text{л}$, у телят – нормотрофиков – $2,74 \pm 0,21 \cdot 10^9/\text{л}$

Как свидетельствуют наши исследования, делящиеся клетки эпителия тонкого кишечника сосредоточены в строго определенных местах, а именно в криптах, которые являются камбиальными участками, обеспечивающими клеточное обновление эпителиоцитов всего кишечника, где локализуются стволовые клетки. Исходя из вышеизложенного, определен митотический индекс (МИ) и среднее число эпителиоцитов на одну крипту. У телят-гипотрофиков и телят-нормотрофиков в возрасте 1 день МИ составлял 44% и 37% соответственно. Однако в 6-дневном возрасте у телят-нормотрофиков МИ был значительно выше и достигал 58%, у телят-гипотрофиков – 37%. Повышение МИ эпителиоцитов тонкого кишечника у телят-нормотрофиков, возможно, связано с тем, что телята больше употребляли молозива. Известно, что молозиво стимулирует рост кишечного эпителия.

Исходя из того что иммунокомпетентные клетки органов пищеварения участвуют в общих и местных иммунных реакциях, изучено содержание межэпителиальных лимфоцитов в структурах слизистой оболочки тонкого кишечника телят. Как свидетельствуют наши исследования, 90-95% лимфоцитов локализуются в базальной мембранной части эпителия. Электронно-микроскопически показано, что в среднем 65-80% лимфоцитов представляют собой активированные или трансформированные лимфоциты, что свидетельствует об их иммунологической компетенции. В таблице 1 приведены количественные показатели содержания лимфоцитов и плазмоцитов в слизистой оболочке тонкого кишечника телят.

Из анализа таблицы 1 видно, что содержание лимфоцитов в собственной пластинке слизистой оболочке тонкого кишечника у 1-дневных телят-гипотрофиков составляло 1,64%, у телят-нормотрофиков – 1,79%. С 1- до 6-дневного возраста телят содержание лимфоцитов у телят-гипотрофиков возрастает до 2,34% ($P < 0,05$), у телят-нормотрофиков – до 3,28% ($P < 0,05$). Количество плазматических клеток в 1-дневном возрасте у телят-гипотрофиков составляло 17,1%, у телят-нормотрофиков – 19,8%. В обеих группах телят с 1- до 6-дневного содержания плазмоцитов увеличилось до 20,3% и 34,17% соответственно. Отмечено достоверное увеличение плазмоцитов у телят-нормотрофиков по сравнению с телятами-гипотрофиками. Содержание межэпителиальных лимфоцитов на 1000 эпителиоцитов в поверхностном эпителии у 1-дневных телят в обеих группах было в пределах 53,38 – 68,79 клеток. К 6-дневному возрасту у телят-гипотрофиков уве-

личение лимфоцитов было незначительно – на 28,9%, у телят-нормотрофиков – на 45,7%. Содержание лимфоцитов в области крипт на 1000 эпителиальных клеток несколько больше по сравнению с поверхностным эпителием.

Таблица 1 – Содержание лимфоцитов и плазмоцитов в слизистой оболочке тонкого кишечника телят

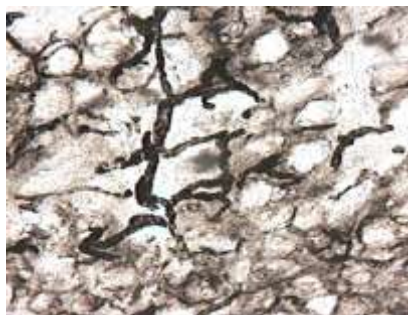
Показатель	Телята – гипотрофики		Телята – нормотрофики	
	возраст, дни		возраст, дни	
	1	6	1	6
Собственная пластинка слизистой оболочки:				
● лимфоциты, %	1,64±0,15	2,43±0,17 ^x	1,79±0,24	3,28±0,44
● зрелые плазмоциты, %	17,10±1,46	19,80±2,14	20,30±2,07	34,17±3,21 ^{xx}
Межэпителиальные лимфоциты на 1000 эпителиоцитов:				
● поверхностный эпителий	53,38±3,39	68,9±3,26 ^x	55,12±4,18	80,33±5,15
● эпителий крипт	56,18±4,77	59,12±3,40	70,29±5,72	95,40±7,28 ^{xx}

^xP<0,05 (по отношению к телятам-гипотрофикам 1-дневного возраста);

^{xx}P<0,01 (по отношению к телятам-гипотрофикам 6-дневного возраста)

У телят-гипотрофиков в 1-дневном возрасте этот показатель составил 56,17 клеток, у телят-нормотрофиков – 70,29 клеток. К 6-дневному возрасту количество лимфоцитов возросло у телят-гипотрофиков всего лишь на 0,5%, у телят-нормотрофиков – на 35,7%. Соотношение лимфоцитов и плазматических клеток в собственной пластинке слизистой оболочки тонкого кишечника у телят-гипотрофиков составляло в среднем 1:9,5, у телят-нормотрофиков 1:10,9.

У телят-гипотрофиков отмечено увеличение активности щелочной фосфатазы в структурах подвздошной кишки, что свидетельствует о замедлении формирования взрослого типа проксимально-дистального градиента ферментных систем (рис. 1).



а



б



В



Г

Рисунок 1 – Активность щелочной фосфатазы в структурах подвздошной кишки в зависимости от живой массы 6-дневных телят:

а – высокая активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке подвздошной кишки; б – высокая активность щелочной фосфатазы в эндотелии кровеносных сосудов мышечной оболочки; в – низкая активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке; г – низкая активность щелочной фосфатазы в эндотелии кровеносных сосудов мышечной оболочки

а, б – телята-гипотрофики; в, г – телята-нормотрофики

Метод Гомори. Микрофото. Ув.: а, б – 400; в, г – 280. Биоскан

Возможно, нарушения становления базовой активности ферментов в подвздошной кишке связано с дефицитом белка в раннем постнатальном периоде выращивания телят, что тормозит развитие функции кишечника. В то же время в микроциркуляторном русле мышечной оболочки у телят-гипотрофиков активность фермента в эндотелии кровеносных сосудов более низкая по сравнению с телятами-нормотрофиками.

Общие факторы неспецифической защиты (лейкоциты, фагоцитоз, система комплемента, пропердин, лизоцим, БАСК и др.) принимают участие в уничтожении, удалении из организма антигенов как микробной, так и белковой природы. Факторы неспецифической защиты участвуют в иммунных реакциях (комплемент и фагоцитоз) и относятся к иммунологическим механизмам защиты (рис. 2). На рис. 2 представлена схема защитного барьера, который существует в нормальных физиологических условиях в алиментарной системе телят. Непосредственно к эпителию примыкает слой гликокаликса, следующий слой колонизирован строгими анаэробами, далее локализуются факультативные анаэробы, имеющие аппарат детоксикации метаболитов O_2 , и еще «выше» – аэробы. Контактирующие со слизистой оболочкой тонкого кишечника анаэробы относятся к непатогенной сахаролитической «травоядной» микрофлоре с высоким метаболическим потенциалом. Поэтому патогенной (часто, аэробной) микрофлоре непросто отвоевать себе экологическую нишу. Вместе с тем при нарушении условий со-

держания, кормления и в зависимости от физиологического состояния организма телят анаэробная микрофлора может проявить свой патогенный потенциал – колонизировать слизистую оболочку, разрушить гликокаликсный слой и проникнуть вглубь энтероцитов (рис. 3).

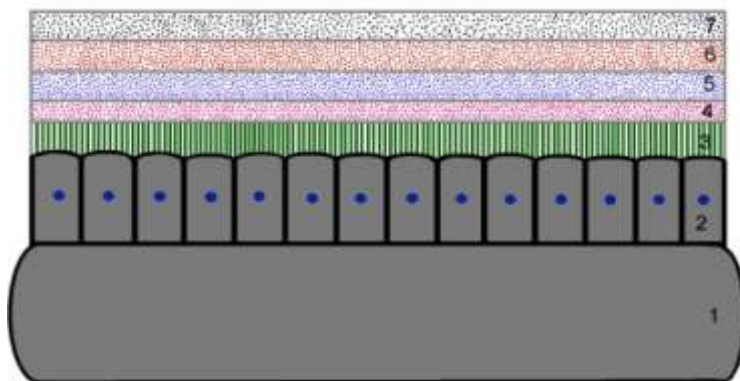


Рисунок 2 – Гликокаликсно-микробный защитный слой слизистой оболочки тонкого кишечника физиологически зрелых телят (схема)

- 1 – слизистая оболочка тонкого кишечника; 2 – энтероциты;
3 – слой гликокаликса; 4 – слой анаэробных микробов; 5 – слой факультативных анаэробных микробов; 6 – слой аэробных микробов;
7 – слой слизистых наложений



Рисунок 3 – Адгезия микробов к энтероцитам в результате нарушения гликокаликсного слоя и проникновение микробов внутрь клеток
Электроннограмма. Ув.: – 20000.

Степень и длительность обезвоживания организма телят влияет на цитологический состав одиночных и групповых (пейеровых бляшек) лимфоидных узелков. На 6 сутки содержание лимфоцитов снижается на 4%. Существенное снижение наблюдается незрелых плазмочитов – в 1,8 раза. Одновременно возрастает число тучных клеток до 1,44%, против 0,6% в контроле. Число деструктивных клеток увеличивается со сроком дегидратации. Количество деструктивных клеток в контроле достигало 3,8%, при патологическом процессе на 6 сутки – 19,6%. В то же время уменьшалась плотность клеток на единицу площади. В интактных условиях плотность клеток на 1 см² составляет 50,4 клеток, на 6 сутки дегидратации – 30,0 клеток.

В 6-дневном возрасте телят уже наблюдаются достоверные различия в количественных показателях микроциркуляторного русла тонкого кишечника (таблица 2). Диаметр артериол у телят-нормотрофиков по отношению к 1-дневному возрасту увеличивается на 38,7%, у телят-гипотрофиков – на 16,1%. Диаметр артериол у телят-нормотрофиков в 6-дневном возрасте был выше на 32,3% ($P<0,01$) по отношению к телятам-гипотрофикам. Аналогичная динамика свойственна и капиллярному руслу слизистой оболочки тонкого кишечника телят. Диаметр капилляров с 1- до 6- дневного возраста у телят – нормотрофиков повысился на 51,5%, у телят-гипотрофиков – на 25%.

Таблица 2 – Диаметр сосудов микроциркуляторного русла тонкого кишечника телят, мкм

Группа	Артериолы	Капилляры	Венулы
1– дневные телята			
Телята - нормотрофики	12,4±0,2	6,8±0,1	18,7±0,4
Телята - гипотрофики	11,2±0,2	6,0±0,1	17,7±0,3
6– дневные телята			
Телята - нормотрофики	17,2±1,3 ^{xx}	10,3±0,3 ^{xx}	20,1±1,8 ^{xx}
Телята - гипотрофики	13,0±0,6	7,5±0,3	24,6±1,5

^{xx} $P<0,01$

В 6-дневном возрасте диаметр капилляров у телят-нормотрофиков превышал показатель телят-гипотрофиков – на 37,3% ($P<0,01$). В то же время диаметр венул у телят-гипотрофиков был достоверно выше на 22,4% по отношению к телятам-нормотрофикам. Очевидно, это связано с застойными явлениями в терминальном звене микроциркуляторного русла. Необходимо отметить, что в учении о микроциркуляции в разрешении проблемы обменных процессов между кровеносным руслом и окружающими тканями, морфологический элемент имеет не менее важное значение, чем функциональный и биохимический процесс.

Заключение. В ветеринарной медицине существует точка зрения, согласно которой большая часть незаразной патологии у телят после

рождения, в том числе и диспепсия, носит функциональный характер и является следствием нарушений процессов адаптации. Фактором, определяющим особенности возникновения и течения болезни пищеварительной и дыхательной систем, является степень морфофункциональной организации («зрелости») новорожденных. В этой связи применение препаратов должно быть направлено на восстановление и нормализацию обменных процессов в организме телят при диарее.

Хорошо известны попытки биологов и морфологов подойти к обоснованию периодичности онтогенеза с использованием для этой цели экологических и морфологических критериев. Мы остановились лишь на немногих аспектах проблемы особенностей биологии новорожденных животных и их адаптивных возможностей на разных этапах постнатального онтогенеза. Из приведенного материала вытекает, что к концу антенатального развития в зависимости от условий, определяемых состоянием беременности матери, организмы рождаются, характеризуясь широко варьируемыми особенностями физиологии и морфологии. До настоящего времени актуальной проблемой в области животноводства является рождение телят с низкой живой массой «животные – гипотрофики» или, так называемым «синдромом слабых телят». Данная категория животных отличается своеобразием обменных и адаптивных процессов. Эти особенности широко дискутируются в научной печати как с теоретической, так и с практической точки зрения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яковлева, Л. М. Динамика содержания нейромедиаторов в структурах тощей кишки крыс при хронической алкогольной интоксикации //Л. М. Яковлева, Л. А. Любовева //Бюл. эксперим. биол. и мед. -2013. –Т.155, №1. –С. 36-39.
2. Паршин, П. А. Лечение желудочно-кишечных болезней бактериальной этиологии у новорожденных животных комбинациями нитазола //П. А. Паршин //Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии: матер. Междунар. координац. совещания. – Воронеж, 1997. –С. 340-346.
3. Фурдуй, Ф. И. Стратегия создания адаптивной системы промышленного животноводства /Ф. И. Фурдуй, С. Х. Хайдарлиу, В. С. Федоряка. – Кишинев: Штиинца, 1987. -187 с.
4. Ramer, M. Functional regeneration of sensory axon into adult spinal cord /M. Ramer, J. Priestley //Nature. -2000. –Vol.403. -P. 312-316.
5. Меерсон, Ф. З. Общий механизм адаптации /Ф. З. Меерсон. – М.: Медицина, 1973. -359 с.
6. Уголев, А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций /А. М. Уголев. – Л.: Наука, 1985. -544 с.
7. Maller, N. Sygdomme hos pattegrise og fravannede grise /N. Maller //BP nyhedstjenste. -1983. –Vol. 33. -P. 9-12.
8. Кведер, Л. В. Ритмичность роста и некоторых процессов питания у растущих откармливаемых свиней //Л. В. Кведер //Бюл. науч. работ ВНИИживотноводства. -1986. -№81. – С. 42-44.
9. Fiebig, U. Zum zellulären bei Rindern und Schweinen /U.Fiebig, U. Büniger, P. Schmoldt //Tierzucht. -1985. –Jg.39, N12. –S. 557-559.

10. Kolb, E. Erkenntnisse über den Stoffwechsel von neugeborenen Ferkeln Totgeburten /E. Kolb, A. Kupski, R. Umbach //Tierzucht. -1985. –Jg.39, N12. –S. 557-559.
11. Малашко, В. В. Структура интрамуральной нервной системы пищеварительного тракта поросят - гипотрофиков /В. В. Малашко, Т. М. Скудная, В. Л. Ковалевич //Тез. докл., посвящ. 50-летию со дня основания института физиологии. – Минск, 2003. –С. 96-97.
12. Манасян, А. В. Активность ферментов пищеварительной системы у телят при диспепсии /А. В. Манасян, Г. Р. Петроян, А. М. Шахбазян //Ветеринария. -2003. -№7. –С. 39-40.
13. Baldwin, R. L. Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion /R. L. Baldwin, N. E. Smith, J. Taylor //J. Anim. Sci. –1980. – Vol.51, N 6. –P.1416-1428.
14. Cecyre, A. Implants et additives alimentaires /A. Cecyre //Producteur agricole. -2005. –Vol. 8, N 6. –P. 6-19.
15. Шешукова, Т.А. Адаптация пищеварительного тракта /Т. А. Шешукова, А. Я.Озолс //Усвоение органических и неорганических соединений в организме животных: сб. науч. тр. – Рига: Зинатне, 1990. –С. 305-344.

УДК 636.087.8 (047.31)

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОРОВОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА В УСЛОВИЯХ СПК "ЩУЧИНАГРОПРОДУКТ" ЩУЧИНСКОГО РАЙОНА ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

А.Н. Михалюк¹, М.А. Каврус¹, Е.А. Андрейчик¹, М.В. Дубинич¹,
Э.И. Коломиец², Н.В. Сверчкова²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

² – Институт микробиологии НАН Беларуси

г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 08.06.2013 г.)

Аннотация. Использование пробиотического бактериального препарата комплексного действия в рационах поросят-отъемышей способствует активизации обменных и окислительно-восстановительных процессов в организме, повышению естественной резистентности, лучшему усвоению питательных веществ корма, снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 12,5%, конверсии корма – на 3,1 процентных пункта и, как следствие, повышению продуктивности животных на 8,4%. Экономический эффект от использования пробиотического бактериального препарата комплексного действия в рационах поросят-отъемышей составляет 7246,2 тыс. рублей в расчете на 150 голов или 48,3 тыс. руб. в расчете на 1 голову животных в ценах 2013 года.

Summary. The use of probiotic bacterial preparation of complex actions in the diets of weaned piglets helps to intensify the exchange and redox processes in the body, increase the natural resistance, better digestion of feed nutrients, reduced cost

of feed per 1 kg of live weight by 12.5%, feed conversion – by 3.1 percentage points and, as a consequence, increase of animal productivity by 8.4%. The economic effect of probiotic bacterial preparation of complex actions in the diets of weaned piglets is 7246.2 thousand rubles per 150 head or 48.3 thousand rubles per 1 head of animals in the prices of 2013.

Введение. Для профилактики здоровья молодняка необходимо поддерживать популяцию полезных бактерий в пищеварительном тракте. Поэтому важно при его выращивании создавать необходимые условия, обеспечивающие формирование собственного микробиоценоза, включая применение средств, в том числе пробиотиков, способствующих формированию микрофлоры в нужном для организма направлении [1, 5, 6, 8].

Возможности использования пробиотиков в ветеринарии затрагивают довольно широкий круг проблем, начиная от коррекции кишечного биоценоза и распространяясь на коррекцию иммунной, гормональной и ферментативной систем молодняка. В этой связи отечественные и зарубежные ученые считают необходимым внедрение пробиотиков в систему выращивания животных для профилактики неинфекционных желудочно-кишечных заболеваний молодняка, поддержания колонизационной резистентности кишечника, повышения физиологического статуса организма новорожденных животных, стимуляции роста и развития, получения качественной продукции, безопасной в ветеринарно-санитарном отношении [2, 3, 4, 7].

Цель работы – провести производственные испытания эффективности действия пробиотического препарата в составе кормов для выращивания свиней.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в условиях свиного комплекса «Ельня» СПК "Щучинагропродукт" Щучинского района Гродненской области на поросятах-отъемышах. Для опыта было сформировано 2 группы животных: контрольная (147 голов) и опытная (150 головы). Оценку эффективности действия пробиотического препарата в составе кормов проводили на фоне принятой в хозяйстве технологии кормления и содержания животных, а также схем ветеринарных мероприятий. Формирование групп осуществлено по принципу условных аналогов. В группу поросят-отъемышей отобрали поросят в возрасте 35–40 дней. Опытной группе в дополнение к основному рациону вводился споровый пробиотический препарат в дозировке 1,0 кг на тонну комбикорма (активность $\sim 1,0 \times 10^{10}$ КОЕ/г). Продолжительность опыта оставила 45 дней.

За животными на протяжении всего опыта велись клинические наблюдения, контроль за ростом и развитием. Учет эффективности

препарата проводили по продуктивности (живой массе, среднесуточному и относительному приростам), эффективности конверсии корма, затратам корма на 1 кг прироста живой массы.

Для оценки биологической эффективности спорового пробиотического препарата определены основные гематологические и биохимические показатели животных. Исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный аграрный университет».

Кровь для исследования брали у поросят-отъемышей из глазного синуса в начале и в конце исследований.

Использовали общие (основные) и дополнительные лабораторные методы исследований.

В цельной крови у животных определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина и гематокритную величину с помощью гематологического анализатора MEDONIC CA – 620 (Швеция).

Сыворотку крови получали выдерживанием крови в течение двух часов при комнатной температуре с последующим отделением свернувшейся крови от стенки пробирки стеклянной палочкой и центрифугированием в течение 10 мин при 3000 мин⁻¹. Все биохимические показатели сыворотки крови поросят определяли на биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer 20010D. Диапазон измерения оптической плотности 340-750 нм с шириной щели 10 мм.

Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики. Все результаты исследований в работе приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого вариационного ряда, стандартные ошибки средней, степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стьюдента-Фишера. При $P < 0,05$ различия средних арифметических сравниваемых вариационных рядов считались достоверными.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований показали (рис. 1), что в опытной группе, получавшей дополнительно к основному рациону споровый пробиотический препарат, в количестве 1,0 кг на тонну комбикорма к концу исследований увеличилась живая масса на 8,4% по сравнению с контролем.

Многие факторы, носящие случайный характер, вызывают изменение живой массы животных и затрудняют выявление истинных закономерностей, являющихся сущностью самого процесса. Поэтому мы подвергли полученный материал обработке, которая позволила уstra-

нить случайные колебания и получить истинное представление об течение процессов – вычисление среднесуточного и относительного приростов.



Рисунок 1 - Динамика живой массы поросят-отъемышей в период опыта

Результаты исследований показали (табл. 1), что у животных опытной группы в период использования пробиотического бактериального препарата комплексного действия увеличились среднесуточный и относительный приросты живой массы в сравнении с контрольной группой. В результате исследований установлено, что среднесуточный прирост вырос на 18,6% ($P < 0,01$), а относительный на 11,1 процентных пункта.

Таблица 1 – Динамика среднесуточного и относительного прироста живой массы поросят-отъемышей в период опыта

Показатели	Группа		% к контролю
	Контрольная	Опытная	
Среднесуточный прирост, кг	0,333	0,395	118,6
Относительный прирост, %	80,2	91,3	-

Исследуя пробиотический бактериальный препарат комплексного действия нами определена не только продуктивность животных, но также проведены гематологические и биохимические исследования, в результате которых установлено, что данный препарат, оказывает влияние и на гематобиохимические параметры. Наибольшим изменениям подверглись параметры белкового, углеводного и минерального обменов.

Общий белок и белковые фракции, а также мочевины отражают полноценность протеинового питания животных. Следовательно, изучение картины крови свидетельствует о состоянии здоровья животных

с одной стороны, и выявление взаимосвязи с их продуктивностью, с другой стороны.

Кровь у животных отбирали в начале и конце опыта, но в отчете отражены лишь конечные результаты, так как в начале опыта гематобиохимические показатели свиней контрольной и опытной групп были приблизительно одинаковы.

Результаты гематологических и биохимических исследований показали (табл. 2), что введение в комбикорм поросят-отъемышей пробиотического бактериального препарата комплексного действия в дозе 1,0 кг/т позволило повысить уровень общего белка в сыворотке крови животных опытной группы на 6,1%, уровень альбуминовой фракции на 4,7 %, концентрацию глобулинов на 7,1%.

Таблица 2 – Гематобиохимические показатели крови поросят-отъемышей

Гематологические показатели	Конец опыта	
	Контрольная	Опытная
Общий белок г/л	72,11±3,11	76,53±4,22
Альбумины г/л	28,02±1,22	29,33±1,34
Альбумины %	38,86±2,05	38,32±2,16
Глобулины г/л	44,09±1,13	47,20±1,24
А/Г ед.	0,64±0,15	0,62±0,17
Са ммоль/л	2,56±0,33	2,61±0,36
Р ммоль/л	2,14±0,49	2,23±0,47
Са/Р ед	1,20±0,32	1,17±0,30
Железо мкмоль/л	30,11±2,89	31,23±2,75
Глюкоза ммоль/л	3,73±0,25	4,39±0,19**
Холестерин ммоль/л	2,63±0,11	2,39±0,15*
АлАТ ед/л	25,69±2,32	26,93±2,20
АсАТ ед/л	29,03±4,56	29,36±4,33
Кэфф. Де-Ритиса ед	1,28±0,09	1,15±0,09
Билирубин мкмоль/л	1,23±0,16	1,03±0,22*
Магний ммоль/л	0,76±0,09	0,82±0,09
Мочевина ммоль/л	3,27±0,26	2,96±0,17*
Эритроциты 10 ¹²	5,79±0,44	6,31±0,50*
Лейкоциты 10 ⁹	13,23±0,63	12,42±0,74
Тромбоциты 10 ⁹	440,30±13,39	445,23±14,33
Гемоглобин г/л	97,33±4,57	106,87±5,79*
Гематокрит %	37,64±2,41	40,36±2,51
MPV mkm ³	3,61±0,36	3,23±0,37
RDV %	12,43±1,56	13,65±1,62
MCV mkm ³	61,55±6,64	61,77±6,91
ЦП ед	1,18±0,08	1,09±0,08
МСНС г/100 мл	27,31±2,99	25,25±3,11

* — P<0,05 ** — P<0,01

О белковом метаболизме в организме свидетельствует концентрация мочевины. Качественное использование белка должно сопровождаться пониженным уровнем мочевины в организме, и наоборот, при некачественном и неполном использовании белка уровень мочевины в крови возрастает. Обладая токсическим действием, мочевина отравляет организм и замедляет биологические процессы, что приводит к снижению продуктивности и даже падежу.

Так, к концу исследований концентрация мочевины в сыворотке крови поросят опытной группы снизилась на 9,5% ($P<0,05$). Признаком того, что препарат не обладает токсическим действием на печень, является снижение уровня билирубина. У животных, получавших споровый пробиотический препарат данный показатель снизился на 16,3% ($P<0,05$) в сравнении с контролем.

Для эффективного использования переваримого протеина кормов, исключительно важное значение имеют процессы переаминирования, позволяющие экономно расходовать незаменимые аминокислоты. Результаты исследований показали, что активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ) в сыворотке крови поросят всех групп была в пределах физиологической нормы, что также указывает на нормально протекающие обменные процессы в организме.

Что касается глюкозы, то концентрация ее под влиянием спорового пробиотического препарата увеличилась на 17,7% ($P<0,01$) и составила 4,39 ммоль/л, в то время как в контроле данный показатель был на уровне 3,73 ммоль/л.

Споровый пробиотический препарат оказал влияние и на содержание форменных элементов крови. Так, уровень лейкоцитов снизился на 6,2%, что указывает на достаточно устойчивый иммунитет животных. Концентрация эритроцитов возросла на 8,9% ($P<0,05$), а гемоглобина – на 9,8% ($P<0,05$), что свидетельствует об активизации окислительно-восстановительных процессов в организме, а также о повышении усвоения железа, поступающего с кормом. Что касается гематокритного числа, то оно увеличилось на 2,72 процентных пункта в сравнении с контролем и также является показателем нормального функционального состояния организма.

Содержание железа выросло (в пределах физиологической нормы) на 3,7%, кальция на 2,0%, фосфора на 4,2%, а магния на 7,9%, однако достоверных различий по этим показателям в сравнении с контролем не наблюдалось.

Эффективность использования пробиотического бактериального препарата комплексного действия в рационах поросят-отъемышей оп-

ределялась также по показателям затрат корма на единицу прироста живой массы и эффективности конверсии корма (табл. 3).

Таблица 3 – Расчет затрат корма на единицу продукции при производстве свинины

Показатели	Контроль	Опытная	% к контролю
Среднесуточный прирост, г	333,0	395,0	118,6
Средние затраты корма на голову в сутки, г	1320,0	1370,0	103,8
Затраты корма на 1 кг прироста, г	3964,0	3468,4	87,5
Конверсия корма (отношение количества затраченного корма к единице полученной продукции)	11,9	8,8	-

Исследования показали, что применение пробиотического препарата в рационах поросят-отъемышей позволило оптимизировать конверсию корма. Установлено, что введение данной кормовой добавки способствовало увеличению продуктивности животных при практически таком же потреблении корма. Так, на 12,5 % снизились затраты корма на 1 кг прироста живой массы и на 3,1 процентных пункта - конверсия корма.

На основании полученных результатов испытаний эффективности пробиотического бактериального препарата комплексного действия в рационах поросят-отъемышей был рассчитан экономический эффект в соответствии с «Методическими указаниями по внедрению достижений науки, техники и передового опыта в сельскохозяйственное производство» (Мн., Ураджай, 1999). В результате был получен экономический эффект в размере 7246,2 тыс. рублей в расчете на 150 голов или 48,3 тыс. руб. в расчете на 1 голову животных в ценах 2013 года.

Таким образом, использование пробиотического бактериального препарата комплексного действия в рационах поросят-отъемышей способствует активизации обменных и окислительно-восстановительных процессов в организме, повышению естественной резистентности, лучшему усвоению питательных веществ корма, снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 12,5%, конверсии корма - на 3,1 процентных пункта и, как следствие, повышению продуктивности животных на 8,4%. Экономический эффект от использования пробиотического бактериального препарата комплексного действия в рационах поросят-отъемышей составляет 7246,2 тыс. рублей в расчете на 150 голов или 48,3 тыс. руб. в расчете на 1 голову животных в ценах 2013 года.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакулина, Л.Ф., Перминова, Н.Г., Тимофеев, И.В. и др. Пробиотики на основе спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus* и их использование в ветеринарии / Л.Ф. Бакулина, Н.Г. Перминова, И.В. Тимофеев // Биотехнология. – 2001. – № 2. – С. 48–56.

2. Тараканов, Б. В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных / Б. В. Тараканов // Ветеринария. 2000. - № 1. - С. 47-54.
3. Тимошко, М. А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных / М. А. Тимошко, Кишинев, Штиинца, 1990.- 192 с.
4. Fuller, R. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health / R. Fuller, G. Gibson // Clin Microbiol Infect. 1998. - № 4. - P. 477-480.
5. Godic, T. K., Matijasic, B.B. Partial Characterisation of Bacteriocins Produced by *Bacillus cereus* Isolates from Milk and Milk Products / T. K. Godic, B.B. Matijasic // Food Technol. And Biotechnol. – 2003. – Vol. 41, N 2. – P. 121–129.
6. Guo, X., Li, D., Lu, W., Piao, X., Chen, X. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs / X. Guo, D. Li, W. Lu, X. Piao, X. Chen // Antonie van Leeuwenhoek. –2006. – Vol. 90, N 2. – P. 139–146.
7. Hosoi, T. A food made by fermenting cooked soybeans with *Bacillus subtilis* (natto) / T. Hosoi, K. Kiuchi // Handbook of Fermented Functional Foods / Farnworth E.R. (editor). – Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2003. –P. 227–245.
8. Stamati, S. Probiosis in sows by administration of *Bacillus toyoi* spores during late pregnancy and lactation: effect on their status/performance and on litter characteristics / S. Stamati, C. Alexopoulos, A. Siochu, K. Saoulidis, S.C. Kyriakis // Int. J. Probiotics and Prebiotics. – 2006. – Vol. 1, N 1. – P. 33–40.

УДК 632.2:619:618.19-002-0.8:615.33
(047.31)

ИСПЫТАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ МАСТИТОВ У КОРОВ В УСЛОВИЯХ КСУП «ЗАРЯ И К» ВОЛКОВЫССКОГО РАЙОНА ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

**А.Н. Михалюк¹, М.А. Каврус¹, А.С. Вилькевич¹, Н.И. Таранда¹,
Н.А. Головнева²**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – Институт микробиологии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 25.06.2013 г.)

Аннотация. Применение биопрепарата на основе молочнокислых и бифидобактерий способствовало сокращению общей обсемененности молочной железы бактериями в 2,4 раза, стафилококками – почти в 3,9 раза по сравнению с началом опыта, кроме того, обработка сосков молочной железы данным препаратом способствовала снижению соматических клеток в молоке с $383,8 \pm 18,2$ тыс./см³ в начале исследований до $222,6 \pm 11,8$ тыс./см³ к концу исследований и, как следствие, снижению заболеваемости животных маститом до 50%.

Summary. *The application of bioproduct based on lactic bacteria and bifidobacteria contributed the reducing of overall contamination in the mammary by bacteria in 2.4 times, by staphylococci- nearly in 3.9 times in comparison with the beginning of the experiment. Moreover, the treatment of the breast nipple with the drug caused a reduction of somatic cells in milk from $383,8 \pm 18,2$ thousand/sm³ in early research to $222,6 \pm 11,8$ thousands/sm³ by the end of research and, as a consequence, reduced the incidence of mastitis animals up to 50%..*

Введение. Основной продукцией молочного скотоводства является молоко, которое занимает одно из ведущих мест в рационах людей. Получению высококачественного молока препятствует целый ряд факторов, среди которых важную роль играет как клинический, так и субклинический мастит. Последний имеет широкое распространение в молочном скотоводстве [2, 5, 6].

Переболевание лактирующих коров субклиническим маститом сопровождается не только снижением их молочной продуктивности, но и ухудшением санитарного качества молока, потерей питательных свойств, что делает его непригодным для пищевых целей, технологической переработки.

Длительное повсеместное, а порой и бессистемное применение химиотерапевтических средств привело к снижению эффективности лечения данного заболевания из-за образования лекарственно устойчивых штаммов микроорганизмов. Антибиотики, введенные интрацервикально, подавляют факторы местной резистентности молочной железы и длительное время выделяются с секретом. Наличие в молоке остаточных количеств химиотерапевтических средств создает опасность для потребителей. Попадая с пищей в организм человека эти вещества способны вызывать дисбактериозы, аллергические реакции, нарушение обмена веществ [1, 3].

Одним из путей преодоления негативных последствий применения антибиотиков, сульфаниламидов при субклиническом мастите коров является разработка эффективных экологически безопасных противомаститных лечебных средств, не содержащих химиотерапевтических средств [4, 7].

Цель работы – испытать эффективность биопрепарата на основе молочнокислых бактерий для профилактики и лечения маститов у коров в условиях КСУП «Заря К» Волковысского района Гродненской области.

Материал и методика исследований. Исследования проводились на молочнотоварном комплексе «Колонтай» КСУП «Заря и К» Волковысского района Гродненской области, а также на кафедре микробиологии и эпизоотологии УО «ГГАУ».

Для проведения исследований была сформирована группа коров с субклинической формой мастита в количестве 20 голов, смывы с сосков которых были изучены на наличие и разнообразие находящейся на них микрофлоры до и после обработки биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий.

Обработка сосков вымени осуществлялась непосредственно после каждого доения животных путем погружения их в емкость с препаратом в течение 7 дней. В начале и в конце исследований брали смывы с сосков. Смывы делались стерильными ватными тампонами, смоченными в физиологическом растворе. В каждой из пробирок находилось по 10 мл физраствора, в который после проведения смыва помещался тампон. Пробирка закрывалась кроме ватного тампона, находящегося на палочке, еще и обычной стерильной ватно-марлевой пробкой. Посевы в лаборатории производились сразу же после поступления материала. Для этого предварительно, после отжимания жидкости с тампона, делались десятикратные разведения остальной жидкости: 1 мл предыдущего разведения вносился в пробирку с 9 мл физраствора, после тщательного перемешивания данная операция повторялась. В работе использовались разведения 1/10, 1/100 и 1/1000.

При предварительном обследовании животных из разведения 1/10 производился высеив на среду Сабуро с антибиотиком, а из разведения 1/100 – на среды МПА, стафилококковую и Эндо. Жидкая среда Кесслера для определения энтеробактерий разливалась в пробирки по 5 мл, после чего в каждую из них вносилось по 0,5 мл из разведения 1/10.

При обследовании животных после обработки сосков биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий, учитывая то, что при предыдущем обследовании учет был затруднен большим количеством растущих на чашках со средами колоний, посев производился на среды Сабуро, Эндо и Кесслер из разведения 1/10, а на МПА и стафилококковую среды – из разведения 1/1000. В обоих случаях на поверхность питательной среды наносилось по 0,05 мл соответствующего разведения, которые растирались стерильным стеклянным шпателем по поверхности питательной среды.

Параллельно изучению наличия и разнообразия микрофлоры молочной железы до и после обработки биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий осуществляли контроль за характером протекания болезни и динамикой выздоровления животных по содержанию соматических клеток в молоке.

Молоко для исследований отбирали в начале и в конце опыта до доения коров предварительно сдоив первые струйки молока в преддойную чашку. Количество соматических клеток в молоке определяли

на анализаторе AMB-1-02 (СОМАТОС). В основе измерений лежит зависимость условной вязкости (времени вытекания смеси молока с препаратом "Мастоприм") от концентрации числа соматических клеток в молоке. Принцип действия анализатора определен ГОСТ 23453-90 «Метод определения количеств СК в молоке с применением вискозиметра», по которому заданные объемные количества молока и водного раствора препарата «Мастоприм» смешиваются и затем определяется условная вязкость смешанных проб, по временам вытекания их одинаковых частей по объему через капилляр.

Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики. Все результаты исследований в работе приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого вариационного ряда, стандартные ошибки средней, степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стьюдента-Фишера. При $P < 0,05$ различия средних арифметических сравниваемых вариационных рядов считались достоверными.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты учета бактериальной микрофлоры в начале опыта показали, что в посевах преобладали аммонификаторы, энтеробактерии, а также плесневые грибы (в основном мукоровые и аспергилловые), причем количество их было значительным (табл. 1).

Таблица 1 – Численность бактерий и плесневых грибов в смывах с сосков (тысяч в 1 мл)

Микро-организмы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Бактерии	920	1200	720	412	400	740	480	252	300	520	1280	280	10	80	26	30	220	216
Стафилококки	800	820	400	464	320	26	440	154	192	212	1160	272	6	16	18	12	12	56
Грибы, шт.	200	400	400	800	-	-	200	-	200	-	400	400	-	-	200	-	200	-

После обработки в течение недели сосков биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий общее количество бактерий значительно снизилось, хотя разнообразие микрофлоры сохранилось. Заметно появление крупной бациллярной формы бактерий, которые выросли на стафилококковой среде. Появились также и небольшие энтерококки или коккобактерии, растущие на среде Эндо. Появились колонии, образованные кокками очень больших размеров.

Несмотря на присутствие спорообразующих форм бактерий, в мазках не наблюдалось как раньше созревших спор. На Эндо кроме мелких и средних форм энтеробактерий росли очень длинные палочки, образующие капсулу. Капсульные бактерии встречались и в смывах с необрабатываемых сосков, однако они были значительно мельче.

Таблица 2 – Численность бактерий аммонификаторов, стафилококков и энтеробактерий в смывах с сосков (тысяч в 1 мл) после обработки биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий

Микроорганизмы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Бактерии	420	40	140	600	180	1280	140	60	100	40	220	26	320	60	-	20	40	-
Стафилококки	320	80	60	100	-	-	240	40	80	-	160	12	280	80	-	20	80	-
Энтеробактерии	-	1,6	11	0,2	7	-	-	1	-	-	-	-	0,2	0,4	-	-	-	-

Средние данные по численности бактерий аммонификаторов и стафилококков в 1 мл усредненной пробы представлены на рисунке.

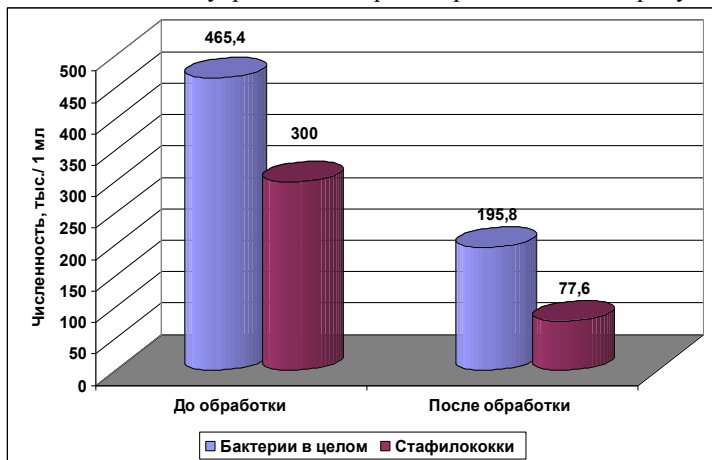


Рисунок – Численность бактерий аммонификаторов и стафилококков в смывах с сосков коров до и после обработки их биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий

В смывах с сосков, взятых после недельной обработки биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий, произошло сокращение общей группы бактерий в 2,4 раза, стафилококков – почти в 3,9 раза. Возможно, если бы первоначальный посев бактериальной группы

из смывов производился из разведения 1:1000, а не 1:100, различия были бы еще более значительными. Заметно снижение численности плесневых грибов, которые до обработки обнаруживались в 11 смывах. После обработки биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий плесневые грибы обнаружены только в одном смыве.

Результаты исследований молока на содержание соматических клеток показали, что до обработки молочной железы биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий количество их в среднем составляло $383,8 \pm 18,2$ тыс./см³, что является достаточно высоким показателем и свидетельствует о заболевании животных субклинической формой мастита, что подтверждается и показаниями прибора «МАС-ТИТ-ТЕСТ» (450-600 единиц). По уровню соматических клеток в общем удое можно судить о количестве коров в стаде с субклинической формой мастита. Имеются данные, что при среднем количестве соматических клеток в 1 см³ молока от 300 000 до 500 000, около 25% коров в стаде – с воспалительными процессами.

К концу исследований, после недельной обработки сосков молочной железы биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий, концентрация соматических клеток в молоке снизилась до уровня $222,6 \pm 11,8$ тыс./см³, что является неплохим показателем и свидетельствует о снижении заболеваемости животных маститом и тенденции к их выздоровлению, что подтверждается и показаниями прибора «МАС-ТИТ-ТЕСТ» (до 450 единиц – нормальное молоко). При среднем количестве соматических клеток в 1 см³ молока от 50 000 до 300 000, лишь около 10% коров в стаде – с воспалительными процессами.

Обработка сосков молочной железы биопрепаратом на основе молочнокислых и бифидобактерий способствовала снижению соматических клеток в молоке с $383,8 \pm 18,2$ тыс./см³ в начале исследований до $222,6 \pm 11,8$ тыс./см³ к концу исследований и, как следствие, снижению заболеваемости животных маститом до 50%.

Таким образом, применение биопрепарата на основе молочнокислых и бифидобактерий способствовало сокращению общей обсемененности молочной железы бактериями в 2,4 раза, стафилококками – почти в 3,9 раза по сравнению с началом опыта, кроме того, обработка сосков молочной железы данным препаратом способствовала снижению соматических клеток в молоке с $383,8 \pm 18,2$ тыс./см³ в начале исследований до $222,6 \pm 11,8$ тыс./см³ к концу исследований и, как следствие, снижению заболеваемости животных маститом до 50%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анюлис, Э. Диагностика и лечение скрытых маститов у коров / Э. Анюлис, С. Япертас //Материалы конф. - СПб, 2001. С.11-12.

2. Бала, С.С. Диагностика и лечение маститов у коров // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 10 – С. 36-37
3. Кузьмич, Р.Г. Распространение и причины возникновения мастита у коров в хозяйствах Республики Беларусь. // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск. - 2001. - Т.37. - Ч.2. - С. 87-88.
4. Слободяник, В.И. Эффективность комплексной терапии больных маститом лактирующих коров / В.И. Слободяник, Е.В. Зверев //Сб. науч. тр. СПб, 2003. -С.109-110.
5. Ивашура, А.И. Усовершенствование диагностических и лечебных препаратов для борьбы с маститами коров / А. И. Ивашура, А. В. Наследников //Научные труды. - Ставрополь, 1998. С.69-71.
6. Иноземцев, В.П. Ветеринарно-санитарные аспекты получения экологически чистого молока / В.П. Иноземцев, И.И. Валковой, В.М. Юрков, Л.Д. Демидова // Ветеринария. 1999. - №3. - С.3-8.
7. Федоров, В.В. Маститы коров и овец/ В.В. Федоров, Н.А. Сивожелезо-ва: рекомендации. - Оренбург, 2002. - 80 с.

УДК 636.2.03:612.017.1

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ БИОДОБАВКИ НА ЭНЕРГИЮ РОСТА И ИММУННЫЙ СТАТУС ТЕЛЯТ

В.П. Новикова

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

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. В статье приводятся данные научно-хозяйственных опытов в сравнительном аспекте, по скармливанию кормовой биодобавки в рационах молодняка крупного рогатого скота до 3-месячного возраста.

Summary. The article presents the scientific and economic data in comparative analysis relating to adding feed biosupplement in diets fed to young cattle up to 3 months of age.

Введение. Одной из основных задач дальнейшей интенсификации производства продуктов животноводства является повышение уровня продуктивности сельскохозяйственных животных за счет значительно-го повышения уровня кормления, обеспечивающего животных всеми компонентами питания [1, 6, 7, 8].

Знание морфологических и физиологических особенностей организма новорожденных телят необходимо для разработки научно обоснованных мероприятий по выращиванию, кормлению и содержанию молодняка, так как функционирование их органов и тканей отличается от такового у взрослых животных. В этот период у животных еще не сложились адекватные взаимоотношения с внешней средой, а запас

выносливости невелик. В связи с этим разработку методов повышения адаптационных способностей телят в раннем возрасте к условиям внешней среды, стимуляция роста, увеличение выхода и сохранности молодняка сельскохозяйственных животных приобретают важное практическое значение [3, 5].

Высокой сохранности молодняка препятствуют различные заболевания, прежде всего желудочно-кишечные, одни из ведущих мест среди которых занимают диспепсии и гастроэнтериты. Диспепсия новорожденных телят по частоте, массовости и величине экономического ущерба занимает лидирующее место среди других заболеваний и охватывает от 50 до 100% поголовья. Переболевшие животные сильно отстают в росте и восстанавливают свою массу примерно через 20 дней, но энергия роста у них еще длительное время снижена [4, 8].

Для повышения сохранности телят, увеличения скорости роста и профилактики заболеваний пищеварительной системы целесообразно использование кормовой добавки с целью быстрого развития преджелудков телят и дальнейшего заселения их полезной микрофлорой, что исключит возможность возникновения диспепсий и гастроэнтеритов.

Наиболее перспективным будет являться комплексный подход к решению данного вопроса, включающий в себя создание биодобавки с многофункциональным составом. Этот способ физиологичен, не вызывает осложнений, удобен в применении и легко увязывается с технологией кормления [2, 6, 7].

Разработанная нами биодобавка содержит в своем составе кормовые дрожжи, доломит, пребиотик лактулозу и янтарную кислоту. Компоненты различны по направленности действия и функциональной нагрузке, что позволяет решать сразу несколько поставленных задач.

Цель работы – изучить влияние новой, разработанной автором кормовой биодобавки на энергию роста и иммунный статус телят.

Материалы и методы исследований. Работа выполнена в лаборатории гигиены животных УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Проведение экспериментального опыта и отбор материала для исследований производили в КУСХП э/б «Тулово» Витебского района Витебской области.

Для выполнения научно-исследовательской работы было отобрано 40 голов крупного рогатого скота 3-5-дневного возраста. Телят разделили на 4 группы по 10 голов в каждой по принципу аналогов. Технологией предусмотрено однотипное кормление, содержание до одномесячного возраста в индивидуальных домиках на открытых площадках, с последующим переводом в секции по 10 голов с беспривязным

содержанием. В ходе опыта телята первой группы служили контролем; телятам второй группы вводили в рацион кормовую биодобавку в дозе 25 г/голову в сутки, с последующим увеличением до 50 г/голову в сутки; телятам третьей группы – в дозе 50 г/голову в сутки с последующим увеличением до 75 г/голову в сутки; телятам четвертой группы задавали известную кормовую добавку «Малыш» для сравнения в дозе 1 г/голову в сутки.

Интенсивность роста контролировали путем индивидуальных взвешиваний телят с последующим вычислением абсолютного и среднесуточного прироста живой массы.

Абсолютный прирост животных представлял собой разницу между начальной и конечной массой. Среднесуточный прирост живой массы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1} \times 100\%$$

где: A - среднесуточный прирост;

W_1 - начальная масса;

W_2 - конечная масса тела;

$t_2 - t_1$ - время, прошедшее от первого до второго взвешивания.

Сохранность поголовья определяли путем ежедневного учета выбывшего молодняка; заболеваемость животных – путем сопоставления остаточного числа всех животных в каждой группе с числом заболевших.

Перед началом опыта, через 1 месяц, через 2 месяца и в конце опыта от пяти животных из каждой группы отбирали пробы крови из яремной вены. Сыворотку получали после свертывания крови при температуре +37°C с последующим охлаждением до +4°C и центрифугированием в течение 15 мин при 3000 об/мин.

Оценку состояния естественной резистентности организма проводили по следующим показателям:

- фагоцитарная активность нейтрофилов в периферической крови. Оценивали по методу А.И. Иванова и Б.А Чухловина. В качестве объекта фагоцитоза использовали смыв суточной агаровой культуры стафилококка штамм 209 на стерильном 0,85%-ом растворе натрия хлорида с концентрацией 2 млрд. микробных тел в 1 мл. При этом вводили следующие показатели:

1. процент фагоцитоза – процент фагоцитировавших нейтрофилов из общего числа подсчитанных;

2. фагоцитарный индекс – среднее число фагоцитированных микробов на один подсчитанный нейтрофил;

3. фагоцитарное число – среднее число фагоцитированных микробов на один активный нейтрофил.

- бактерицидная активность сыворотки крови. Определяли по методу О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой с использованием суточной культуры кишечной палочки (*E. coli*), штамма №187.

- лизоцимная активность сыворотки крови. Определяли по методу В.Г. Дорофейчука с использованием суточной агарной культуры *Mikrococcus lizodeiticus*.

Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере методами вариационной статистики с использованием пакета программ STATISTICA.

Результаты исследований и их обсуждение. Важным показателем, характеризующим рост и развитие животных, является их живая масса. Контроль за ее изменением позволяет судить об эффективности использования питательных веществ рационов. В связи с этим проводилось ежемесячное индивидуальное взвешивание животных (таблица 1).

Таблица 1– Сохранность, заболеваемость и среднесуточные приросты подопытных телят

Показатели	Группы			
	I Контроль	II 1-я опытная группа	III 2-я опытная группа	IV 3-я опытная группа (базовый препарат для сравнения)
Количество телят в группе: в начале опыта, гол.	10	10	10	10
в конце опыта, гол.	8	10	10	9
Сохранность телят, %	80	100	100	90
Заболело диспепсией/гастроэнтеритом, гол.	7	6	4	2
Среднее количество дней болезни, дн.	7,0±0,43	2,7±0,43***	3,25±0,11***	1,0±0,00***
Живая масса телят: в начале опыта, кг	25,0±0,70	25,3±0,90	25,7±0,9	25,4±0,8
в конце опыта, кг	76,2±5,58	87,9±5,79	81,5±6,01	86,2±6,01
Абсолютный прирост, кг	51,2±7,00	62,6±7,40	55,8±10,20	60,8±9,90
ССП, г	568,0±32,47	673,0±32,47	621,0±38,53	675,0±34,85
% к контролю	100,0	122,3	108,9	118,8

Примечание: * - $p > 0,05$; ** - $p < 0,05$; *** - $p < 0,01$; **** - $p < 0,001$;

* - по отношению к контролю

В начале опыта живая масса телят всех групп была примерно одинаковой и находилась в пределах 25,0-25,7 кг. К концу опыта этот показатель у телят в группе с первой дозой добавки был выше по сравнению с контролем на 11,7 кг, или 13,3%, а в группе со второй дозой – на 5,3 кг, или 6,5%. Слабый прирост живой массы в контроле обусловлен, очевидно, более низкими процессами пищеварения, обмена веществ,

их усвоения и, как следствие, скорости роста, что, по-видимому, и привело к заболеванию большего количества животных (на 10-50%), по сравнению с другими группами, и гибели 20% с клиническими признаками диспепсии.

Исследования показали, что наряду с уменьшением случаев возникновения заболеваний желудочно-кишечного тракта у телят, получавших исследуемую добавку, выздоровление в этих группах также шло быстрее. Во второй группе, где телята получали первую дозу биодобавки, такие клинические признаки, как угнетение, снижение аппетита, понос, взъерошенность шерстного покрова, сухость носового зеркала и видимых слизистых оболочек, западение глазных яблок в орбиты, исчезали уже на 3-й день, а в группе со второй дозой добавки – на 4-й день, в то время как в контроле у аналогов эти признаки наблюдали в течение недели. Т.е. зафиксировано достоверное уменьшение сроков болезни в трех опытных группах, по сравнению с контролем, на 2,3 ($p<0,01$); 3,75 ($p<0,01$) и 6 ($p<0,01$) дней соответственно.

Контроль над динамикой среднесуточного прироста живой массы телят показал, что к концу опыта сверстники, получавшие кормовую биодобавку в первой дозе, превосходили аналогов из контрольной группы на 105 г, или 15,6%, а телята, получавшие добавку во второй дозе, превосходили на 53 г, или 8,5% соответственно.

Также можно говорить о положительном влиянии кормовой биодобавки на уровень естественной резистентности и иммунной реактивности у телят (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели клеточного иммунитета телят

Показатели	Группы			
	I Контроль	II 1-я опытная группа	III 2-я опытная группа	IV 3-я опытная группа (базовый препарат для сравнения)
1	2	3	4	5
Перед началом опыта				
ЛАСК, %	2,7±0,11	2,4±0,11	2,0±0,43	2,7±0,11
БАСК, %	20,0±3,53	12,2±2,38	14,7±0,97	11,6±2,38
Процент фагоцитоза, %	75,2±12,02	75,2±13,73	86,4±6,87	60,8±10,30
Фагоцитарное число	6,0±0,17	5,6±0,71	5,2±0,73	5,2±1,01
Фагоцитарный индекс	5,4±0,49	5,5±0,73	5,1±0,75	4,7±0,67
Через 1 месяц после начала опыта				
ЛАСК, %	2,8±0,43	4,6±0,64*	4,8±0,64*	4,2±0,43
БАСК, %	20,8±5,15	22,6±2,98	20,5±2,04	22,8±2,49
Процент фагоцитоза, %	75,6±3,86	89,6±3,86*	87,2±3,43	87,2±1,72*
Фагоцитарное число	8,7±1,07	9,1±0,86	4,8±0,45	5,2±0,45
Фагоцитарный индекс	6,4±0,75	8,2±0,62	4,2±0,62	4,2±0,88

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5
Через 2 месяца после начала опыта				
ЛАСК, %	3,7±0,43	4,5±0,64	4,9±0,32	4,7±0,43
БАСК, %	21,8±0,97	23,0±3,22	29,0±5,36	25,0±5,36
Процент фагоцитоза, %	92,8±2,58	92,8±6,00	95,2±3,43	96,8±2,58
Фагоцитарное число	14,4±1,42	20,5±3,26	13,9±2,63	19,6±2,32
Фагоцитарный индекс	12,4±2,44	13,5±1,43	11,5±1,12	11,7±1,77
В конце опыта				
ЛАСК, %	4,6±0,32	5,2±0,75	5,9±0,43*	5,8±0,21*
БАСК, %	25,1±0,84	29,0±2,53	27,4±0,84	26,5±1,67
Процент фагоцитоза, %	92,0±3,43	98,4±0,86	96,8±1,72	98,4±0,86
Фагоцитарное число	17,9±2,82	19,8±1,73	20,6±1,65	17,0±2,25
Фагоцитарный индекс	17,3±1,72	19,8±3,19	19,7±2,03	16,4±1,95

Исходя из данных таблицы видно, что уже через месяц после начала опыта показатель лизоцимной активности сыворотки крови был достоверно выше у телят, которым применяли исследуемую добавку в первой и второй дозах, по сравнению с телятами контрольной группы, и составлял $4,6\pm0,64\%$ и $4,8\pm0,64\%$ против $2,8\pm0,43\%$, что на $1,8\%$ ($P<0,05$) и 2% ($P<0,05$) выше соответственно. К концу опыта этот показатель лидировал у группы со 2-й дозой кормовой добавки и был достоверно выше на $1,3\%$ ($P<0,05$) по сравнению с интактными телятами.

При изучении бактерицидной активности сыворотки крови установлено, что у телят получавших, совместно с основным рационом исследуемую кормовую биодобавку в первой дозе уже через месяц после начала опыта данный показатель увеличивался, по сравнению с контролем, на $1,8\%$. Одновременно у животных этой группы возрастали, по сравнению с интактными, фагоцитарное число – на $0,4$, и фагоцитарный индекс – на $1,8$.

Через два месяца после начала опыта данные показатели повышались у животных опытных групп. Одновременно у телят, получавших биодобавку во второй дозе, бактерицидная активность сыворотки крови достигала максимальной величины и составляла $29,0\pm5,36\%$ против $21,8\pm0,97\%$ в контроле и $25,0\pm5,36\%$ в группе, где применяли базовую добавку. Однако показатели фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса были самые высокие у телят, получавших исследуемую биодобавку, но в первой дозе – $20,5\pm3,26$ и $13,5\pm1,43$ против $14,4\pm1,42$ и $12,4\pm2,44$ в контроле.

В конце опыта самая высокая способность сыворотки крови задерживать рост микроорганизмов установлена у телят 1-й опытной группы, и составляла $29,0\%$, что является больше на $3,9\%$ по сравнению интактными телятами, на $1,4\%$ по сравнению со 2-й опытной группой, а с 3-й – на $2,5\%$. Это позволяет судить о повышении естест-

венных защитных сил организма телят в связи с применением исследуемой кормовой добавки.

Через 1 месяц после начала опыта у животных всех опытных групп повышалась фагоцитарная активность нейтрофилов. Наиболее высоким этот показатель был у животных, которым добавляли в рацион биодобавку в первой дозе, и составила $89,6 \pm 3,86$ против $75,6 \pm 3,86$ у интактных телят (т.е. достоверно выше на 14% ($P < 0,05$)) и $87,2 \pm 1,72$ у животных, получавших биодобавку во 2-й дозе и базовую кормовую добавку соответственно. Эта закономерность сохранилась до конца опыта: разница у телят 1-й опытной группы с контролем составила 6,4%, а со 2-й группой 1,6%.

Установлено, что фагоцитарное число и фагоцитарный индекс в конце опыта возросли в 1-й опытной группе на 9,6% и 12,6% соответственно, во второй опытной группе - на 13,1% и 12,2% соответственно, по сравнению с контролем, что позволяет судить о повышении иммунного статуса телят опытных групп, получавших дополнительно с основным рационом изучаемую кормовую биодобавку.

Высокие показатели лизоцимной, бактерицидной активности сыворотки крови, а также фагоцитарной активности нейтрофилов в опытных группах по сравнению с контролем свидетельствует о более высоком уровне иммунитета и лучшей приспособленности организма к постнатальному периоду жизни.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что использование разработанной кормовой биодобавки способствует активизации бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, фагоцитарной способности нейтрофилов, повышая тем самым уровень естественной резистентности и иммунной реактивности у телят, улучшая сопротивляемость организма животных к инфекциям.

Также добавка способствует повышению аппетита животных, снабжению организма телят необходимыми для роста питательными и минеральными веществами, что увеличивает среднесуточный прирост на 8-15%, профилактирует возникновение диспепсии. Таким образом, обеспечивается высокая энергия роста молодняка крупного рогатого скота до 3-месячного возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карандаев А.С. Влияние препаратов «Янтарос Плюс» и триптофаната меди на биохимические показатели крови и продуктивность телят : автореф. дис. ... канд. сельскохозяйственных наук : 03.00.13 / А.С. Карандаев / Казанская гос. акад. вет. мед. им. Н.Э. Баумана-Казань, 1999.-21 с.
2. Кондрахин, И.П. Диагностика и терапия внутренних болезней животных / И.П. Кондрахин, В.И. Левченко. - М.: Аквариум-принт, 2005. - 700 с.

3. Мазоло, Н.В. Использование комплексной ферментной добавки «Малыш» при выращивании телят молочного периода / Н.В. Мазоло, В. Н. Лаптенюк // РацВет Информ. - Ярославль, 2010. - № 12 (112). - С. 41 - 43.
4. Мазоло, Н.В. Кормовая добавка «Малыш» / Н.В. Мазоло, В.Н. Лаптенюк // АГРО- пост. - Минск, 2010. - №10 [19]. - С. 47.
5. Мазоло, Н.В. Продуктивность и естественная резистентность телят в профилак- торный период в зависимости от условий содержания / Н.В. Мазоло // Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академии ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / Витебская государственная академии ветеринарной медицины, ред. А.И. Ятусевич [и др.]. - Витебск: ВГАВМ, 2010. - Т.46, вып. 2. - С. 240 - 243.
6. Оказов, Т. А. Рост, развитие, резистентность телят и молочная продуктивность коров при лазеропунктуре : автореф. дис. ... канд. сельскохозяйственных наук : 06.02.04 / Т.А. Оказов / Горский гос. аграр. ун-т. - Владикавказ, 2009. - 23 с.
7. Таранович, А. Здоровье телят - путь к успешному выращиванию высокопродуктивных животных / А. Таранович // Молочное и мясное скотоводство. - 2010. - № 1. - С.17- 18.
8. Ятусевич, А.И Справочник врача ветеринарной медицины / А.И. Ятусевич [и др.]. - Минск, 2007. 971 с.

УДК 619:616.36:636.4:612.015

ИЗУЧЕНИЕ ПАТОЛОГИЙ ПЕЧЕНИ У СВИНОМАТОК В УСЛОВИЯХ СВИНОКОМПЛЕКСА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТОДИАГНОСТИКИ

С.В. Петровский¹, Н.К. Хлебус²

¹ – УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

² – ОАО «Витебский комбинат хлебопродуктов»,
г. Витебск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 10.06.2013 г.)

Аннотация. У свиноматок, содержащихся в условиях промышленных комплексов, возникают патологии печени. С увеличением количества опоросов и периода супоросности увеличивается количество животных, с изменениями ферментного состава крови. Данные изменения характеризуют развитие у свиноматок в паренхиме печени цитолиза, печёночной недостаточности и холестаза.

Summary. Sows kept in industrial complexes have liver diseases. With the increase in the number of litters and the period of gestation increases the number of animals with changes in the enzyme composition of blood. These changes characterize the development of sows in the parenchyma of the liver cytolysis, liver failure and cholestasis.

Введение. Осуществлённый к настоящему времени перевод свиноводства на промышленную основу требует решения ряда значимых про-

блем. Одной из таких проблем остаётся поддержание высокого уровня здоровья у свиней различных половозрастных и хозяйственных групп. Вместе с тем нельзя не признать, что важной составляющей цикличности производства в условиях свиноводческого комплекса является получение качественного приплода. Это возможно только при условии сохранения репродуктивных способностей свиноматок. На репродукцию свиноматок оказывает большое количество факторов заразного и незаразного происхождения [12, 14]. Безусловно, данные факторы (прежде всего кормовые интоксикации) оказывают негативное влияние на печень свиноматок и других групп свиней [5, 7, 10, 13]. Нарушения функциональной работы печени в период беременности неизбежно ведут к развитию метаболических нарушений и угнетению роста и развития плодов, о чём свидетельствуют исследования, проведенные в медицине [6, 16]. Сведения же о наличии печёночных патологий у свиноматок отсутствуют, хотя имеются сведения о широком распространении гепатитов и гепатозов у молодняка свиней [1, 2, 15]. Следует отметить, что диагностика гепатопатий с использованием клинических методов у свиней затруднена, поэтому для мониторинга заболеваемости целесообразно применение биохимических методов [8, 9, 11].

Целью нашей работы стало изучение распространения печёочной патологии у супоросных свиноматок, содержащихся в условиях комплекса с применением энзимодиагностики.

Материал и методы исследований. В условиях свиноводческого комплекса (СК-54) нами были сформированы группы свиноматок различных возрастов (осеменённые ремонтные свинки, свиноматки после 2-3-го опороса, свиноматки после четырёх и более опоросов) и периодов супоросности (30 дней, 60 дней и 90 дней). В каждую группу входило по 25 свиноматок. Все животные на момент формирования групп были клинически здоровые. Осеменённые ремонтные свинки всех периодов супоросности составили 1-ую группу, свиноматки после 2-ого-3-его опороса составили 2-ю группу, а свиноматки, поросившиеся 4 и более раз, составили 3-ю группу животных.

У всех свиноматок была получена кровь для биохимического исследования. В сыворотке крови определялась активность ферментов, диагностически значимых при выявлении патологии печени: аспарат- и аланиламинотрансферазы (АсАт и АлАт), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) и холинэстеразы (ХЭ). При этом были использованы общепринятые методики [3]. Кроме того, был рассчитан коэффициент де Ритиса (КДР), представляющий соотношение активностей АсАт и АлАт. Полученные результаты были обработаны с использованием пакета программ Mi-

crosoft Excel и интерпретировались в соответствие с данными, приведенными в [4].

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенных исследований нами был выявлен ряд закономерностей, позволяющих судить о распространении патологий печени у свиноматок (таблицы 1-6).

Таблица 1– Активность ферментов, характеризующих цитолитический синдром у свиноматок (30 дней супоросности)

Показатель	АсАт, ИЕ/л	АлАт, ИЕ/л	КДР	ЛДГ, ИЕ/л
1-ая группа				
$\bar{X} \pm \sigma$	33,46±8,133	39,10±15,081	0,90±0,228	432,24±91,106
Lim	23,70-58,63	24,44-93,67	0,49-1,43	318,10-669,67
Выше нормы	3	2	4	2
Ниже нормы	1	0	18	0
В пределах нормы	21	23	3	23
2-ая группа				
$\bar{X} \pm \sigma$	77,51±55,203	62,79±33,055	1,20±0,493	575,07±193,287
Lim	24,97-216,18	23,95-158,75	0,49-2,63	320,75-1051,4
Выше нормы	14	13	9	12
Ниже нормы	0	1	9	0
В пределах нормы	11	11	7	13
3-я группа				
$\bar{X} \pm \sigma$	63,83±15,449	70,71±17,749	0,95±0,288	796,94±160,805
Lim	41,54-97,87	40,01-105,77	0,5-1,63	571,16-1253,3
Выше нормы	24	22	5	25
Ниже нормы	0	0	18	0
В пределах нормы	1	3	2	0
Нормативные значения	24-42	24-48	1,0-1,14	300-540

Как следует из данных таблицы, у осеменённых ремонтных свинок отмечались единичные случаи выхода активностей ферментов за пределы референтных значений. Установленные увеличения активностей трансаминаз и ЛДГ свидетельствуют о развитии у отдельных животных состояния цитолиза, связанного с повышенной проницаемостью клеточных мембран. С увеличением возраста свиноматок происходило увеличение количества животных с изменённым ферментным статусом (от 48 до 56%). Наиболее существенно в данной группе свиноматок увеличивалась активность АсАт. Это может свидетельствовать о развитии патологических изменений в сердечной ткани, а также о тяжёлых поражениях печёночной паренхимы (например, при хронически протекающем гепатите).

Среди «старых» свиноматок отмечены отдельные случаи сохранения активности ферментов в пределах колебаний. Произошло некоторое снижение активностей трансаминаз, что является показателем

перехода процесса в хроническое течение. Вместе с тем возрастание активности ЛДГ указывает на развитие в печени вторичных повреждений (вследствие холестаза), а также на вовлечение в патологический процесс почек.

Таблица 2 – Активность ферментов, характеризующих гепатодепрессивный синдром и синдром холестаза у свиноматок (30 дней супоросности)

Показатель	ЩФ, ИЕ/л	ГГТП, ИЕ/л	ХЭ, ИЕ/л
1-ая группа			
$X \pm \sigma$	64,72±13,282	46,69±12,992	482,34±65,852
Lim	42,55-84,14	24,75-71,03	363,63-597,87
Выше нормы	1	0	3
Ниже нормы	0	0	0
В пределах нормы	24	25	22
2-ая группа			
$X \pm \sigma$	135,13±72,359	73,28±41,132	465,64±91,842
Lim	43,02-264,26	27,85-238,94	291,38-595,63
Выше нормы	15	11	0
Ниже нормы	0	0	3
В пределах нормы	10	14	22
3-я группа			
$X \pm \sigma$	157,65±71,615	217,80±62,561	306,60±100,492
Lim	42,51-310,02	120,25-358,42	170,43-522,45
Выше нормы	18	25	0
Ниже нормы	0	0	18
В пределах нормы	7	0	7
Нормативные значения	42-84	24-66	360-600

У «молодых» свиноматок определяемые показатели находились в пределах физиологических значений, однако с увеличением возраста количество таких животных уменьшалось. Только у 28% свиноматок старшего возраста активности ЩФ и ХЭ находились в пределах референтных значений. Полученные результаты указывают на нарастание с возрастом дистрофических изменений в печени свиноматок, сопровождающихся развитием застойных явлений в системе желчевыводящих путей, что сопровождается снижением желчевыделения и снижением усвоения липидов и связанных с ними биологически активных веществ.

Таблица 3 – Активность ферментов, характеризующих цитолитический синдром у свиноматок (60 дней супоросности)

Показатель	АсАт, ИЕ/л	АлАт, ИЕ/л	КДР	ЛДГ, ИЕ/л
1	2	3	4	5
1-ая группа				
$X \pm \sigma$	34,71±7,605	42,09±19,754	0,93±0,340	441,14±114,505
Lim	24,15-53,45	23,64-103,20	0,44-1,64	312,87-855,33

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5
Выше нормы	4	3	8	3
Ниже нормы	0	1	15	0
В пределах нормы	21	21	2	22
2-ая группа				
$\bar{X} \pm \sigma$	99,39±66,530	79,34±40,654	1,22±0,460	642,01±250,999
Lim	27,21-202,6	23,37-143,69	0,49-2,08	307,39-1137,06
Выше нормы	16	15	11	12
Ниже нормы	0	1	10	0
В пределах нормы	9	9	4	13
3-я группа				
$\bar{X} \pm \sigma$	66,24±14,277	79,60±15,926	0,87±0,278	873,12±177,662
Lim	41,93-94,94	51,79-113,86	0,51-1,56	613,6-1284,49
Выше нормы	24	25	5	25
Ниже нормы	0	0	16	0
В пределах нормы	1	0	4	0
Нормативные значения	24-42	24-48	1,0-1,14	300-540

С увеличением сроков супоросности и увеличением токсической нагрузки на печень возрастало количество животных с изменённой активностью ферментов, указывающей на развитие в тканях печени цитолитических изменений. Так, если у 84% «молодых» свиноматок активность трансаминаз находилась в пределах физиологических значений, то среди свиней, имеющих 2-3 опороса, количество таких животных уменьшилось до 36%, а у более старших свиноматок до 4% для АсАт (активность АлАт у всех свиноматок выходила за верхние границы колебаний). Что касается активности ЛДГ, то динамика её изменения была сходной. Снижение также КДР свидетельствует о развитии патологического процесса именно в печёночной ткани.

Таблица 4 – Активность ферментов, характеризующих гепатодепрессивный синдром и синдром холестаза у свиноматок (60 дней супоросности)

Показатель	ЩФ, ИЕ/л	ГГТП, ИЕ/л	ХЭ, ИЕ/л
1	2	3	4
1-ая группа			
$\bar{X} \pm \sigma$	60,08±11,946	50,74±16,494	490,12±55,404
Lim	43,66-80,11	25,81-78,89	397,71-584,46
Выше нормы	0	3	0
Ниже нормы	0	0	0
В пределах нормы	25	22	25
2-ая группа			
$\bar{X} \pm \sigma$	140,18±74,539	130,15±89,875	450,93±88,695
Lim	50,22-292,85	24,77-283,45	268,45-579,8
Выше нормы	14	15	0
Ниже нормы	0	0	4

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4
В пределах нормы	11	10	21
3-я группа			
$X \pm \sigma$	169,65 $\pm$ 76,687	219,49 $\pm$ 68,975	288,07 $\pm$ 116,490
Lim	44,21-299,28	129,4-379,63	175,19-599,95
Выше нормы	18	25	0
Ниже нормы	0	0	18
В пределах нормы	7	0	7
Нормативные значения	42-84	24-66	360-600

Изменения активности ферментов, указывающие на развитие холестаза или гепатодепрессии, у нерожавших свиноматок практически не регистрируются. С увеличением количества опоросов возрастает количество животных с изменениями, свойственными для холестаза (в группе свиноматок с 2-3 опоросами активность ЩФ увеличена у 56%, а ГГТП – у 60%, а у свиноматок, рожавших 4 и более раз, уже у 72% и 100% соответственно). Активность же ХЭ, образующейся в печёночной ткани и характеризующей синтетическую активность печени, находилась в пределах колебаний у 100% молодых свиноматок, у 84% свиноматок 2-й группы и только у 28% свиноматок 3-й группы.

Таблица 5 – Активность ферментов, характеризующих цитолитический синдром у свиноматок (90 дней супоросности)

Показатель	АсАт, ИЕ/л	АлАт, ИЕ/л	КДР	ЛДГ, ИЕ/л
1-ая группа				
$X \pm \sigma$	37,71 $\pm$ 6,689	57,48 $\pm$ 44,996	0,90 $\pm$ 0,380	525,50 $\pm$ 188,015
Lim	25,80-57,47	24,37-173,66	0,22-1,76	300,01-1088,84
Выше нормы	3	8	9	6
Ниже нормы	0	0	15	0
В пределах нормы	22	17	1	19
2-ая группа				
$X \pm \sigma$	48,32 $\pm$ 7,426	47,03 $\pm$ 10,403	1,07 $\pm$ 0,255	530,56 $\pm$ 97,715
Lim	31,17-62,35	29,26-64,86	0,63-1,68	350,50-756,85
Выше нормы	20	12		11
Ниже нормы	0	0	9	0
В пределах нормы	5	13	13	14
3-я группа				
$X \pm \sigma$	41,34 $\pm$ 8,492	56,61 $\pm$ 26,144	0,99 $\pm$ 0,643	542,69 $\pm$ 86,340
Lim	31,24-68,30	15,96-110,52	0,39-2,45	404,40-720,04
Выше нормы	10	15	7	12
Ниже нормы	0	6	17	0
В пределах нормы	15	4	1	13
Нормативные значения	24-42	24-48	1,0-1,4	300-540

С увеличением сроков супоросности общая тенденция у свиноматок различных возрастов не изменилась. За пределы физиологических колебаний активности исследованных ферментов в крови выходили за пределы физиологических значений у свиноматок 1-й группы: для АсАт - у 12% животных, для АлАт – у 32%, для ЛДГ – у 24%. У свиноматок 2-й группы эти значения возросли для АсАт – до 80% животных, для АлАт – у 48% животных, а для ЛДГ – у 44% животных. Среди свиноматок 3-й группы относительное количество таких животных составило соответственно 40, 84 и 48%.

Таблица 6 – Активность ферментов, характеризующих гепатодепрессивный синдром и синдром холестаза у свиноматок (90 дней супоросности)

Показатель	ЩФ, ИЕ/л	ГГТП, ИЕ/л	ХЭ, ИЕ/л
1-ая группа			
$\bar{X} \pm \sigma$	64,14 $\pm$ 12,912	43,46 $\pm$ 11,337	478,71 $\pm$ 97,338
Lim	42,28-82,93	53,23-328,99	317,46-645,66
Выше нормы	0	20	3
Ниже нормы	0	0	3
В пределах нормы	25	5	19
2-ая группа			
$\bar{X} \pm \sigma$	78,92 $\pm$ 18,535	129,22 $\pm$ 59,772	454,72 $\pm$ 142,760
Lim	53,79-124,4	40,11-237,10	208,97-658,02
Выше нормы	9	20	8
Ниже нормы	0	0	5
В пределах нормы	16	5	12
3-я группа			
$\bar{X} \pm \sigma$	93,39 $\pm$ 21,723	131,65 $\pm$ 46,825	424,16 $\pm$ 128,448
Lim	49,52-135,66	49,32-186,17	262,82-651,90
Выше нормы	17	22	3
Ниже нормы	0	0	12
В пределах нормы	8	3	10
Нормативные значения	42-84	24-66	360-600

С увеличением сроков супоросности компенсаторные механизмы в печени у свиноматок 1-й группы продолжали функционировать на высоком уровне. У свиноматок 2-й количество животных, показатели активности ферментов, в крови которых соответствовали референтным значениям, составило для ЩФ – 64%, для ГГТП – 20%, а для ХЭ – 48%. В 3-й группе произошло увеличение количества свиноматок с показателями активности ферментов которых соответствовали физиологическим значениям (для ЩФ – у 32%, для ГГТП – для 12%, а для ХЭ – у 40%). Это может быть обусловлено изменением кормления глубоко-супоросных свиноматок (переход на комбикорм СК-10, содержащий

повышенные количества гепатопротекторов – витаминов А, Е и микроэлемента селена).

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

- 1) у свиноматок, содержащихся в условиях промышленной технологии, функциональное состояние печени определяется возрастом (количеством опоросов) и периодом супоросности;
- 2) во все периоды супоросности в крови у свиноматок выявляются изменения активности ферментов, характеризующие цитолитический синдром;
- 3) с возрастом в крови у свиноматок нарастают изменения ферментной активности, характеризующие развитие в печени дистрофии и холестаза;
- 4) для раннего выявления патологий печени у свиноматок следует проводить регулярные мониторинговые исследования у свиноматок различных возрастов и периодов супоросности;
- 5) развитие у свиноматок патологических изменений в печени, выявляемых посредством ферментодиагностики, требует проведения профилактических мероприятий с использованием современных гепатопротекторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаев, Ш.М. Токсическая гепатодистрофия поросят / Ш.М. Абдуллаева // Ветеринария, 1985. - №2. – С.61-68.
2. Емельянов, В.В. Лекарственный гепатит у поросят / В.В. Емельянов, И.З. Севрюк // Ученые записки УО «Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины». – Витебск, 2005. т. 41, ч.1. – с. 46-49.
3. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник/ Под ред. И. П. Кондрахина.- М.: КолосС, 2004.- 520 с.
4. Рекомендации по клинико-биохимическому контролю состояния здоровья свиней/ А. П. Курдеко [и др.].- Витебск: УО ВГАВМ, 2003.- 56 с.
5. Agag, B.I.Mycotoxins in foods and feeds / B.I. Agag // Ass. Univ. Bull. Environ. Res.- 2004.- Vol. 7, №. 1.- P. 173-206
6. Bellig, L. L. Maternal acute fatty liver of pregnancy and the associated risk for long-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme a dehydrogenase (LCHAD) deficiency in infants./ L. L. Bellig // Adv Neonatal Care.- 2004.- Vol. 4, № 1.- P. 26–32.
7. Bennett, J. W. Mycotoxins / J. W. Bennett1, M. Klich // Clin Microbiol Rev.- 2003.- Vol. 16, № 3.- P. 497–516.
8. Diagnosis and monitoring of hepatic injury. i. performance characteristics of laboratory tests / D. Robert [et al.].// Clinical Chemistry. – 2000. – Vol. 46, № 12.- P. 2027-2049.
9. Effects of aqueous white grubs extract on some markers of liver injury in guinea pigs / Y. Murtala [et al.].// Bayero Journal of Pure and Applied Sciences.- 2012.- Vol. 5,№ 1.- P. 171 – 174.
10. Effect of fumonisin B1 on protein and lipid synthesis in primary rat hepatocytes / W. C. Gelderblom [et al.].// Food Chem. Toxicol. – 1996.- Vol. 34, № 3.- P. 361-369.
11. Hauptman, K. Clinical diagnostics of hepatopathies in small mammals: evaluation of importance of individual methods / K. Hauptman , F. Tich⁺ , Z. Knotek // Cta Vet. Brno.- 2001.- Vol. 70, № 2.-:P. 297–311.

12. Kanora, A. The role of mycotoxins in pig reproduction: a review / A. Kanora, D. Maes // Veterinarni Medicina.- 2009.- Vol. 54, № 12.- P. 565–576.
13. Oxidative DNA damage estimated by oxo8dG in the liver of guinea-pigs supplemented with graded dietary doses of ascorbic acid and alpha-tocopherol / S. Cadenas [et al.]// Carcinogenesis.- 1997.- Vol. 18, № 12.- P. 2373-2377.
14. Reproductive diseases in sows (Sus scrofa domestica): a review / P.S.Pozzi [et al.]// J. Anim. Feed. Sci.- 2005.- Vol. 14, suppl. 1.- P. 205-212.
15. Rosell, C. Hepatitis and Staging of Hepatic Damage in Pigs Naturally Infected with Porcine Circovirus Type 2 / C. Rosell, J. Segalés, M. Domingo // Veterinary Pathology – 2000. - Vol. 37, № 6ю – P. 687-692.
16. Tein, I. Metabolic disease in the fetus predisposes to maternal hepatic complications of pregnancy / I. Tein // Pediatr. Res.- 2000.- Vol. 47, № 1.- P. 6–8.

УДК 619:636.4.053:612.3(476)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА «ВЕТОКС-1000» ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПОРОСЯТ

А.П. Свиридова, С.Л. Поплавская, И.М. Лойко, О.В. Копоть

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

***Аннотация.** Изучались лечебные и профилактические свойства антибактериального препарата «ВетОкс-1000» при заболеваниях желудочно-кишечного тракта поросят. Установлено, что применение антибактериального лекарственного средства «ВетОкс-1000» за 30 мин до кормления путем выпаивания по 200-300 мл раствора препарата однократно способствует более быстрому выздоровлению животных. Улучшение клинического состояния поросят-отъемышей наблюдается уже на 2 сутки после применения препарата. Кроме того, использование данного препарата нормализует гематологические и биохимические показатели поросят-отъемышей, сокращает длительность болезни животных на 3-4 дня в сравнении с антибактериальным лекарственным средством, применяемым в хозяйстве, и повышает эффективность лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта.*

***Summary.** We studied the therapeutic and prophylactic properties of antibacterial drug "VetOks-1000" in diseases of the gastrointestinal tract of pigs. It is established that the use of an antimicrobial medicament "VetOks 1000" for 30 minutes before feeding by watering 200-300 ml of a unitary, promotes faster recovery of the animals. Improved clinical status of weaned piglets has been observed at day 2 after treatment. In addition, the use of the drug normalizes hematological and biochemical parameters of weaned piglets, shortens the duration of disease of animals for 3-4 days compared with an antibacterial drug used in the economy, and increases the effectiveness of treatment of diseases of the gastrointestinal tract.*

Введение. На современном этапе ведения животноводства сложились условия, которые позволили комплексно решать вопросы по-

вышения производства продуктов животного происхождения при минимальных затратах труда и средств. Однако эти новые методы ведения животноводства, специфика сложившейся технологии содержания и кормления животных существенно изменила среду их обитания, то есть на ограниченных площадях сконцентрировано большое количество разновозрастных животных. В таких условиях практически все возбудители могут приобрести патогенные свойства. Несмотря на успехи ветеринарной и фармацевтической науки, заболевания желудочно-кишечного тракта до сих пор являются важной проблемой, требующей неотложного решения. Низкая эффективность лечебно-профилактических мероприятий при инфекциях пищеварительной системы обусловлена высокой антигенной вариабельностью штаммов бактерий, их высокой изменчивостью и ассоциативностью. Большой проблемой также является лекарственная резистентность возбудителей заболеваний желудочно-кишечного тракта, в том числе одновременно к нескольким антибактериальным препаратам.

Одним из путей повышения эффективности лечения болезней, вызванных полирезистентными к антибиотикам штаммами микроорганизмов, является использование новых соединений, с оригинальным механизмом действия, к которым у бактерий еще не сформировались механизмы устойчивости.

Все это требует поиска и разработки новых антимикробных средств с различными механизмами антимикробного действия. С рассматриваемых позиций значительный интерес представляет препарат «ВетОкс-1000» ООО НУ НПФ «Бровафарма[®]», Украина.

«ВетОкс-1000» – антибактериальное лекарственное средство для лечения молодняка сельскохозяйственных животных и птицы при болезнях бактериальной этиологии. В качестве действующего вещества содержит натрия гипохлорида 1,1-1,30 г и вспомогательные компоненты (натрия хлорид 16,0-18,0 г и воду апирогеновую). Гипохлорид натрия обладает бактерицидной активностью в отношении штаммов кишечной палочки, золотистого стафилококка, пневмонийного стрептококка, синегнойной палочки, сальмонелл, вульгарного протей.

«ВетОкс-1000» для перорального применения назначают с лечебной целью телятам, пороссятам и сельскохозяйственной птице при колибактериозе, сальмонеллезе, микотоксикозах. Препарат способствует нейтрализации и удалению токсинов из крови, тканей и полостей организма животных за счет активизации окислительно-восстановительных реакций.

Цель работы – изучить лечебные и профилактические свойства антибактериального препарата «ВетОкс-1000» при заболеваниях желудочно-кишечного тракта поросят.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в ОАО «Черлена» Мостовского района. Для опыта сформировали две группы поросят с патологией желудочно-кишечного тракта в возрасте 30 – 35 дней (условных аналогов) – контрольная и опытная.

Поросятам опытной группы применяли препарат «ВетОкс-1000» перорально за 30 мин до кормления путем выпаивания по 200-300 мл раствора препарата однократно. Животным контрольной группы оказывали лечебную помощь антибактериальным препаратом (согласно инструкции), применяемым в хозяйстве. Производственные испытания проведены на 20 животных.

Изучение лечебной эффективности препарата «ВетОкс-1000» для перорального применения выполняли на фоне принятой в хозяйстве технологии кормления и содержания животных, а также схем ветеринарных мероприятий.

За подопытными животными велось ежедневное клиническое наблюдение с выборочным измерением температуры тела. О выздоровлении животных судили по отсутствию клинических признаков заболевания.

При проведении исследований учитывались: продолжительность болезни (срок выздоровления), сохранность поросят, живая масса, общие гематологические и биохимические показатели крови подопытных животных.

Бактериологические исследования для установления роли патогенной микрофлоры в возникновении заболеваний бактериальной этиологии проводили по общепринятым методикам.

В крови определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина и гематокритную величину с помощью гематологического анализатора MEDONIC CA – 620 (Швеция). В основу работы анализатора положен импульсный принцип подсчета частиц микронного размера. Стабилизированная проба крови помещается под капилляр приемника проб, из которого происходит ее засасывание в необходимом объеме и автоматический подсчет форменных элементов крови с распечаткой результатов на принтере.

Сыворотку крови получали выдерживанием крови в течение двух часов при комнатной температуре с последующим отделением свернувшейся крови от стенки пробирки стеклянной палочкой и центрифугированием в течение 10 мин при 3000 мин⁻¹.

Биохимические показатели сыворотки крови свиней определяли на автоматическом биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer 20010D. Анализатор осуществляет работу со всеми типами биохимических реакций. Диапазон измерения оптической плотности 340-750

нм с шириной щели 10 нм. Пробы и реагенты устанавливаются на борт анализатора, затем происходит автоматическое внесение всех необходимых компонентов реакции, согласно введенной программе, измерение оптической плотности в нужные интервалы времени и автоматический расчет концентрации определяемого компонента.

Биометрическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютера в программе Microsoft Excel методами вариационной статистики. Все результаты исследований приведены к Международной системе единиц СИ. Определены средние арифметические каждого вариационного ряда, стандартные ошибки средней, степень вероятности нулевой гипотезы по сравнению с контролем путем вычисления критерия Стьюдента-Фишера. При $P < 0,05$ различие средних арифметических сравниваемых вариационных рядов считалось достоверным.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований показали, что у поросят-отъемышей с признаками гастроэнтерита патогенная кишечная палочка выделялась у всех животных (100%), протей – у 62,5%, стрептококки – у 45%, стафилококки – у 36% животных.

Результаты клинических наблюдений показали, что в начале опыта у больных поросят отмечался отказ от корма, угнетение, понос. Фекалии были желто-серого цвета с примесью слизи. Температура тела была в пределах 39,5-40,0⁰ С. Среднесуточные приросты живой массы здоровых поросят данной группы составили 400-450 г, а больных поросят – 0-50 г. Больным животным была оказана лечебная помощь.

Животным опытной группы применяли препарат «ВетОкс-1000» за 30 мин до кормления путем выпаивания по 200-300 мл раствора препарата однократно, а животным контрольной группы применяли Тилозин-50 в дозе 2 мл на 10 кг живой массы в течение 3-5 дней. При проведении дальнейших наблюдений у животных опытной группы улучшение общего состояния наблюдалось на 2 сутки после применения препарата. Причем у 60% животных на 2 сутки клинические признаки заболевания отсутствовали, а у 40% поросят-отъемышей из клинических признаков отмечалось неохотное (вялое) поедание корма, понос с выделением разжиженных фекалий, температура тела была в пределах 39⁰С. Данным животным повторно применяли препарат «ВетОкс-1000».

У животных контрольной группы улучшение общего состояния наблюдалось на 3-4 сутки, причем один поросенок пал.

Изменение клинического состояния животных подтверждается результатами биохимических и гематологических исследований.

В первый день исследований отмечено превышение физиологической нормы по содержанию лейкоцитов на 25,5 – 34,7% и гематокрита на 9,0-9,9% у животных контрольной и опытной групп (таблица 1), что свидетельствует о дегидратации организма и развитии воспалительного процесса. К 7 дню исследований отмечено некоторое увеличение эритроцитов и гемоглобина у животных опытной и контрольной групп. В то же время отмечено снижение количества лейкоцитов и гематокрита.

Так, концентрация гемоглобина у поросят опытной группы увеличилась на 6,1% в сравнении с контролем.

Таблица 1 – Гематологические показатели поросят-отъемышей при гастроэнтерите бактериальной этиологии

Группы	Эритроциты, $10^{12}/л$	Лейкоциты, $10^9/л$	Тромбоциты, $10^9/л$	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
1 день исследований					
контрольная	5,90 ±0,17	20,08 ±1,55	302,0 ±21,5	100,75 ±1,64	45,78 ±0,52
опытная	5,70 ±0,24	21,56 ±0,88	275,4 ±23,0	99,20 ±1,75	46,15 ±0,34
7 день исследований					
контрольная	6,00 ±0,35	18,33 ±1,18	300,33 ±34,6	102,50 ±2,20	40,45 ±1,13
опытная	6,42 ±0,26	17,83 ±1,26	265,5 ±30,2*	108,80 ±2,16*	39,21 ±0,85
* - $P<0,05$; ** - $P<0,01$ – в сравнении с контролем					

Количество лейкоцитов снизилось на 8,7% у животных контрольной группы и на 17,3% у животных опытной группы в сравнении с началом опыта. Показатель гематокрита к 7 дню исследований уменьшился и составил 40,45% в контрольной группе и 39,21% в опытной, что соответствует физиологической норме.

Лейкограмма поросят-отъемышей при применении препарата «ВетОкс-1000» представлена в таблице 2.

У животных контрольной и опытной групп количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в начале опыта превышало физиологическую норму на 30,0-17,5% и на 18,4-15,4% соответственно. В то же время количество лимфоцитов было ниже физиологической нормы на 16,9-12,0%, что свидетельствует о недостаточной активности иммунной системы организма.

У животных опытной группы к 7 дню исследований показатели лейкоцитарной формулы соответствовали физиологической норме. Отмечено достоверное снижение количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов на 22,0% и 9,9% соответственно в сравнении с контролем, и увеличение содержания лимфоцитов на 16,2%.

Таблица 2 – Лейкограмма поросят-отъемышей при применении препарата «ВетОкс-1000», %

Группы	Эозинофи- лы	Нейтрофилы			Лимфо- циты	Моноци- ты
		юные	палочко- дерные	сегментоя- дерные		
1 день						
контроль- ная	1,80 ±0,26	0	5,20 ±0,61	52,10 ±0,82	37,40 ±0,72	3,50 ±0,27
опытная	1,60 ±0,16	0	4,70 ±0,56	50,80 ±1,08	39,60 ±0,85	3,30 ±0,33
7 день						
контроль- ная	1,70 ±0,16	0	5,00 ±0,69	48,40 ±1,24	40,70 ±1,33	4,20 ±0,13
опытная	1,20 ±0,15	0	3,20 ±0,50*	43,60 ±1,13**	47,30 ±1,40**	4,00 ±0,15
* - P<0,05; ** - P<0,01 – по отношению к контролю						

В первый день исследований содержание общего белка и белковых фракций в сыворотке крови животных обеих групп было несколько ниже физиологической нормы (таблица 3).

Таблица 3 – Биохимические показатели поросят-отъемышей при гастроэнтерите бактериальной этиологии

Группы	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Глобулины, г/л	Глюкоза, ммоль/л
1 день				
контрольная	58,20 ±1,07	32,05 ±1,49	26,15 ±1,36	3,15 ±0,37
опытная	57,90 ±1,15	31,54 ±1,35	26,36 ±1,42	3,22 ±0,50
7 день				
контрольная	58,50 ±1,34	31,73 ±1,40	26,77 ±1,16	3,32 ±0,26
опытная	59,60 ±1,26	31,20 ±1,36	28,40 ±1,30*	4,10 ±0,38*
* -P<0,05; ** - P<0,01 – в сравнении с контролем				

К 7 дню исследований у поросят-отъемышей опытной группы отмечено некоторое увеличение концентрации общего белка и глобулинов (на 2% и 6%) в сравнении с контролем. Важное диагностическое значение имеет определение концентрации альбумина в крови, так как, являясь основным транспортным белком в организме, играет значительную роль в осуществлении процессов детоксикации организма, регулирует водный и минеральный обмен. Концентрация альбуминов как в начале исследований, так и в конце опыта у животных всех групп была в пределах 31,20-32,05 г/л.

К концу исследований у животных опытной группы, в результате применения препарата «ВетОкс-1000», отмечено увеличение концентрации глюкозы с 3,22 до 4,10 ммоль/л. Содержание глюкозы в крови во многом зависит от особенностей ее обмена, складывающегося из процессов поступления углеводов в организм, их метаболизма на

уровне клеток и тканей, а также выделения из него. Для осуществления полноценного переваривания и абсорбции углеводов слизистой оболочкой стенки кишечника необходимо наличие в ее просвете ряда ферментов, поддержание соответствующего оптимума pH, наличие в корме белков и аминокислот, поэтому между белковым и углеводным обменами существует тесная корреляция.

Заключение. Применение антибактериального лекарственного средства «ВетОкс-1000» за 30 мин до кормления путем выпаивания по 200-300 мл раствора препарата однократно способствует более быстрому выздоровлению животных. Улучшение клинического состояния поросят-отъемышей наблюдается на 2 сутки, после применения препарата. Причем у 60% животных на 2 сутки клинические признаки заболевания отсутствовали, а у 40% поросят-отъемышей из клинических признаков отмечалось неохотное (вялое) поедание корма, понос, с выделением разжиженных фекалий, температура тела была в пределах 39⁰С. Данным животным повторно применяли препарат «ВетОкс-1000».

Таким образом, применение препарата «ВетОкс-1000» нормализует гематологические и биохимические показатели крови поросят-отъемышей, сокращает длительность болезни животных на 3-4 дня в сравнении с антибактериальным лекарственным средством, применяемым в хозяйстве, и повышает эффективность лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андросик, Н.Н. Основные направления по разработке эффективных технологий производства ветпрепаратов / Н.Н. Андросик // Сб. науч. тр. – Минск, 2001. – Вып. 35: Ветеринарная наука – производству. – С. 3-12.
2. Волков Г.К. Технологические особенности получения и выращивания здорового молодняка // Ветеринария. - 2000. - №1. – С. 3-7.
3. Джупина, С.И. Этиология и профилактика массовых желудочно-кишечных болезней телят / С.И. Джупина // Ветеринарная патология. - 2003. - № 2. - С. 28-30.
4. Калашников, А.П., Фисинина, В.И., Щеглова, В.В. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных //Справочное пособие.- М.: «Агропромиздат», 2003. – 253 с.
5. Карпуть, И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И.М. Карпуть. – Мн.: Ураджай, 1993. – 288 с.
6. Карпуть, И.М. Возрастные и приобретенные иммунные дефициты // И.М. Карпуть / Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001.- № 2. – С. 28 - 31.
7. Петрухин, И.В. Корма и кормовые добавки / И.В. Петрухин // М.: Росагропромиздат, 1989. – 488с.
8. Пивняк, И.Г. Микробиология пищеварения жвачных / И.Г. Пивняк, Б.В. Тарakanов. – М.: Колос, 1982.- 247 с.
9. Тимошко, М. А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных / М. А. Тимошко// Кишинев: Штиинца, 1990.- 192 с.
10. Холод, В.М. Справочник по ветеринарной биохимии В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. – Мн.: Ураджай, 1988. – 168 с.

**ДИНАМИКА ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ
В ТИМУСЕ И КЛОАКАЛЬНОЙ БУРСЕ ЦЫПЛЯТ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТЕЧЕНИИ
ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ**

**М.К. Селиханова¹, И.Н. Громов¹, А.С. Алиев², М.В. Бурлаков²,
С.А. Емельянова²**

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

² – ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия
ветеринарной медицины»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Под влиянием вируса инфекционной анемии в тимусе и клоакальной бурсе птиц развивается выраженная делимфатизация, морфологическими признаками которой являются: достоверное уменьшение удельного объема элементов паренхимы, размеров коркового и мозгового вещества, плотности расположения лимфоцитов в долях тимуса, увеличение объема стромальных элементов в фабрициевой бурсе. Указанные изменения регистрируются продолжительное время – до 14-21 дня после заражения, что свидетельствует о длительной персистенции вируса в организме цыплят и развитии тяжелого приобретенного иммунодефицита.

Summary. Under the influence of infectious anemia virus in the thymus and cloacal birds' bursa severe delimfatization is developed, morphological features of which are: a significant decrease in the proportion of the elements of the parenchyma, the size of the cortex and medulla, the density of location of lymphocytes in the lobules of the thymus, the increase of volume of stroma elements in bursa.

Mentioned changes are registered by the long period of time - up to 14-21 days after infection, which is evidence of the long-term persistence of the virus in chickens and development of severe acquired immunodeficiency.

Введение. Инфекционная анемия цыплят (ИАЦ) характеризуется системным поражением органов кроветворения и иммунитета. В настоящее время вспышки инфекционной анемии регистрируются во многих странах с развитым птицеводством [1, 3]. Многочисленные литературные данные, а также результаты наших собственных исследований свидетельствуют о широком распространении вируса инфекционной анемии цыплят в птицеводческих хозяйствах Российской Федерации, Украины и Республики Беларусь [3, 6, 7]. В крупных птицеводческих хозяйствах промышленного типа инфекционная анемия на-

носит значительный экономический ущерб, который обусловлен гибелью птицы, низкими приростами и оплатой корма, снижением категориальности тушек, повышенной выбраковкой, расходами на лечение вторичных инфекций и проведение соответствующих ветеринарно-санитарных мероприятий. Часто ИАЦ протекает в ассоциации с инфекционной бурсальной болезнью, рео- и метапневмовирусной инфекциями [4, 5].

В имеющийся литературе имеется недостаточно сведений, посвященных изучению патоморфологических изменений в органах и тканях цыплят при ИАЦ. Вместе с тем гистологическое исследование патологического материала позволяет в кратчайший срок поставить предварительный диагноз, что очень важно для организации и проведения предварительных противозооотических мероприятий и наметить направление дальнейших лабораторных исследований [2, 8, 9, 10].

Цель работы – изучить динамику патогистологических изменений в тимусе и бурсе птиц при экспериментальном заражении вирусом инфекционной анемии.

Материал и методика исследований. Исследования были проведены на СПФ-цыплятах суточного возраста. Птица была подобрана по принципу аналогов и разделена на 2 группы, по 40 цыплят в каждой. Цыплят 1 группы в суточном возрасте внутримышечно заражали вирулентным штаммом «АБИМ» вируса инфекционной анемии. Вирусосодержащим материалом служил стерильный 20%-й гомогенат печени спонтанно больных цыплят-бройлеров, обработанный по общепринятой методике. Интактные цыплята 2 группы служили контролем. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение. На 4, 8, 15 и 21 дни после заражения 4-5 цыплят из каждой группы убивали для проведения гистологического исследования тимуса и бursы. Органы фиксировали в 10% растворе формалина, зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике, а также замораживанием. Обезвоживание и парафинирование материала проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на санном и роторном микротоме. Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

В гистологических препаратах определяли размеры коркового и мозгового вещества долек тимуса и лимфоидных узелков клоакальной бурсы, плотность расположения лимфоцитов в них, удельные объемы и соотношение элементов стромы и паренхимы. Гистологические и иммуноморфологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «БИОМЕД-6» (Россия), цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований и обсуждение. У интактных птиц дольки тимуса птиц были окружены соединительнотканной капсулой, от которой внутрь органа проходили прослойки рыхлой соединительной ткани с сосудами и нервами. Паренхима долек тимуса состояла из коркового и мозгового вещества. Клеточный состав тимуса был представлен преимущественно клетками двух типов: лимфоидными и эпителиоретикулярными. Мозговое вещество содержало также соединительнотканную строму, ретикулоэпителиальную основу и лимфоциты. Установлено, что на 4 день после заражения в тимусе подопытных цыплят отмечалось достоверное уменьшение размеров коркового и мозгового вещества долек по сравнению с контролем в 1,2-3,2 раза. У отдельных птиц происходила почти полная потеря коркового вещества, которое было представлено лишь островками лимфоцитов на периферической части долек (рисунки 1; 2).

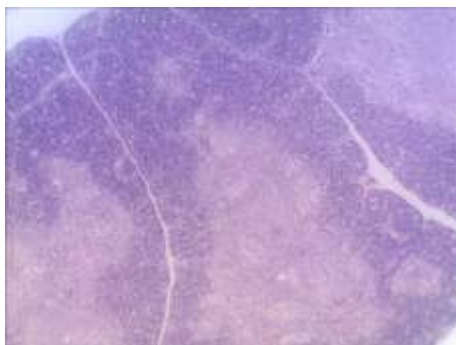


Рисунок 1 – Нормальная структура тимуса цыпленка контрольной группы в возрасте 4 дней. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. х 120

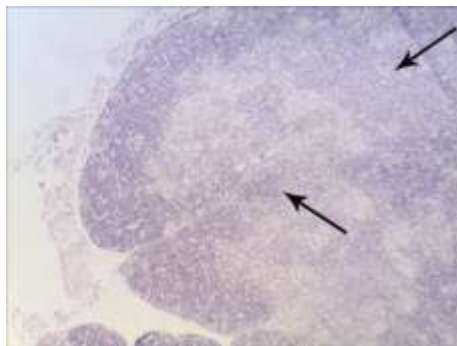


Рисунок 2 – Тимус цыпленка 1 группы на 4 день после заражения вирусом ИАЦ. Очаговая атрофия коркового вещества долек.

Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

Одновременно происходило значительное (в 1,5-4 раза; $P < 0,05$) уменьшение плотности расположения тимоцитов на условную единицу площади и в корковом и в мозговом веществе. Удельный объем стромы паренхимы в тимусе подопытных птиц уменьшился с 92% (контроль) до 76% ($P < 0,05$). На 8 день эксперимента размеры коркового и мозгового вещества долек цыплят 1 группы нормализовались по сравнению с интактной птицей. В то же время плотность тимоцитов на условную единицу площади в этот и все последующие сроки исследований была достоверно ниже, чем в контроле. Удельный объем элементов лимфоидной ткани в тимусе подопытных цыплят на 8 и 15 дни эксперимента был меньше контрольных значений, однако различия были недостоверными. При исследовании размеров коркового и мозгового вещества долек тимуса птиц 1 группы на 15 день после заражения вирусом ИАЦ была выявлена тенденция к повторному уменьшению данных показателей по отношению к контрольной группе. На 21 день эксперимента в опытной группе наблюдалось восстановление корковой и мозговой зон долек тимуса. В то же время среди элементов мозгового вещества часто выявлялись очаговые лимфоидноклеточные пролифераты. Отмечено также значительное увеличение числа телец Гассала, которые выявлялись не только в мозговом, но и в корковом веществе (рисунки 3, 4). Удельные объемы стромы и паренхимы долек тимуса и их соотношение у цыплят 1 и 2 групп были примерно одинаковыми.

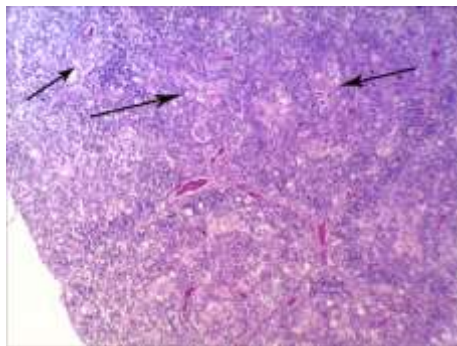


Рисунок 3 – Появление большого числа телец Гассалья в тимусе 1 группы на 21 день после заражения вирусом ИАЦ. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

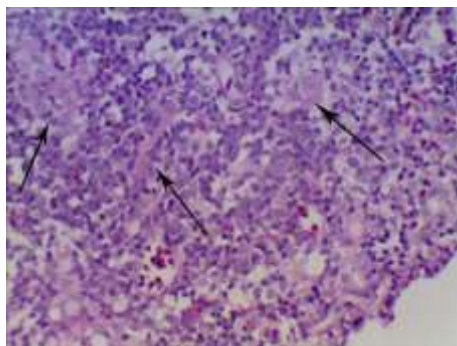


Рисунок 4 – Гистологическая структура тимуса птиц опытной группы на 21 день эксперимента. Многочисленные тельца Гассалья крупных размеров в корковом веществе долек.

Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 500

При исследовании бурсы Фабриция цыплят этот орган представлял собой полостной лимфоэпителиальный орган, который располагался в дорсальной части стенки клоаки в виде карманообразного выпячивания. Гистологическое исследование показало, что стенка органа состоит из слизистой, мышечной и серозной оболочек. Слизистая оболочка имела первичные и вторичные складки, покрытые многорядным призматическим эпителием. В складках слизистой оболочки визуализировались многочисленные лимфоидные узелки, состоящие из корковой и мозговой зоны. Корковая зона, расположенная на периферии лимфоидного узелка, представляла собой ретикулярную ткань, заполненную малыми и средними лимфоцитами. Ее размеры в разные сроки

у интактных птиц варьировали в пределах $19,59 \pm 2,72$ - $35,13 \pm 2,81$ мкм. Мозговая зона, занимающая центральную зону узелка, была образована эпителиальной тканью и содержала преимущественно средние и большие лимфоциты. Размеры мозговой зоны лимфоидных узелков бурсы цыплят контрольной группы в течение эксперимента составляли $69,83 \pm 11,62$ - $101,62 \pm 27,10$ мкм. Зоны узелка отделены друг от друга базальной мембраной и слоем эпителиоцитов. В собственной пластинке слизистой оболочки выявлялись микро- и макрофаги, бластные и зрелые формы лимфоцитов.

При исследовании клоакальной бурсы птиц опытной группы на 4 и 8 день после заражения отмечалось незначительное увеличение в сравнение с контролем корковой зоны клоакальной бурсы. При этом данные были не достоверными. На 15 и 21 дни отмечено уменьшение размеров корковой зоны лимфоидных узелков по сравнению с контролем. Так, размеры коркового вещества в опытной группе колебались в пределах $18,68 \pm 2,48$ мкм - $32,63 \pm 4,21$ мкм, а в контрольной от $19,59 \pm 2,72$ до $35,13 \pm 2,81$ мкм ($P > 0,05$). При исследовании мозговой зоны клоакальной бурсы опытной группы на 4, 8 и 15 дни после заражения наблюдается незначительное увеличение ее размеров до уровня $83,80 \pm 21,07$ мкм до $90,00 \pm 5,62$ мкм (в контроле - $69,83 \pm 11,62$ - $85,25 \pm 8,71$ мкм; $P > 0,05$). На 21 день эксперимента у подопытных цыплят наблюдалось недостоверное уменьшение размеров мозговой зоны бурсы с $101,62 \pm 27,10$ мкм (контроль) до $60,04 \pm 5,67$ мкм.

При этом соотношение корковой и мозговой зон колебались в пределах $0,20 \pm 0,03$ - $0,42 \pm 0,15$ (контрольная группа и $0,25 \pm 0,08$ - $0,51 \pm 0,16$ (опытная группа; $P > 0,05$).

Плотность лимфоцитов на условную единицу площади у подопытных цыплят на 4 и 8 день эксперимента незначительно уменьшалась до $0,04 \pm 0,01$ (в контроле - $0,06 \pm 0,01$; $P > 0,05$). На 15 день после заражения плотность лимфоцитов не изменялась. На 21 день после заражения у цыплят 1 группы было незначительное увеличение плотности лимфоцитов, а в мозговой зоне вновь наблюдалось их незначительное уменьшение.

Существенные изменения наблюдались при исследовании удельных объемов стромы и паренхимы и их соотношения. Так, на 4, 8 и 15 день после заражения удельные объемы элементов паренхимы в клоакальной бурсе подопытных цыплят снижались до уровня $67,15 \pm 1,85\%$ - $81,92 \pm 4,31\%$ (в контроле - $88,80 \pm 3,65\%$ - $93,50 \pm 1,40\%$; $P < 0,001$). На 21 день опыта удельный объем элементов паренхимы нормализовался по сравнению с контрольной группой. При исследовании удельного объема стромы на 4, 8 и 15 после заражения мы наблюдали тенденцию к его

значительному увеличению с $6,50 \pm 1,40\%$ - $11,20 \pm 3,65\%$ в контроле до $16,54 \pm 5,95\%$ - $18,67 \pm 6,74\%$ ($P < 0,001$). Повсеместно в слизистой оболочке отмечались признаки организации (рисунки 5; 6).

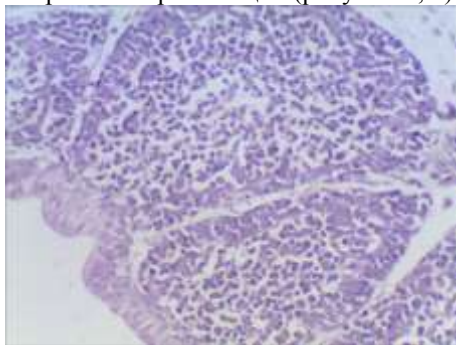


Рисунок 5 – Нормальная структура клоакальной бursы цыпленка 2 группы 21-дневного возраста. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 500

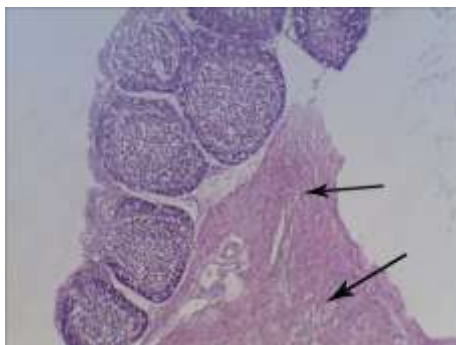


Рисунок 6 – Крупноочаговая организация слизистой оболочки клоакальной бursы цыпленка 1 группы на 21 день после заражения вирусом ИАЦ. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

На 21 день опыта наблюдалось уменьшение удельного объема стромы с $29,79 \pm 1,08\%$ (контрольная группа) до $27,67 \pm 2,34\%$ (опытная группа). При этом в указанные сроки исследований соотношение стромы и паренхимы в клоакальной бурсе подопытных цыплят изменялось с $0,22 \pm 0,06$ до $0,49 \pm 0,04\%$ ($P < 0,001$). На 21 день эксперимента соотношение стромы и паренхимы в опытной группе находилось на уровне $0,47 \pm 0,05\%$, а в контрольной группе – $0,42 \pm 0,03$ ($P > 0,05$).

Закключение. Таким образом, под влиянием вируса инфекционной анемии в тимусе птиц развивается выраженная делимфатизация,

морфологическими признаками которой являются: уменьшение размеров коркового и мозгового вещества долек тимуса, плотности расположения лимфоцитов, удельного объема элементов паренхимы. Указанные изменения регистрируются продолжительное время – до 21 дня после заражения, что свидетельствует, с одной стороны, о длительной персистенции вируса в организме цыплят, а с другой – о развитии тяжелого приобретенного иммунодефицита. Морфологическая перестройка бурсы Фабриция птиц характеризуется развитием выраженной делимфатизации, морфологическими признаками которой являются достоверное уменьшение удельного объема элементов паренхимы и увеличение объема стромальных элементов на 4-15 дни эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакулин, В.А. Болезни птиц / В.А. Бакулин. – СПб : Искусство России, 2006. – 688 с.
2. Бирман, Б.Я. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск : Бизнесофсет, 2004. – 92 с.
3. Вирусная анемия – скрытая угроза промышленному птицеводству / А.С. Алиев [и др.] // Аграрная наука: современные проблемы и перспективы развития : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию ДГАУ им. М.М. Джамбулатова, Махачкала, 27-28 июня 2012 г. / ДГАУ ; редкол.: З.М. Джамбулатов [и др.]. – Махачкала, 2012. – С. 58-72.
4. Клинико-морфологические особенности инфекционной анемии цыплят / А.С. Алиев [и др.] // Ветеринария. - 2012. - № 1. – С. 25-29.
5. Клинико-морфологические особенности инфекционной анемии цыплят / А.С. Алиев [и др.] // Ветеринария. - 2012. - № 1. – С. 25-29.
6. Роль патоморфологических исследований в диагностике инфекционной анемии цыплят при моно - и ассоциативном течении / И.Н. Громов [и др.] // Животноводство и ветеринарная медицина. - 2012. - № 2 (5). – С. 46-54.
7. Структурные изменения в тимусе и фабрициевой бурсе цыплят при экспериментальной инфекционной анемии / И.Н. Громов [и др.] // Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве: материалы XVII междунар. конф., Сергиев Посад, 15-17 мая 2012 г. / ВНИТИП; редкол.: В.И. Фисинин [и др.]. – Сергиев Посад, 2012. – С. 521-523.
8. Турицына, Е.Г. Критерии морфологической оценки иммунодефицитов птиц / Е.Г. Турицына // Ветеринария. – 2009. - № 5. – С. 73-77.
9. Фабрициева bursa как индикаторный орган при гистологическом изучении состояния иммунитета у кур / Г.А. Красников [и др.] // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Междун. науч.-произв. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. Авророва А.А., Воронеж, 22-23 июня 2006. / ВГАУ им. К.Д. Глинки; редкол.: В.С. Шабунин [и др.]. - Воронеж: Научная книга, 2006.- с. 141-147.
10. Histopathology of chicks inoculated with chicken anemia agent (MSB1-TK5803 strain) / M. Gorio [et al.] // Avian Pathol. – 1989. – Vol. 18. – P. 73-89.

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛИРОВАНИЯ КАТИОННО-АНИОННОГО БАЛАНСА ОРГАНИЗМА КОРОВ

А.В. Сенько

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 25.06.2013 г.)

Аннотация. Изучены механизмы регулирования катионно-анионного баланса (КАБ) организма коров. Установлено, что регуляция КАБ организма возможна только за счет действия сильных анионов хлора, серы и фосфора, при этом органические кислоты не влияют на анионную нагрузку организма. КАБ влияет на проявления болезней обмена веществ у коров в послеродовой период.

Summary. The mechanisms regulating the cation-anion balance (CAB) of the cows have been studied. It is established that regulation CAB body is only possible through the action of strong anions of chlorine, sulfur and phosphorus, whereas the organic acids do not affect the anionic load body. CAB affects manifestations of metabolic diseases in cows after calving.

Введение. В развитии экономики нашей страны, особенно одной из ведущих отраслей сельского хозяйства – животноводства, важную роль играют ветеринарная наука и практика. Они направлены на сохранение здоровья сельскохозяйственных животных, на поиски средств и способов предупреждения их болезней, улучшения качества продуктов питания и животноводческого сырья, на решение ветеринарно-медицинских проблем здравоохранения и ветеринарно-санитарных проблем защиты окружающей среды. В связи со специализацией и концентрацией животноводства, переводом его на промышленную основу, развитием межхозяйственной кооперации роль ветеринарной науки и практики возросла ещё больше. Для современной ветеринарной медицины характерно активное использование достижений химии при изучении метаболических процессов, происходящих в организме здорового животного и при развитии патологических процессов. Такие глубокие знания позволяют разрабатывать более эффективные меры профилактики болезней и лечения животных [1].

Оптимизация процессов обмена веществ, регулирование течения биохимических реакций в организме в зависимости от направления, уровня продуктивности и физиологического состояния обеспечивают длительное использование племенных и продуктивных животных, высокую воспроизводительную способность, рождение крепкого жизнеспособного молодняка, хороший рост и развитие, получение высокока-

чественной продукции животного происхождения и, в конечном счете, высокую эффективность ведения отрасли [1, 2, 3].

Целью работы было установление механизмов регулирования катионно-анионного баланса (КАБ) организма коров.

При этом на разрешение были поставлены следующие задачи:

- Установить механизмы регуляции катионно-анионного баланса организма у коров.
- Оценить уровень катионно-анионного баланса рациона и его влияние на физиологические и биохимические показатели.

Материал и методика исследований. Работа проводилась в два этапа:

Первый этап – эксперимент по установлению механизмов регуляции катионно-анионного баланса организма у коров. На данном этапе изучалось влияние добавок с катионами и аниона на состояние обменных процессов в организме коров.

Второй этап – научно-производственный опыт по выявлению взаимосвязи показателей катионно-анионного баланса рациона с заболеваемостью коров.

На всех этапах проводили исследование крови с целью контроля обмена веществ, при этом использовались общепринятые в ветеринарии методы исследования.

Результаты исследований и их обсуждение. Проведенные исследования позволили установить следующие механизмы регуляции катионно-анионного баланса организма у коров:

- путем взаимодействия органов, регулирующих в организме кислотно-щелочной баланс;
- путем изменения катионно-анионного баланса рациона.

Комплексный подход к кислотно-щелочному балансу (КЩБ), неизвестному как количественный анализ кислотно-щелочного статуса, был предложен канадским физиологом Stewart в 1981. Вместо концентрирования внимания исключительно на гидрокарбонатной системе, как это происходит при традиционных методах, количественный анализ дает возможность учитывать все переменные, которые влияют на кислотно-щелочной статус.

Независимые факторы, которые отвечают за изменения КЩБ, следующие:

- а) парциальное давление двуокиси карбона;
- б) сильная ионная разница – высокодиссоциированные ионы, которые не метаболизируются;
- в) общая концентрация слабых кислот.

Разницу между общим количеством сильных катионов и анионов в крови называют сильной ионной разницей. Все другие показатели, которые обычно используются для оценки КЩБ (например, pH или гидрокарбонаты), являются зависимыми и изменяются только тогда, когда изменяется один или больше независимых факторов.

В соответствии с этой теорией, в любом взятом растворе, включая жидкости организма, количество моль положительно заряженных частиц (катионов) должно равняться количеству моль отрицательно заряженных ионов (анионов).

Если положительно заряженные частицы прибавить к раствору, такому как плазма, количество H^+ катионов уменьшается, а OH^- анионов – увеличивается для того, чтобы поддержать электронейтральность раствора (раствор становится более щелочным). Напротив, добавление анионов к раствору вызывает повышение H^+ и снижение OH^- для поддержки электронейтральности раствора, и pH раствора снижается [2,1].

Начальным органом, который имеет весомое влияние на кислотно-щелочной баланс, является кишечник. Специфически он не генерирует кислые или основные эквиваленты, но, в зависимости от состава рациона, в результате панкреатической секреции кишечник регулирует уровень постоянной реабсорбции гидрокарбоната и других элементов в кровь.

Кроме того, кишечник определяет уровень абсорбции сульфосодержащих аминокислот и щелочных солей органических кислот, которые потом используются печенью и тканями с метаболической активностью как субстрат для образования и кислот, и щелочи. Печень окисляет серосодержащие аминокислоты, которые добавляются к общему кислотно-щелочному обмену в крови и окончательно выделяются через почки. С другой стороны, легкие регулируют гидрокарбонатную буферную систему и поддерживают pH крови в узких пределах (респираторная компенсация).

Кишечник, непосредственно не образуя кислоты или щелочи, создает „так называемую” кислотную или щелочную нагрузку, вызванную специфичностью уровней абсорбции каждого электролита. Это доказано нами в эксперименте со скормливанием $MgCl$.

Установлено, что из количества магния, который поступает, только приблизительно одна треть абсорбируется, в то же время средняя биодоступность хлора составляет 95%.

Таким образом, если скормливать $MgCl_2$, то очевиден избыток хлора относительно магния, который попадает в кровь. В соответствии с принципом электронейтральности понятна необходимость других катионов компенсировать ионы хлора, которые несут негативный заряд.

Натрий – основной катион, доступный для абсорбции вместе с избытком анионов (таких, как хлор) благодаря панкреатической секреции большого количества натрия гидрокарбоната.

Гидрокарбонатный анион образует карбонатные соли из неадсорбируемой части магния. Недостаток гидрокарбоната означает потерю буферной емкости, которая может быть названа кислотной нагрузкой. Подобные результаты кишечной реабсорбции гидрокарбоната установлены и во время скармливания солей кальция неметаболизируемых кислот. Таким образом, скармливание нами в эксперименте CaCl_2 , также как MgCl_2 , предопределяет кислотную или анионную нагрузку на организм.

Подобный механизм установлен нами в эксперименте со скармливанием большого количества фосфора в форме фосфопротеина, который в организме гидролизует на аминок- и фосфорную кислоты.

Оба компонента всасываются в соответствующем количестве. Фосфатный ион проникает в энтероциты вместе с натрием, снижая концентрацию гидрокарбоната, и в кишечнике создается кислая нагрузка не благодаря разным уровням абсорбции катионов и анионов, а в результате освобождения кислоты в процессе пищеварения.

Напротив, реальная продукция „настоящих” кислот и оснований происходит в печени или других метаболически активных тканях.

Например, окисление сульфосодержащих аминокислот к мочевины и углекислом газе приводит к образованию сульфатной кислоты. С другой стороны, щелочные соли органических кислот, на примере натрия цитрата, скормленные с рационом, метаболизируются до CO_2 и H_2O и приводят к образованию соответствующего катиона вместе с гидрокарбонатом, повышая, таким образом, циркулирующий щелочной резерв или катионный пул крови.

В крови сульфатная кислота нейтрализуется гидрокарбонатным буфером, в результате чего образуются нейтральные продукты: натрия сульфат и карбонатная кислота, которая позже выделяется как углекислый газ через легкие. Нейтральная соль – натрия сульфат – транспортируется к почкам и натрия реабсорбируется для возобновления циркулирующего гидрокарбонатного буфера.

Нами установлено, что подкислительный сильными анионами хлора, серы и фосфора рацион приводит к освобождению и накоплению катионов в крови для коррекции КАБ организма.

Так, установлено, что коровам, которым скармливали рацион с высоким содержанием K^+ и Na^+ перед родами, имели низкую концентрацию кальция и магния в крови, что объясняется отсутствием необходимости накапливать в плазме дополнительные катионы Ca и Mg .

Пребывание коров во время периода сухостоя в состоянии компенсированного метаболического ацидоза, что описано в отечественной литературе [1, 4, 5], авторы оценивают как очень негативное, следствием которого является развитие послеродовых осложнений.

И все же, как установлено нами, это не совсем верно с точки зрения КАБ и регуляции гомеостаза организма, выявленного нами в эксперименте.

Доступным способом влияния на КЩБ организма может быть изменение кормовой катионно-анионной разницы (КАР) или катионно-анионного баланса (КАБ) рациона.

Главные катионы кормов следующие: Na^+ (+1), K^+ (+1), Ca^{++} (+2) и Mg^{++} (+2), анионы – Cl^- (–1), SO_4^{2-} (–2), и PO_4^{3-} (–3). Присутствующие в кормах катионы и анионы будут изменять сильную ионную разницу только после абсорбции в кровь. Микроэлементы абсорбируются в таком малом количестве, что незначительно влияют на КАБ. Органические кислоты, такие как ЛЖК, абсорбируются в недиссоциированной форме, неся и позитивный, и негативный заряды в кровь. Они быстро метаболизируются печенью, потому мало влияют на КАБ крови.

Подсчет КАБ нуждается в использовании эквивалентной массы электролитов, поскольку КАБ зависит больше от электрического заряда, чем от массы. Эквивалентная масса электролитов равняется молекулярной массе, разделенной на валентность (электрический заряд). Показатель миллиэквивалент (мекв) используется для выражения эквивалентной массы.

Наиболее часто в литературе [2,3] встречается уравнение для подсчета КАБ, учитывающее только концентрации Na^+ , K^+ , Cl^- и S^- , исходя из уравнения:

$$\text{КАБ мгэкв/кг СВ} = [(\% \text{Na} \times 43.5 + \% \text{K} \times 25.6) - (\% \text{Cl} \times 28.2 + \% \text{S} \times 62.5)] \times 10$$

Это уравнение стало общепринятым, хотя нужно иметь в виду, что Ca, Mg и P, абсорбированные из кормов, также влияют на КАБ организма. Корректируя уровень абсорбции выше указанных составляющих, мы предложили другое уравнение:

$$(\text{Na}^+ + \text{K}^+ + 0,38 \times \text{Ca}^{++} + 0,30 \times \text{Mg}^{++}) - (\text{Cl}^- + 0,60 \times \text{SO}_4^{2-} + 0,60 \times \text{H}_2\text{PO}_4)$$

Наиболее точно контролировать КАБ организма возможно не за счет показателей рациона, а используя физиологические показатели жидкостей организма.

Нами предложено для контроля КАБ рациона измерять величину pH мочи – индикатор, который легче используется на практике для оценки КАБ, чем уравнение 1 и 2, где используются показатели содержания макроэлементов в кормах.

Нормальная величина рН мочи коров, подобно всем травоядным, выше 7, а у коров с высоким содержанием сильных катионов более 8,0, однако она может быть снижена анионами к значениям около 5,5. Если значение рН в пределах 5–5,5, что предопределено избыточным количеством анионов, развивается некомпенсированный метаболический ацидоз, и коровы снижают потребление сухого вещества. Величина рН мочи изменяется через 48 и более часов после начала скармливания кормов с анионными солями. Для контроля мочу отбирают от коров один раз в течение 3–5 дней.

Нами установлено, что при правильной коррекции КАБ рациона средняя величина рН мочи животных перед отелом должна быть в пределах 6,2–6,8, а после отела выше 8.

Дальнейшие исследования были направлены на анализ рационов коров в период до и после отела. При этом устанавливали КАБ рационов до и после отела.

Анализ рационов коров до- и после родов выявил нарушение минерального питания, проявляющегося высоким положительным уровнем КАБ до родов в сухостойный период – 368 мгэкв/кг СВ при рекомендуемом отрицательном уровне КАБ.

Исследования крови позволили установить нозологический профиль скрыто протекающих нарушений обмена веществ у коров с нарушенным КАБ.

Установлено, что наиболее часто на ферме, где не проводилась корректировка КАБ, отмечали сочетанное течение гипокальциемии и гипوماгнийемии –60% случаев. На втором месте по степени встречаемости – кетоз – 40%. Гепатодистрофия отмечается наиболее реже 23,3% случаев.

Заключение. Таким образом, нами установлено, что регуляция КАБ организма возможна только за счет действия сильных анионов хлора, серы и фосфора, при этом органические кислоты не влияют на анионную нагрузку организма. КАБ влияет на проявления болезней обмена веществ у коров в послеродовой период.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грига Э.Н. Послеродовая патология коров (этиология, диагностика, терапия, профилактика): Автореф. дисс. д-ра вет. наук.- Ставрополь, 2003.- 49 с.
2. Dietary cation-anion difference and health and production of pasture-fed dairy cows. 1. Dairy cows in early lactation [Text] / J.R. Roche, D. Dalley, P. Moate, C. Grainger, M. Rath, and F. O'Mara // J. Dairy Sci. – 2003. – Vol. 86, № 3. – P. 970–978. – Bibliog.: 44 title – P. 977–978
3. Dietary Cation-Anion Difference and the Health and Production of Pasture-Fed Dairy Cows 2. Nonlactating Periparturient Cows [Text] / J.R. Roche, D. Dalley, P. Moate, C. Grainger, M. Rath, and F. O'Mara // J. Dairy Sci. – 2003. – Vol. 86, № 3. – P. 979–987. – Bibliog.: 45 title – P. 987.

4. Dietary Cation-Anion Difference Effects on Performance and Acid-Base Status of Dairy Cows Postpartum [Text] / W. Hu, M.R. Murphy, P.D. Constable, and E. Block // J. Dairy Sci. – 2007. – Vol. 90, № 7. – P. 3367–3375. – Bibliog.: 33 title – P. 3374–3375.
5. Effects of Altering Dietary Cation-Anion Difference on Calcium and Energy Metabolism in Peripartum Cows [Text] / S.J. Moore, M.J. VandeHaar, B.K. Sharma, T.E. Pilbeam, D.K. Beede, H.F. Bucholtz, J.S. Liesman, R.L. Horst, and J.P. Goff // J. Dairy Sci. – 2000. – Vol. 83, № 9. – P. 2095–2104. – Bibliog.: 29 title – P. 2103–2104.
6. Remer T. Influence of nutrition on acid-base – metabolic aspects [Text] / T. Remer // Eur. J. Nutr. – 2001. – Vol. 40, № 5. – P. 214–220. – Bibliog.: 16 title – P. 219–220
7. Riond J.-L. Animal nutrition and acid-base balance [Text] / J.-L. Riond // Eur. J. Nutr. – 2001. – Vol. 40, № 5. – P. 245–254. – Bibliog.: 87 title – P. 252–254
8. Wildman C.D. Effects of Dietary Cation-Anion Difference and Potassium to Sodium Ratio on Lactating Dairy Cows in Hot Weather [Text] / C.D. Wildman, J.W. West, J.K. Bernard // J. Dairy Sci. – 2007. – Vol. 90, № 2. – P. 970–977. – Bibliog.: 37 title – P. 977.
9. Любецька Т. Гострий і компенсований ацидоз у корів та йогонасідки [Текст] / Т. Любецька, В. Січкач // Вет. медицина України. – 1999. – № 4. – С. 30–31.
10. Леньо М.І. Кислотно-основний баланс у здорових та хворих на кетозкорів: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спеціальність – 16.00.01 „Діагностика і терапія тварин” / М.І. Леньо. – Біла Церква, 2006. – 22 с.

УДК 636.2.053:619:616.3

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ ДОБАВОК ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У КОРОВ В ПОСЛЕОТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД

А.В. Сенько, О.И. Туля

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 25.06.2013 г.)

Аннотация. Изучалась эффективность использования комплексных добавок для профилактики нарушений обмена веществ у коров в послеотельный период. Установлено, что применение добавок кормовых профилактических «ВитаАнион», «ТурбоСтрат» и «МегаВит» для коррекции КАБ рациона позволяет снизить послеродовую гипокальцемию на 43,3%, а также уменьшить частоту проявления гипомagneмии на 50%, что уменьшает непроизводительное выведение коров на 23,3%, уменьшает заболеваемость эндометритами на 14,6% и повышает продуктивность животных на 4,2 л.

Summary. We studied the efficiency of complex additives for the prevention of metabolic disorders in cows in the period after calving. It is established that the prophylactic use of feed additives "VitaAnion" "TurboStrat" and "MegaVit" CAB correction diet reduces postnatal hypocalcaemia by 43,3%, the frequency of occurrence of hypomagnesaemia by 50%, which reduces non-productive disposal of cows by 23,3%, the incidence of endometritis by 14,6% and increases the productivity of the animals on the 4,2 l.

Введение. В последние годы особенно резко изменилось состояние здоровья продуктивных животных. Научные исследования и жизненная практика свидетельствуют о том, что неполноценное кормление животных, а также недоброкачественные корма резко снижают устойчивость организма к болезням и служат непосредственной причиной многих незаразных заболеваний. Высокопродуктивные животные с интенсивным обменом веществ, с более тонкой и чувствительной нейрогуморальной регулирующей системой, чувствительны даже к незначительным нарушениям кормления, условиям содержания, реагируют на это более выраженными нарушениями обмена веществ, затрагивающими их иммунный статус. Высокая молочная продуктивность вызывает большое напряжение обменных процессов в организме и предъявляет повышенные требования к качеству кормов, организации полноценного кормления, содержанию и ранней диагностике нарушений метаболизма. Увеличение молочной продуктивности часто напрямую связано с нарушениями обмена веществ и появлением болезней. Высокий уровень молочной продуктивности и нормальное физиологическое состояние высокопродуктивных коров возможны лишь при детализированном нормировании потребностей в энергии, питательных и биологически активных веществ и обеспечении этих потребностей за счёт рационального подбора кормов и соответствующих подкормок.

Результаты мониторинга болезней высокопродуктивных коров свидетельствуют о том, что основная масса проблем со здоровьем животных возникает в течение первых двух месяцев после отёла. Во время перехода от стельности к лактации в организме коров за несколько дней происходят кардинальные изменения в обмене веществ. Потребность высокопродуктивных коров в питательных веществах не всегда удаётся обеспечить за счёт кормов, поэтому животные используют резерв, накопленный в сухостойный период. Недостаток энергии объясняется тем, что животные при резком увеличении молокоотдачи после отёла не в состоянии поедать необходимое количество качественного корма, чтобы в полной мере компенсировать энергетические затраты. Повышенное использование запасов организма вызывает метаболические нарушения, приводящие к быстрому снижению живой массы, уменьшению удоя и ухудшению общего физиологического состояния. В связи с чем появляются массовые заболевания и большой процент выбытия животных [1, 2, 3, 4]. С целью обеспечения высокопродуктивных коров питательными веществами необходимо вводить в рацион комплексные добавки в соответствии с физиологическими потребностями организма.

Цель исследования. В связи с вышеизложенным целью нашего исследования является изучение эффективности использования ком-

плексных добавок для профилактики нарушений обмена веществ у коров в послеотельный период.

Материал и методика исследований. Работа выполнена в 2010-2013 гг. в СПК «ЩучинАгропродукт» Щучинского района Гродненской области.

Объектом исследований были коровы черно-пестрой породы, содержащиеся в условиях СПК «ЩучинАгропродукт».

Для оценки эффективности применения кормовых добавок в рационах коров были сформированы две группы животных по принципу пар-аналогов – контрольная и опытная, по 30 голов в каждой группе.

Первая группа была контролем, животные этой группы получали корма без добавок, регулирующих катионно-анионный баланс (КАБ), второй группе дополнительно скармливали разработанные нами специальные добавки для групп раздоя: «ТурбоСтрат», «МегаВит» и сухостоя «ВитаАнион». При разработке кормовых профилактических добавок учитывали, что теоретически все катионы и анионы кормов способны оказывать влияние на ионную разницу крови. Главные катионы кормов следующие: Na^+ (+1), K^+ (+1), Ca^{++} (+2) и Mg^{++} (+2), анионы – Cl^- (–1), SO_4^{2-} (–2), и H_2PO_4^- (–3). Присутствующие в кормах катионы и анионы будут изменять сильную ионную разницу только после абсорбции в кровь. Микроэлементы абсорбируются в таком малом количестве, что незначительно влияют на КАБ. Органические кислоты, такие как ЛЖК, абсорбируются в недиссоциированной форме, неся и позитивный, и негативный заряды в кровь. Они быстро метаболизируются печенью, потому мало влияют на КАБ крови.

Разница между количеством катионов и анионов, абсорбированных из кормов, определяет ряд биохимических показателей крови. Концентрацию этих ионов принято выражать в миллиэквиваленте на килограмм сухого вещества рациона. Ее подсчитывают только для концентрации Na^+ , K^+ , Cl^- и S^- , исходя из общепризнанного уравнения [4, 5, 6]:

$$\text{КАБ мгэкв/кг СВ} = [(\% \text{Na} \times 0,0023 + \% \text{K} \times 0,0039) - (\% \text{Cl} \times 0,00355 + \% \text{S} \times 0,0016)] \quad (1)$$

С целью контроля влияния разработанных добавок на КАБ кроме расчетных методов применяли и исследовательские путем анализа крови. Для этого проводили взятие крови с соблюдением правил асептики и антисептики из яремной вены в стерильную пробирку.

Сыворотку крови получали после свертывания крови при температуре $+37^{\circ}\text{C}$, с последующим охлаждением и центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10 минут.

Кровь для проведения биохимического исследования доставляли в научно-исследовательскую лабораторию УО «ГГАУ».

Биохимические исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории УО «ГГАУ» на автоматическом биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer. Весь полученный цифровой материал был подвергнут статистической обработке с использованием методов вариационной статистики (единицы измерения даны в соответствии с системой международных единиц СИ).

Результаты исследований и их обсуждение. С целью коррекции КАБ рационов до и после родов использовали специализированные добавки производства ООО «Биоком». В сухостойный период использовали анионную кормовую профилактическую добавку «ВитаАнион», а в период раздоя – белково-катионную «ТурбоСтарт» и катионную «МегаВит» в период раздоя и дальнейший период лактации и первый период сухостоя.

После завершения опыта проводили анализ эффективности коррекции КАБ рациона путем постановки индивидуального диагноза на гипокальцемию и ее наиболее частое осложнение – гипомагниемия (табл. 1).

Таблица 1 – Заболеваемость гипокальцемией и гипомагниемией в опытной и контрольной группах

Болезнь	Контрольная группа, n=30		Опытная группа, n=30	
	гол	%	гол	%
Гипокальцемиия	18	60	5	16,7
Гипомагниемия	18	60	3	10

Из данных таблицы видно, что проведение коррекции КАБ рациона позволила снизить скрыто протекающую гипокальцемию и гипомагниемия у коров в послеродовой период на 43,3% и 50%. Так, если до коррекции КАБ рациона в стаде отмечалось до 18 случаев гипокальцемии и гипомагниемии из 30 голов, то после проведения коррекции КАБ рациона эти показатели снизились на 13 и 15 голов соответственно.

Анализ показателей биохимического анализа крови (табл. 2) показал, что часть метаболитов имела достоверное отличие между опытной и контрольной группами, но при этом находились в пределах физиологических колебаний.

Обращает на себя внимание показатель содержания кальция в крови коров опытной и контрольной групп. Он достоверно ($p < 0,001$) снижен в контрольной группе на 1,4 ммоль/л и выходит на минимальный предел физиологических колебаний. Аналогичная тенденция отмечается и при анализе на содержание магния в крови опытной и контрольной групп. Его содержание в контрольной группе составило 0,7 ммоль/л, что на 0,3 ммоль/л меньше, чем в опытной группе.

Таблица 2 – Результаты биохимического исследования крови коров опытной и контрольной групп

Показатели	Опытная группа		Контрольная группа		Достоверность, р
	М	м	М	м	
Общий белок, г/л	79,4	6,3	71,9	5,6	<0,01
Альбумины, г/л	36,5	2,1	37,5	2,2	> 0,05
Альбумины, %	46,4	4,6	52,6	4,6	< 0,001
Глобулины, г/л	42,9	6,7	34,4	5,5	< 0,001
А/Г, ед.	0,9	0,2	1,1	0,2	< 0,001
Са, ммоль/л	3,6	1,5	2,2	0,6	< 0,001
Р, ммоль/л	1,3	0,3	1,6	0,2	< 0,001
Са/Р, ед	3,0	1,5	1,4	0,5	< 0,001
Железо, мкмоль/л	31,5	7,0	30,7	7,4	> 0,05
Креатинин, мкмоль/л	117,9	13,2	129,4	15,7	> 0,05
Глюкоза, ммоль/л	1,9	0,4	2,2	0,4	< 0,05
Холестерин, ммоль/л	4,4	1,0	3,8	1,0	< 0,05
АлАТ, ед/л	32,6	6,3	32,1	5,9	< 0,05
АсАТ, ед/л	101,7	15,8	79,1	7,5	< 0,001
Билирубин, мкмоль/л	5,3	2,8	6,2	2,7	< 0,05
ГГТ, ед/л	17,6	4,3	21,7	4,9	< 0,001
Магний, ммоль/л	1,0	0,2	0,7	0,1	< 0,001
Мочевина, ммоль/л	3,7	1,2	3,3	1,1	> 0,05

Анализ хозяйственных показателей показал на высокую эффективность применения добавок в хозяйстве (табл. 3).

Таблица 3 – Хозяйственные показатели опытной и контрольной групп

Показатели	Контроль	Опыт	±
Выбыло, % от отелов	39,4	16,1	-23,3
Средний удой на голову в день, л	14,6	18,8	4,2
Заболеваемость эндометритами, % от отелов	18,7	4,0	-14,6

Как видно из данных таблицы, применение добавок позволяет уменьшить непроизводительное выведение коров на 23,3 %, заболеваемость эндометритами на 14,6 % и увеличить среднесуточный удой на 4,2 л/гол.

Заключение. Применение добавок кормовых профилактических «ВитаАнион», «ТурбоСтрат» и «МегаВит» для коррекции КАБ рациона позволяет снизить послеродовую гипокальциемию на 43,3%, а также уменьшить частоту проявления гипوماгнемии на 50%, что уменьшает непроизводительное выведение коров на 23,3%, уменьшает заболеваемость эндометритами на 14,6% и повышает продуктивность животных на 4,2 л.

ЛИТЕРАТУРА

- Алиев, А.А. Обмен веществ у жвачных животных / А.А. Алиев. — М.: Инженер, 1997. - 419 с.

2. Куртяк, Б.М. Особливості обміну речовин в організмі корів у передродовий і післяродовий періоди та роль вітамінів А, D і Е [Текст] : Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра вет. наук: спеціальність – 03.00.04 „Біохімія” / Б.М. Куртяк – Львів, 2006. – 29 с.
3. Леньо, М.І. Кислотно-основний баланс у здорових та хворих на кетоз корів: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спеціальність – 16.00.01 „Діагностика і терапія тварин” / М.І. Леньо. – Біла Церква, 2006. – 22 с.
4. Любецький, В. Закономірності метаболічних порушень корів у післяродовий період [Текст] / В. Любецький, Т. Любецька // Вет. медицина України. – 1998. – № 1. – С. 14–15. – Бібліогр.: 3 назв.
5. Effects of Altering Dietary Cation-Anion Difference on Calcium and Energy Metabolism in Peripartum Cows [Text] / S.J. Moore, M.J. VandeHaar, B.K. Sharma, T.E. Pilbeam, D.K. Beede, H.F. Bucholtz, J.S. Liesman, R.L. Horst, and J.P. Goff // J. Dairy Sci. – 2000. – Vol. 83, № 9. – P. 2095–2104. – Bibliog.: 29 title – P. 2103–2104.
6. Effects of Altering Dietary Cation-Anion Difference on Calcium and Energy Metabolism in Peripartum Cows [Text] / S.J. Moore, M.J. VandeHaar, B.K. Sharma, T.E. Pilbeam, D.K. Beede, H.F. Bucholtz, J.S. Liesman, R.L. Horst, and J.P. Goff // J. Dairy Sci. – 2000. – Vol. 83, № 9. – P. 2095–2104. – Bibliog.: 29 title – P. 2103–2104.
7. Paying Attention to Dietary Cation-Anion Balance Can Mean More Milk and Fewer Metabolic Problems [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. – Charles C. Stallings / Agriculture and Extension Communications, Virginia Tech. – Режим доступу: <http://www.ext.vt.edu/pubs/dairy/404-131/404-131.pdf>, свободный

УДК 619:615.849.19:616.74:636.4(476)

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ПОРОСЯТ-ГИПОТРОФИКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Т.М. Скудная

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 14.06.2013 г.)

Аннотация. Проведены исследования влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на динамику развития тканевых компонентов и повышения резистентности и сохранности поросят-гипотрофиков. Исследования проводили на свиньях крупной белой породы. Группы формировали по принципу групп-аналогов. Лазеротерапия осуществлялась контактным методом. Установлено, что при воздействии низкоинтенсивного лазерного излучения в области длиннейшей мышцы поясницы и длиннейшей мышцы груди происходили морфоструктурные изменения в двенадцатиперстной кишке поросят; оказывалось стимулирующее воздействие на ворсинки двенадцатиперстной кишки поросят-гипотрофиков. Ворсинки хорошо развиты, плотно прилегают друг к другу. Аникальные отделы некоторых ворсинок булавовидно расширены. Просвет ободочных желез расширен и заполнен секретом. Пространство между железами заполнено лимфоцитами, плазмócитами. На конец опыта сохранность в опытной группе составила 100%, в контрольной – 80%.

Summary. *The effects of low-intensity laser radiation on the dynamics of the tissue components, and increase resistance and preservation of piglets – gipotrophics were studied. Investigations were carried out on the pigs of large white breed. The group was formed by the principle of groups-analogues. Laser therapy was carried out by the contact method. It is established that when exposed to low-intensity laser radiation in the wavelength range of the lumbar muscles and the length of the chest muscles morphostructural changes occurred in the duodenum of pigs, it had a stimulating effect on the villi of the duodenum piglets- gipotrophics. The villi are well developed flushed with each other. The apical parts of some of the villi are clavately expanded. Clearance of intestinal glands is enlarged and filled with a secret. The space between the glands is filled with lymphocytes, plasma cells. At the end of the experiment safety in the experimental group was 100%, in the control group - 80%.*

Введение. В настоящее время большое внимание медиков, ветеринарных врачей уделяется нетрадиционным воздействиям на живой организм с целью повышения его защитных сил, активизации и коррекции внутриклеточных обменных процессов. Лазеротерапия является высокоэффективным средством и в связи с этим методы лазерного воздействия на биологически активные точки приобрели широкое применение в медицине и ветеринарии [1, 4, 5].

Продуктивность животных определяется уровнем и направленностью процессов обмена веществ и энергии, постоянно протекающих в их организме. Повысить интенсивность роста животных позволяет использование биологических препаратов – витаминов, микроэлементов, аминокислот, ферментов, гормональных и тканевых препаратов. Их применением можно существенно изменить обмен веществ, координировать физиологические процессы, активизировать защитные реакции в организме животных и в конечном итоге определенным образом влиять на их рост и развитие [2, 3, 6].

В силу своей многоплодности свиноматки рожают поросят с разной степенью зрелости и адаптационными возможностями. В свиноводческих хозяйствах от одной свиноматки может родиться от 20% до 56% физиологически незрелых поросят.

Основные потери молодняка происходят на двух этапах. Критическим периодом считаются первые три дня после рождения поросят, второй критический период – послеотъемный, когда погибает более 10%, нередко самых лучших поросят. По сумме нанесенного ущерба он занимает ведущее место.

Центральным звеном в развитии патологий является нарушение функциональной деятельности двенадцатиперстной кишки, где пищеварительные процессы протекают более интенсивно с учетом функционального значения желчи и поджелудочного сока. Все это в даль-

нейшем отражается на структуре дистальных участков пищеварительного тракта и их функционировании [7, 8].

Для снижения заболеваемости и падежа, в первую очередь, необходимо повысить иммунобиологическую активность поросят.

С этих позиций актуальным является проследить динамику развития тканевых компонентов в зависимости от физиологического состояния, возраста животных и под влиянием физиотерапевтических вмешательств.

Цель работы – изучить влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на динамику развития тканевых компонентов и повышения резистентности и сохранности поросят-гипотрофиков.

Материал и методика исследований. Исследования проводились на базе свиноводческого комплекса СПК «Коптевка» Гродненского района. Исследования проводили на свиньях крупной белой породы. Группы формировали по принципу групп-аналогов с учетом происхождения, возраста, упитанности, физиологического состояния, живой массы и условий предварительного содержания. В зависимости от цели и задач исследований возраст животных составлял от 1 до 2,5 месяцев. Материал для проведения морфологических исследований был получен непосредственно в хозяйстве. Хозяйство благополучно по инфекционным заболеваниям молодняка свиней.

При заборе материала стремились к максимальной стандартизации препаративных процедур при фиксации, проводке и заливке, приготовлении криостатных и парафиновых срезов. Для стандартизации отдельных гистологических процедур и технических процессов использовали модификации методик (В.В. Малашко, 1990). При вскрытии тщательно патологоанатомическому осмотру подвергали органы всех систем животного. Отбор проб материала проходил не позднее 10-15 мин после эвтаназии. Материал для гистологического и гистохимического исследований фиксировали в 10-12%-м растворе нейтрального формалина при температуре +4°C и +20°C, в жидкости Карнуа, 70⁰ спирте.

Для повышения резистентности и сохранности поросят-гипотрофиков, увеличении энергии роста и развития использовали терапевтический лазер "Люзар-МП" и руководствовались "Технической инструкцией ТУ РБ 00956342. 004-98, 2000 г.". Длительность экспозиции составила три минуты в области длиннейшей мышцы. Источником излучения служили полупроводниковые (инжекционные) лазеры красной области спектра. Рабочая длина волн лазерного излучения составляла 0,67 мкм. Мощность лазерного излучения в стационарном (непрерывном) режиме генерации на выходе излучателя составляла 15 мВт при длине волны 0,67±0,2 мкм. Для максимального проникновения луча в биологическую ткань применяли коллиминированный (нерасхо-

дящийся) луч. Расстояние между телом животного и излучателем в зависимости от обстоятельств было различное, так как плотность мощности воздействующего излучения не изменяется с увеличением расстояния между излучателем и облучаемой поверхностью.

При работе с магнитной насадкой учитывали расстояние между поверхностью магнита и облучаемым участком. Лазеротерапия в данном случае осуществлялась, главным образом, контактным методом. Закручивание магнитной насадки в излучатель было до тех пор, пока не достигался коллимированный луч, при этом не допускали глубокого закручивания магнитной насадки в излучатель, чтобы избежать преждевременного выхода из эксплуатации излучателя.

Для получения гистологических срезов материалы заливали в парафин. Для заливки в парафин применяли специальные формы (рац. предлож. №3/98, В.В. Малашко, 1989). Срезы готовили на санном микротоме МС-2 и микротоме для парафиновых срезов МПС-2. Из нефиксированного материала получали криостатные срезы на микротоме-криостате МК-25. Толщина срезов при резке в криостате составляла 8-10 мкм, микротоме – 15-20 мкм. Для дегидрирования срезов использовали калибровочные спиртовые растворы.

Результаты исследований и их обсуждение. Установлено, что при воздействии НИЛИ в области длиннейшей мышцы поясницы и длиннейшей мышцы груди происходили морфоструктурные изменения в двенадцатиперстной кишке поросят. В таблице 1 приведены морфометрические показатели двенадцатиперстной кишки поросят при применении НИЛИ.

Таблица 1 – Морфометрические показатели слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки

Показатели	Группа	
	контрольная, n=15	опытная, n=15
Высота ворсинок, мкм	336,47±4,92	432,82±6,04*
Средняя ширина ворсинок, мкм	73,62±1,21	63,72±1,01*
Длина общекишечных желез, мкм	215,13±3,17	219,28±3,40
Средняя ширина общекишечных желез, мкм	76,90±1,72	76,76±0,84
Средний диаметр дуоденальных желез, мкм	31,90±0,79	44,72±1,25*
Толщина мышечной пластинки, мкм	46,05±1,24	40,45±1,25*

Из таблицы 1 видно, что при применении НИЛИ высота ворсинок выше, чем у поросят контрольной группы, – на 96,35 мкм, или на 28,64%. Толщина ворсинок также изменялась – у поросят опытной группы по сравнению с контрольной была меньше на 9,90 мкм.

Полученные данные свидетельствуют о том, что НИЛИ оказывает стимулирующее воздействие на ворсинки двенадцатиперстной кишки поросят-гипотрофиков, что, вероятно, связано с активизацией биохимических процессов.

мических реакций, индуцированных лазерным излучением. Ворсинки хорошо развиты, плотно прилегают друг к другу. Апикальные отделы некоторых ворсинок булавовидно расширены (рисунок 1).



Рисунок 1 – Ворсинки двенадцатиперстной кишки при применении НИЛИ

Длина общекишечных желез у поросят опытной группы всего на 1,93% меньше, чем у поросят контрольной группы, в то время как их средняя ширина выше у поросят контрольной группы на 0,18%. Просвет общекишечных желез расширен и заполнен секретом. Пространство между железами заполнено лимфоцитами, плазмощитами (рисунок 2).

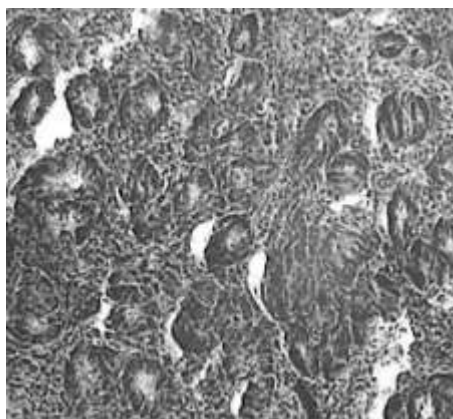


Рисунок 2 – Общекишечные железы при применении НИЛИ

Средний диаметр дуоденальных желез у поросят при применении НИЛИ был выше на 12,82 мкм, что соответствует 40,19%. Дуоденальные железы имеют одинаковый диаметр, равномерно заполнены секретом, плотно прилегают друг к другу. Толщина мышечной пластинки была выше у поросят контрольной группы, чем у поросят при применении НИЛИ – на 13,84%.

У двух поросят опытной группы в первую неделю опыта наблюдались диарейные расстройства. Но если в контрольной группе заболевание, в среднем, длилось 5-6 дней, то в опытной – не более 3-х дней. Болезнь протекала в легкой форме и через 2-3 дня деятельность желудочно-кишечного тракта нормализовалась без ветеринарного вмешательства. Падежа в опытной группе зарегистрировано не было. На конец опыта сохранность в опытной группе составила 100%, в контрольной – 80%.

Заключение. Таким образом, биоэффект в организме животных под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения проявляется в активизации гемодинамики и обмена внутритканевой жидкости, стимуляции электролитного обмена в цитоплазме клетки и, как результат, ускорении процессов метаболизма, стимулировании восстановления клеточных структур за счет увеличения выработки АТФ, потребления кислорода, синтеза белков и нуклеиновых кислот и активизации цитоплазматических ферментов. В итоге суммарный эффект выражается в увеличении живой массы, среднесуточных привесов и повышении сохранности поросят.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иноземцев, В. Лазерная терапия животных – это эффективно и экологически безопасно /В. Иноземцев, И. Балковой //Молочное и мясное скотоводство. – 1994. – № 4. – С. 30-32.
2. Лузин, В.И. Пути повышения сохранности и продуктивности физиологически незрелого приплода в условиях промышленной технологии /В.И. Лузин //Физиологические особенности свиней и проблемы их выращивания в условиях промышленной технологии: сб. науч. тр. – Казань, 1986. – С. 19-22.
3. Рубинов, А.Н. Физические основы терапевтического действия лазерного излучения /А.Н. Рубинов, А.А. Афанасьев //Лазеры в биомедицине: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Гродно, 2002. – С. 22.
4. Синяев, В.А. Лазерное излучение: понятия, свойства, история изучения и использования /В.А. Синяев //Лазерные технологии в ветеринарии и животноводстве: сб. науч. ст. – Нижний Новгород, 1997. – С. 6-11.
5. Снитинский, В.В. Повышение сохранности поросят и особенности обмена веществ в ранний постнатальный период /В.В. Снитинский //Вестник с.-х. науки. – 1987. – № 3. – С. 89-92.
6. Стрельцов, В.А. Живая масса при отъеме и энергия роста поросят в период дорашивания /В.А. Стрельцов, В.Ф. Пинчук, Т.В. Голуб //Актуальные проблемы интенсификации производства продукции животноводства: материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 12-13 окт. 1999. – Минск, 1999. – С. 224-226.

7. Субботин, В.В. Сидоров М.А. Профилактика желудочно-кишечных болезней новорожденных с симптомокомплексом диареи /В.В. Субботин, М.А. Сидоров //Ветеринария. – 2001. – № 4. – С. 3-7.
8. Ткачев, Е.З. Пищеварительные, обменные процессы и резистентность организма у поросят при использовании биологически активных веществ /Е.З. Ткачев, Т.Е. Банкина //Бюл. науч. работ. – ВИЖ, 1989. – Т. 93. – С. 79-81.

УДК 619:616.995.121.21

ИММУНОДИАГНОСТИКА ФАСЦИОЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Е.А. Степанова, М.В. Якубовский

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

(Поступила в редакцию 29.06.2013 г.)

Аннотация. В статье представлены данные по разработке современных иммунологических методов диагностики фасциолеза крупного рогатого скота. Иммунологические методы обеспечивают раннюю диагностику фасциолеза по сравнению с копрологическими методами. Это позволяет обрабатывать животных в более ранних сроках, предупреждая возможные экономические потери, причиняемые фасциолезом. Разработанный набор для раннего выявления антител к антигенам фасциол (*Fasciola hepatica*) у крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа «ИФА – фасциол» обладает специфичностью 93,75% и чувствительностью 100%.

Summary. The article presents data on the development of modern immunological methods for diagnosis of fascioliasis in cattle. Immunological methods provide earlier diagnostics of fascioliasis, than coprological ones. This allows to process animals in earlier terms, warning possible economic losses provided by fascioliasis. The developed set «ELISA test kit for early detection of antibodies to fasciola (*Fasciola hepatica*) cattle antigens «ELISA - fasciola» possesses specificity of 93,75 % and sensitivity of 100 %.

Введение. Фасциолез – трематодозная болезнь многих видов животных и человека [2, 12]. В Беларуси фасциолез встречается во всех областях страны. Заражение крупного рогатого скота *F. hepatica* ведет к снижению привесов, удоев молока, ухудшению качества животноводческой продукции, снижению уровня иммунитета, в т.ч. поствакцинального. По данным отдела паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», при обследовании крупного рогатого скота в хозяйствах и на мясоперерабатывающих предприятиях республики экстенсивность инвазированности крупного

рогатого скота в 2012 г. составила около 1,64-3,03%, причем у коров инвазированность была выше и достигала 1,12-5,57% [10].

Для успешного оздоровления поголовья крупного рогатого скота следует проводить комплекс мер, включающих раннюю диагностику и эффективную дегельминтизацию животных. В этом комплексе важным звеном является современная и достоверная диагностика.

При диагностике фасциоза в лабораторных условиях чаще всего применяют метод последовательных промываний. Взятие проб у животных при постановке диагноза осуществляют выборочно от 10% поголовья, но не менее чем 30 проб. Обнаружение яиц фасциол в любой из них ведет к вынужденной обработке всего поголовья противотрематодозными препаратами [4].

Однако по данным ряда авторов, метод последовательных промываний при диагностике фасциоза позволяет обнаружить лишь около 45-50% зараженных фасциолами животных. В то же время отрицательный результат копрологической диагностики не обозначает отсутствие паразита, что не позволяет объективно оценивать эпизоотическую ситуацию [3, 8, 11, 13].

В связи с тем что эффективность копрологических методов низкая, для диагностики фасциоза следует использовать иммунный ответ на вторжение паразитарного организма [3, 6, 7, 8, 14, 15].

Основное преимущество иммунологической диагностики заключается в возможности распознавать гельминтоз в ранней стадии болезни, когда возбудители ещё не достигли половой зрелости и копрологические методы использовать нельзя.

Впервые иммунологическую диагностику фасциоза применил Серванти в 1921 году, используя в качестве антигена алкогольный экстракт из половозрелых фасциол. По данным исследователей реакция на антиген проявлялась в форме периваскулярной эозинофильной инфильтрации. Метод позволил выявить 17 из 25 больных фасциозом овец [1].

При исследовании применения различных антигенов для внутрикожной аллергической пробы Н.В. Демидов обнаружил наибольшую эффективность при использовании полного соматического антигена фасциол и указал, что наибольшей перспективой использования из всех иммунологических методов диагностики обладают аллергические [5].

В 2005-2009 гг. сотрудниками отдела паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» разработан аллерген для диагностики фасциоза крупного рогатого скота с использованием внутрикожной аллергической пробы (ТУ 600049853.134-2009). Аллерген зарегистрирован в Главном управ-

лении ветеринарии с Государственной ветеринарной инспекцией Министерства сельского хозяйства и продовольствия и разрешен к применению (регистрационное свидетельство № 2856-10-09 БДААТ от 13.07.2009 г.) [9].

Цель работы – разработать набор на основе иммуноферментного анализа для ранней диагностики фасциолеза крупного рогатого скота.

Материалы и методика исследований. Исходный материал (имаго трематоды *F. hepatica*) собирали из желчных протоков печени спонтанно инвазированного фасциолами крупного рогатого скота при убое на мясокомбинатах Минска, Витебска.

Во всех случаях, используя морфометрический анализ, был определен вид *F. hepatica*.

Полученные трематоды 5-6 раз отмывали в физиологическом растворе. Далее получали антиген из фасциол гомогенизацией, с последующим центрифугированием и пятикратной ультразвуковой дезинтеграцией.

Содержание белка в полученных образцах определяли методом осаждения ТХУ и спектрофотометрии на спектрофотометре «Metertech UV/VIS Spectrophotometer SP-8001» при 540 нм.

Полноценность антигена испытали на сыворотках крови 3 иммунизированных кроликах при 3 контрольных. Сыворотки крови в различных разведениях проверили в РИД по общепринятой методике.

На следующем этапе провели комплектацию опытных образцов набора.

Для определения диагностической эффективности (чувствительность и специфичность) применили реакцию иммуноферментного анализа, взяв за основу методику в модификации Э.Х. Даугалиевой и соавт. (1990). С учетом ранее полученных данных разработали параметры проведения иммуноферментного анализа с антигеном, полученным из фасциол.

Определение диагностической эффективности ИФА для ранней диагностики фасциолеза провели на МТФ «Соломорежье» СПК «Вишневка 2010» Минского района на 40 животных спонтанно инвазированных фасциолами. При обследовании крупного рогатого скота (методом последовательных промываний) был выявлен фасциолез с экстенсивностью инвазированности 37,5%. У инвазированных фасциолами коров провели отбор проб крови, которые проверили на наличие антител с помощью сконструированного «Набора для раннего выявления антител к антигенам фасциол (*Fasciola hepatica*) у крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа «ИФА-фасциола». В качестве отрицательного контроля использовали сыворотки крови,

отобранные от 12 голов крупного рогатого скота не инвазированных фасциолами МТФ «Дуличи» КСУП «ППЗ «Белорусский» отделение Чачково» Минского района.

Для учета результатов использовали показатели SP, SN.

Результаты исследований и их обсуждение. Для изготовления набора для ранней иммунодиагностики фасциоза крупного рогатого скота на первом этапе был наработан антиген из имаго фасциол, отобранных на мясокомбинатах республики. Всего было получено 100 мл антигена с концентрацией белков *F. hepatica* равной 4,12 мг/мл.

При определении полноценности полученного антигена установлено (при постановке реакции иммунодиффузии (рид) с гипериммунными кроличьими сыворотками), что полученный антиген является полноценным.

На следующем этапе провели комплектацию опытных образцов набора. Каждый набор состоит из 9 компонентов и инструкции по применению, рассчитан на проведение 96 исследований, включая контроли.

Состав набора: № 1 Антиген - 1 флакон; № 2 Планшет для иммуноферментного анализа - 1 планшет; № 3 ФСБ-Т - концентрат фосфатно-солевого твинсодержащего буферного раствора - 1 флакон; № 4 ПК - положительный контроль - 1 флакон; № 5 ОК - отрицательный контроль - 1 флакон; № 6 Конъюгат - 1 флакон; № 7 СБР - субстратный буферный раствор - 1 флакон; № 8 ОФД - ортофенилендиамин - 1 флакон; № 9 КББ - карбонат-бикарбонатный буферный раствор - 1 флакон.

Компоненты «Набора для раннего выявления антител к антигенам фасциол (*Fasciola hepatica*) у крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа «ИФА- фасциола» по своим органолептическим, физико-химическим и биологическим показателям соответствуют требованиям проекта технических условий.

наименование показателя	характеристика и норма показателя
1	2
внешний вид антигена	опалесцирующая жидкость желтоватого цвета, допускается осадок серого цвета с различными оттенками, который разбивается при встряхивании.
внешний вид планшета для иммуноферментного анализа полистиролового 96-луночного	плоскодонный планшет из полистирола с лунками, лунки без царапин, деформаций и загрязнений дна.
внешний вид концентрата фосфатно - солевого твинсодержащего буферного раствора (фсб-т)	слегка опалесцирующая бесцветная жидкость. пенится при встряхивании. допускается выпадение солей в осадок.
внешний вид положительного контроля (пк)	желтоватая или с розоватым оттенком жидкость без посторонних примесей.

Продолжение таблицы

1	2
внешний вид отрицательного контроля (ок)	желтоватая или с розоватым оттенком жидкость без посторонних примесей.
внешний вид антивидового пероксидазного конъюгата	тягучая бесцветная или с розоватым оттенком жидкость.
внешний вид субстратного буферного раствора (сбр)	прозрачная бесцветная жидкость.
внешний вид ортофенилендиамина (офд)	таблетки желтоватого цвета или порошок розоватого цвета.
внешний вид карбонат-бикарбонатного буферного раствора (кбб)	прозрачная бесцветная жидкость.
показатель концентрации водородных ионов фсб-т, единицы рН	5,9 – 6,9
показатель концентрации водородных ионов сбр, единицы рН	4,5-5,5
показатель концентрации водородных ионов кбб, единицы рН	9,3-10,3
активность антигена, ок, пк и конъюгата	оптическая плотность положительного контроля (пк) должна в 1,50 и более раз превышать оптическую плотность отрицательного контроля (ок).

Определение диагностической эффективности «Набора для раннего выявления антител к антигенам фасциол (*Fasciola hepatica*) у крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа «ИФА- фасциола» провели на МТФ «Соломоречье» СПК «Вишневка 2010» Минского района на 40 животных спонтанно инвазированных фасциолами. При обследовании крупного рогатого скота (методом последовательных промываний) был выявлен фасциолез с ЭИ 37,5%. У инвазированных фасциолами коров провели отбор проб крови, которые проверили на наличие антител с помощью «Набора для раннего выявления антител к антигенам фасциол (*Fasciola hepatica*) у крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа «ИФА- фасциола». В качестве отрицательного контроля использовали сыворотки крови, отобранные от 12 голов крупного рогатого скота не инвазированных фасциолами МТФ «Дуличи» КСУП «ППЗ «Белорусский» отделение Чачково» Минского района.

Было установлено, что из 52 проб сывороток крови исследованных в ИФА было выявлено 36 проб с превышением оптической плотности в $2,49 \pm 0,12$ раза по сравнению с нормальной сывороткой (больные животные). В 16 пробах от животных не инвазированных фасциолами превышение оптической плотности по сравнению с нормальной сывороткой составило в $1,28 \pm 0,04$ раза (здоровые животные), тогда как у одного животного превышение оптической составило 1,6 раза по сравнению с нормальной сывороткой.

Таким образом, установлена возможность применения ИФА с помощью разработанного набора для диагностики фасциолеза крупного рогатого скота.

Заключение. Изготовлен набор для ранней иммунодиагностики фасциолеза крупного рогатого скота.

Специфичность сконструированного «Набора для раннего выявления антител к антигенам фасциол (*Fasciola hepatica*) у крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа «ИФА-фасциола» составляет 93,75%, чувствительность 100%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабянскас, М.А. Иммунологическая диагностика фасциолеза и разработка методов оздоровления сельскохозяйственных животных от этой инвазии в условиях Литовской ССР: дис. ... док. вет. наук. / М.А. Бабянскас. – Кайшядорис, 1965. – 619 с.
2. Бекиш, О.-Я.Л. Основы медицинской паразитологии/ О. - Я.Л. Бекиш, В.Я. Бекиш. – Минск.: Университетское, 2001. – 224 с.
3. Бережко, В.К. Иммунологические методы диагностики гельминтозов животных (краткий обзор) / В.К. Бережко // Труды Всесоюзного института гельминтологии им. академика К.И. Скрябина. – М., 2000. – Том 36. – С. 10-26.
4. Ветеринарно-санитарные правила по выполнению паразитологических методов лабораторной диагностики гельминтозов, протозоозов и арахноэнтомозов: утв. ГУВ МСХиП РБ 21.07.2007 г. / И.Н. Дубина [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 52 с.
5. Демидов, Н.В. Иммунобиологическая диагностика фасциолеза (общие замечания) / Н.В. Демидов // Труды Всесоюзного института гельминтологии им. академика К.И. Скрябина. – М., 1968. – Том 13. – С. 278-294.
6. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля, пер. с нем. А.П. Тарасова. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.
7. Клименко, В.В. Иммунохимический анализ антигенов гельминтов, способы их получения и перспективы практического использования / В.В. Клименко // Труды Всесоюзного института гельминтологии им. академика К.И. Скрябина. – М., 2002. – Том 38. – С. 78-130.
8. Онуфриенко, М.Э. Фасциолез крупного рогатого скота в северо-западном регионе России: дис. ... док. вет. наук: 03.00.19, 16.00.04 / М.Э. Онуфриенко. – СПб, 2004. – 339 с.
9. Трус, И.А. Иммунологическая диагностика фасциолеза крупного рогатого скота (разработка иммунореагентов, иммунологических тестов, сравнительная эффективность и показания к применению): дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19 / И.А. Трус. – Минск, 2008. – 131 с.
10. Якубовский, М.В. Диагностика, терапия и профилактика паразитарных болезней животных / М.В. Якубовский, Н.Ф. Карасев. – Минск: Хата, 2001. – 384 с.
11. Fascioliasis / J. Richter [et al.] // Current Treatment Options in Inf. Dis. – 2002. – Vol. 4. – P.313-317.
12. Fasciolosis / ed. J. P. Dalton– Wallingford: CABI Publishing. – 1999. – 544 p.
13. Muller, R. Worms and human disease / R. Muller, D. Wakelin. – 2 ed. – CABI Publishing, 2002. – 300 p.
14. Noemi, S. Antibody profiles of EITB and ELISA of cattle and sheep infected with *Fasciola hepatica* / S. Noemi, G.V. Hillyer // J. Parasitol. – 1988. – Vol. 74, № 5. – P. 810-818.
15. Tiggele, L. J. van. Serological diagnosis of fascioliasis / L. J. van Tiggele, H. J. Over // J. Vet. Parasitol. – 1976. – Vol. 3, № 1. – P. 239-248.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Г.А. Тумилович

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 06.06.2013 г.)

Аннотация. В статье приведены результаты изучения морфофункциональной организации вилочковой железы телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении. Описаны особенности гистологического строения и функционирования тканевых структур стромы и паренхимы железы. В тимусе телят-гипотрофиков с более выраженными признаками недоразвития отмечается слабое развитие коркового вещества, увеличение мозгового, разрушение клеточных элементов мозгового вещества, инверсия слоев, уменьшение размера тимусных телец на фоне увеличения их количества, дистрофические изменения многослойных тимусных телец.

Summary. The article presents the results of a study of the morphological and functional organization of the thymus gland of calves with different degree of physiological maturity at birth. The features of the histological structure and functioning of the tissue structures of the stroma and parenchyma of the gland are described. In the thymus of calves-hypotrophics with more pronounced signs of underdevelopment there is poor development of the cortex, the increase in brain, the destruction of the cellular elements of the brain substance, inversion of layers, reducing the size of thymus cells on a background of increasing their number, dystrophic changes of multilayer thymic cells.

Введение. В связи с бурным развитием иммунологии в последние десятилетия существенно изменилось представление о строении и функции органов иммунной системы [5, 8]. Исследование органов иммунной системы имеет первостепенное значение, так как распознавание и уничтожение инородных субстанций, в большинстве случаев – патогенных микробов, в организме осуществляется защитными (иммунокомпетентными) органами, одним из которых является вилочковая железа (тимус), роль которой определена как ведущая в формировании клеточного иммунитета, лимфоидной системы и иммунологического статуса организма [2, 3, 10].

На современном этапе развития животноводства в связи с интенсификацией сельскохозяйственного производства на организм животных воздействуют значительное количество стрессовых факторов (гипокинезия, скученность, перегруппировка, перевозка и т.д.). Все выше перечисленные факторы отрицательно сказываются на строении и функции различных систем, в том числе и на лимфоидных органах, как

матери, так и плода, все это существенно сказывается на развитии животных в раннем постнатальном онтогенезе [1, 4, 6, 7].

Однако, несмотря на значительные успехи в исследовании морфологии иммунокомпетентных органов, многие вопросы остаются недостаточно изученными. Имеющиеся данные в отношении морфологии тимуса телят с разной степенью физиологической зрелости не создают целостного представления и не удовлетворяют многих исследователей [9, 11].

Цель работы – изучить морфологические, морфометрические и функциональные особенности вилочковой железы новорожденных телят с разной степенью антенатального недоразвития.

Материал и методика исследований. Научно-производственные исследования по решению поставленной цели осуществлялись в 2009 – 2012 г. в условиях УО СПК «Путишки», СПК «Гродненский» Гродненского района и СПК «Демброво» Щучинского района Гродненской области и НИЛ УО «ГТАУ».

Клинические исследования новорожденных телят проводили согласно общепринятому в ветеринарии плану [А.М. Смирнов и др., 1988], а также исходя из нами разработанной методики определения морфофункциональной зрелости новорожденных телят [Г.А. Тумилович и др., 2008].

В зависимости от степени антенатального недоразвития новорожденные телята были разделены на четыре группы: телята-нормотрофики с живой массой $35,1 \pm 1,07$ кг, низкая степень антенатального недоразвития – живая масса $30,7 \pm 0,81$ кг, средняя степень – живая масса $23,8 \pm 0,93$ кг и высокая степень антенатального недоразвития телят – живая масса $19,2 \pm 0,41$ кг.

Материалом для морфологических исследований служили образцы вилочковой железы 19 однодневных телят разной степени физиологической зрелости. Материал отбирался в шейном и грудном отделе вилочковой железы. При заборе материала стремились к максимальной стандартизации препаративных процедур при фиксации, проводке, заливке, приготовлении парафиновых и криостатных срезов. Отбор проб проводили не позднее 10-15 мин после эвтаназии, а после гибели телят – не позднее 30-45 минут. Материал предварительно фиксировался в 8-10%-м растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа. Для проведения морфологических исследований готовили срезы толщиной 5-7 мкм и применяли окраску гистопрепаратов гематоксилин-эозином и по Брассе. Абсолютную массу тимуса определяли в граммах путем взвешивания на аналитических весах. Для взвешивания использовали весы марки ARG 120 max 3100 g. Гистологические методы бы-

ли использованы для изучения микроморфологии тимуса (капсулы, междольковой соединительной ткани, коркового и мозгового вещества и тимусных телец). Для обработки данных использована система микроскопии с компьютерной обработкой «Биоскан», которая включает микроскоп ЛОМО МИКМЕД – 2, цветную фотокамеру D.S.P. 78/73 SERIES.

Результаты исследований и их обсуждение. Вилочковая железа новорожденных телят крупного рогатого скота представлена анатомически сформированным органом, состоящим из двух отделов – непарным грудным и парным – шейным и имеющих светло-серый цвет с розовым оттенком. Грудная и шейные доли разделяются между собой небольшим перешейком. Грудная доля располагается в грудной полости в области средостения, большей частью заходит на левую сторону, лежит над основанием сердца. Шейные доли проходят вдоль трахеи до углов нижней челюсти. Ширина долей в краниальном направлении постепенно уменьшается и в области нижней челюсти заканчиваются. На уровне 3-го и 7-го шейного позвонка обе шейные доли идут в единой соединительнотканной оболочке.

Относительная масса тимуса у телят-нормотрофиков составила 0,51% (179,1 г), у телят-гипотрофиков с низкой степенью недоразвития – 0,55% (168,8 г), у телят-гипотрофиков со средней степенью недоразвития – 0,47% (111,8 г), у телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития – 0,49% (94,2 г). Снижение массы тимуса у телят-нормотрофиков обусловлено, по-видимому, более активной функцией, проявляющейся значительным «выселением» лимфоцитов в периферические лимфоидные органы. У телят-гипотрофиков с более глубокими признаками недоразвития снижение относительной массы возможно обусловлено незрелостью тканевых структур тимуса.

Гистологически тимус покрыт капсулой и образован дольками. Для тимуса новорожденных телят-нормотрофиков характерна четкость контуров долек. Дольки железы телят-нормотрофиков и телят-гипотрофиков с низкой степенью недоразвития хорошо оформлены и четко контурированы, в которых различают корковое и мозговое вещество. У телят-нормотрофиков и телят-гипотрофиков с низкой степенью недоразвития отмечено преобладание коркового вещества над мозговым веществом и составляет 73,8%, 26,2% и 72,1%, 27,9% соответственно, что свидетельствует о высокой активности лимфобластов периферической зоны долек тимуса и цитопозитической функции железы. Так, у телят-нормотрофиков толщина коркового слоя составляет $506,96 \pm 14,22$ мкм, что на 18,7% ($P < 0,001$), 45,9% ($P < 0,01$) и 62,4% больше, чем у телят-гипотрофиков с низкой, средней и высокой степенью недоразвития.

Наибольшая площадь долек выявлена у телят-нормотрофиков и составляет $614,86 \pm 45,51 \text{ мм}^2$. Форма долек разнообразна – округло-овальная и овально-вытянутая. Кorkовое вещество долек образовано из ретикулярной ткани, ячейки которой заполнены тимоцитами и лимфобластами. У телят-нормотрофиков одноклеточных тимусных телец в мозговом веществе содержится меньше, чем у животных других групп, поскольку здесь более сформированы многоклеточные тельца Гассалья. Тимоциты коры тимуса – это малые лимфоциты, 4-6 мкм с округлым ядром, которое окружено узким ободком цитоплазмы, которая выглядит довольно темной. Тимоциты мозгового вещества имеют размер 5-7 мкм. Ядро у них расположено более эксцентрично. Данные клетки более функционально активны и высококодифференцированные.

Таблица – Морфометрия вилочковой железы телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении

Показатель	Степень антенатального недоразвития			
	нормотрофики	низкая	средняя	высокая
Толщина капсулы, мкм	23,52± 1,59	24,13± 3,18	20,79± 2,66	21,11± 2,07
Толщина междольковых перегородок, мкм	29,70± 5,35	27,31± 4,01	32,11± 4,53	31,84± 3,62
Толщина коркового слоя, мкм	506,96± 14,22***	412,85± 11,05***	273,91± 13,79**	190,47± 9,35
Толщина мозгового слоя, мкм	417,09± 20,74*	341,28± 17,13	352,14± 16,27	326,47± 25,58
Площадь долики, мм ²	614,86± 45,51*	524,18± 32,81	478,05± 29,74	437,41± 46,11
Площадь мозгового слоя, мм ²	161,28± 13,51	142,56± 10,78	183,42± 24,71	219,04± 17,55
Тельца Гассалья, мкм	34,96± 2,65**	34,19± 4,28*	26,44± 6,51	21,32± 2,73

Примечание: *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 – по отношению к высокой степени антенатального недоразвития.

Мозговое вещество представлено особым эпителием, который формирует одноклеточные и слоистые тимусные тельца (тельца Гассалья), выполняющие гормональную функцию: синтезируют гормоны и выполняют роль микроокружения Т-лимфоцитов, без которого не возможно созревание тимус-зависимых клеток. Эпителиальные клетки коркового вещества тимуса довольно крупные – 15-19 мкм, причудливой формой и объемным ядром. Клетки этого типа имеют весьма скудную цитоплазму в виде узкого ободка вокруг ядра. Эпителиальные клетки мозгового слоя более крупные и имеют несколько вытянутое ядро. В мозговом веществе долек встречаются до 8-10 тимусных телец. Слоистые тимусные тельца Гассалья округлой, вытянутой или овальной формы, величина их значительно варьирует. Тимусные тельца подвер-

гаются базофильной дистрофии, вакуолизации, гиалинозу. Они пиронинофильны и дают положительную шик-реакцию. Среди клеточных элементов наибольшую часть составляют тимоциты, а также присутствуют ацидофилоциты, в основном вблизи расположения тимусных телец и единичные – в соединительнотканых прослойках.

Капсула у телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития расслаблена, дряблая и толщина составляет $21,11 \pm 2,07$ мкм, междольковые перегородки расширены, отечны, отчетливо выражена застойная гиперемия, отмечаются кровоизлияния. Толщина междольковых перегородок варьирует от $27,31 \pm 4,01$ до $32,11 \pm 4,53$ мкм.

В некоторых долях у телят-гипотрофиков со средней и высокой степенью недоразвития отмечено отсутствие типичного строения. Они однородны, равномерно инфильтрированы лимфоцитами, в них тимусные тельца отсутствуют. Наименьшая толщина мозгового слоя выявлена у телят-гипотрофиков и равна $326,47 \pm 25,58$ мкм, что на 7,3%, 4,3% и 27,7% ($P < 0,05$) меньше, чем у телят-гипотрофиков со средней и низкой степенью недоразвития и телят-нормотрофиков. Соотношение площади коркового и мозгового вещества долек тимуса у телят-гипотрофиков со средней и высокой степенью недоразвития составило – 61,7%, 38,3% и 49,9%, 50,1%.

Отмечено уменьшение количества тимоцитов в корковом веществе, за счет чего происходит сужение коркового вещества, основную часть долики занимает мозговое вещество с очаговым скоплением ацидофилоцитов в состоянии разрушения на фоне тимоцитоллиза. Отмечается миграция лимфоцитов из коркового в мозговой слой (инверсия слоев). У телят-гипотрофиков с более выраженными признаками недоразвития тельца Гассалья находятся на разной стадии развития и формирования, одноклеточные тимусные тельца встречаются чаще, чем многослойные. Многослойные тельца Гассалья находятся в состоянии кистозного перерождения. Полости выстланы плоским эпителием и содержат конгломерат клеток, находящихся в состоянии дистрофии.

Соединительная ткань между долями у телят-нормотрофиков и телят-гипотрофиков с низкой степенью недоразвития между долек слабо выражена, ее больше на стыке долек, где располагаются междольковые кровеносные сосуды, а телят-гипотрофиков средней и высокой степени недоразвития расслаблена, междольковые перегородки расширены, отечны, отчетливо выражена застойная гиперемия.

Вывод. Таким образом, проведенные исследования показывают особенности морфофункциональной характеристики развития тимуса у телят с разной степенью антенатального недоразвития. В тимусе телят-гипотрофиков с более выраженными признаками недоразвития

отмечается слабое развитие коркового вещества, увеличение мозгового, разрушение клеточных элементов мозгового вещества, инверсия слоев, уменьшение размера тимусных телец на фоне увеличения их количества, дистрофические изменения многослойных тимусных телец. Все ранее указанные деструктивные процессы, протекающие в вилочковой железе новорожденных телят, способствуют снижению процессов регенерации и нарушению иммунобиологических показателей у телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева, А.И. Показатели физиологически зрелых и незрелых телочек красной степной породы при разных условиях выращивания / А.И. Афанасьев, К.Н. Лотц // Зоотехния. – 2009. – № 5. – С. 19-21.
2. Брикет, Н.Н. Морфология и кровоснабжение тимуса у овец латвийской темноголовой породы в онтогенезе: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.02 / Н.Н. Брикет; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 1996. – 16 с.
3. Гомбоев, Д.Д. Неонатальная незрелость телят и её последствия / Д.Д. Гомбоев // Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с болезнями животных: сб. науч. тр. – Новосибирск, 1997. – С. 340-341.
4. Григорьев, В.С. Органогенез и клеточный состав вилочковой железы крупного рогатого скота в предплодную и плодную фазы развития / В.С. Григорьев // Ученые записки Казанская государственная академия ветеринарной медицины. – Казань, 2006; Т. 182. – С. 92-96.
5. Катаранов, А.А. Клинико-иммунологическая характеристика новорожденных телят и немедикаментозные методы коррекции у них иммунодефицита: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.07 / А.А. Катаранов; Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова. – Саратов, 2005. – 29 с.
6. Клименко, О.Н. Материалы по гистометрии тимуса крупного рогатого скота / О.Н. Клименко // Проблемы эволюционной, сравнительной и функциональной морфологии домашних животных и пушных зверей клеточного содержания: сб. науч. тр. – Омск, 1993. – С. 153-154.
7. Криштофорова, Б.В. Внутрикостные инъекции у телят с различной степенью пренатального развития / Б.В. Криштофорова, П.Н. Гаврилин // Ветеринария. – 2000. – № 5. – С. 39-42.
8. Маслянюк, Р.П. Морфофункциональные особенности лимфоидной ткани крупного рогатого скота / Р.П. Маслянюк, И.Н. Фостык // Материалы всесоюз. науч. конф. морфологов "Экологические аспекты эволюционной, функциональной и возрастной морфологии человека и домашних животных", посвященной 100-летию со дня рождения проф. А.Е. Ефимова. – Омск, 1992; Ч.1. – С. 58-61.
9. Никитенко, А.М. Морфология тимуса телят при выращивании их в условиях животноводческих комплексов / А.М. Никитенко, Л.А. Заика // Морфологические особенности домашних млекопитающих и птиц: сб. науч. тр. – Москва, 1985. – с. 97-98.
10. Сабирова, Э.С. Особенности строения и иннервации тимуса крупного рогатого скота холмогорской породы в онтогенезе: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.02 / Э.С. Сабирова; Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева. – Саранск, 2009. – 17 с.
11. Семина, Н.М. Возрастная морфология вилочковой железы плодов и телят крупного рогатого скота / Н.М. Семина // Макро- и микроморфология с.-х. животных и пушных зверей: сб. науч. тр. – Омск, 1983. – с. 65-71.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Г.А. Тумилович

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 06.06.2013 г.)

Аннотация. В статье приведены результаты изучения структурно-функциональной организации тощей кишки тонкого кишечника телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении, т.е. описаны особенности строения и функционирования цитологических структур слизистой оболочки, мышечной и серозной. Степень развития цитологических структур, таких как ворсинки, крипты и эпителиальный слой в целом зависит от степени физиологической зрелости при рождении.

Summary. In the article the results of study of the structural and functional organization of the jejunum of the small intestine of calves with different degree of physiological maturity at birth are obtained, that is, the features of the structure and functioning of the cytological structure of the mucosa, muscle, and serosa are described. The degree of cytological development of structures such as villi and crypt epithelium layer generally depends on the physiological maturity at birth.

Введение. Одной из важных проблем интенсификации скотоводства является выращивание телят молозивно-молочного периода. Этот процесс требует постоянного учета влияния кормления, содержания, факторов окружающей среды на рост и развития новорожденных телят. Всестороннее изучение и вскрытие закономерностей развития органов пищеварительной системы у крупного рогатого скота является биологической предпосылкой для разработки системы полноценного кормления. Однако структурно-функциональные особенности развития тонкой кишки у телят в молозивно-молочном периоде развития изучены недостаточно [2, 6, 8].

Без знаний особенностей биологии развития телят, особенно пищеварительных органов, невозможно достичь высоких хозяйственных показателей. Особый интерес представляют морфологические особенности телят-гипотрофиков. Исследования ряда авторов показывают, что степень тяжести протекания адаптационных процессов в органах пищеварения новорожденных телят напрямую зависит от их морфофункциональной зрелости [3, 5, 9].

Среди заболеваний новорожденных около 70% приходится на долю болезней пищеварительной системы, при этом смертность от них достигает, примерно, 60%. Это связано со структурно-функциональной

незрелостью пищеварительного аппарата у молодняка, а также не соблюдением условий технологии содержания животных [1, 4, 8].

Исходя из этого, важным научным направлением в ветеринарной морфологии является исследование структурно-функциональных особенностей организации тонкого кишечника новорожденных телят с разной степенью физиологической зрелости, что приблизит нас к пониманию механизмов развития компенсаторно-приспособительных реакций у животных данной категории [3, 4, 5, 7].

Цель работы – изучить морфологические, морфометрические и функциональные особенности тощей кишки тонкого кишечника новорожденных телят с различной степенью антенатального недоразвития.

Материал и методика исследований. Научно-производственные исследования по решению поставленной цели осуществлялись в 2010 – 2012 г. в условиях СПК «Гродненский» и СПК «Путришки» Гродненского района и СПК «Демброво» Щучинского района Гродненской области и НИЛ УО «ГТАУ».

Клинические исследования новорожденных телят проводили согласно общепринятому в ветеринарии плану [А.М. Смирнов и др., 1988], а также исходя из нами разработанной методики определения морфофункциональной зрелости новорожденных телят [Г.А. Тумилович и др., 2008].

Для оценки морфофункциональной зрелости использовано 186 телят однодневного возраста. В зависимости от степени антенатального недоразвития новорожденные телята были разделены на четыре группы: телята-нормотрофики с живой массой $35,1 \pm 1,07$ кг, низкая степень антенатального недоразвития – живая масса $30,7 \pm 0,81$ кг, средняя степень – живая масса $23,8 \pm 0,93$ кг и высокая степень антенатального недоразвития телят – живая масса $19,2 \pm 0,41$ кг.

Материалом для гистологических исследований служили образцы стенок тощей кишки 22 однодневных телят разной степени физиологической зрелости. Материал отбирался в краниальном, среднем и каудальном участках длиной 1,0-2,0 см. При заборе материала стремились к максимальной стандартизации препаративных процедур при фиксации, проводке, заливке, приготовлении парафиновых и криостатных срезов. Отбор проб проводили не позднее 10-15 мин после вскрытия брюшной полости животных. Материал предварительно фиксировался в 10%-ом растворе нейтрального забуфированного формалина Р. Лилли при $t+4^{\circ}\text{C}$ и $t+20^{\circ}\text{C}$ и жидкости И. Карнуа. Для проведения морфологических исследований применяли окраску гистопрепаратов гематоксилин-эозином по П. Эрлиху. Для обработки данных использована система микроскопии с компьютерной обработкой «Биоскан», которая

включает микроскоп ЛОМО МИКМЕД – 2, цветную фотокамеру D.S.P. 78/73 SERIES.

Результаты исследований и их обсуждение. Стенка тощей кишки новорожденных телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении образована тремя оболочками: слизистой, мышечной и серозной. Слизистая оболочка кишечника состоит из собственной пластинки и подслизистой основы. Их разделяет мышечная пластинка слизистой оболочки. Собственная пластинка состоит из эпителиального пласта и соединительнотканного слоя собственной пластинки.

При морфометрии кишечной стенки телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития установлено, что кишечная стенка вне складок составляет $1577,4 \pm 132,3$ мкм, что на 8,8%, 12,7% и 21,4% ($P < 0,05$) меньше, чем у телят-гипотрофиков со средней, низкой степенью недоразвития и телят-нормотрофиков. Толщина кишечной стенки в области складок варьирует от 2743,1 мкм до 3559,9 мкм. Слизистая оболочка вне складок у телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития составляет $869,7 \pm 71,9$ мкм, что на 16,4%, на 28,8% ($P < 0,05$) и на 33,1% ($P < 0,01$) меньше, чем у телят-гипотрофиков со средней, низкой степенью недоразвития и телят-нормотрофиков. В данных группах животных толщина слизистой оболочки в области складок варьирует от 1697,2 мкм до 2877,5 мкм.

Слизистая оболочка стенки тощей кишки имеет пальцевидные вытягивания – ворсинки, представляющие собой микроорганные структурные образования, имеющие собственное кровоснабжение, иннервацию и сократимый мышечный аппарат, а также между ворсинками имеются трубчатые углубления – крипты, представляющие простые трубчатые неразветвленные железы.

Наши исследования показали, что у телят на новорожденном этапе развития кишечные ворсинки тощей кишки подвергаются деструкции и дегенерации, особенно интенсивно на 1-5 сутки с отторжением и разрушением эпителиальной выстилки вершины ворсинок с образованием «эпителиальных шнуров». Происходит постепенное образование полости на вершине ворсинки с последующим ее отслоением от рыхлой соединительнотканной основы, таким образом, идет экструзия целого эпителиального пласта. Нами также установлено образование новых ворсинок. От основания или боковых поверхностей ворсинок сначала образуются выпячивания, а затем эпителиально-соединительнотканые выросты, из которых образуются новые кишечные ворсинки. У телят-гипотрофиков в эпителии верхушек и крипт слизистой оболочки тощей кишки отмечали отторжение и разрушение либо эпители-

альные клетки на верхушках ворсинок были резко увеличены, пузырьковоидной формы с ячеистой протоплазмой.

Таблица – Морфометрия стенки тощей кишки и ее оболочек телят с разной степенью физиологической зрелости при рождении

Показатель	Степень физиологической зрелости			
	нормотрофики (n=4)	низкая (n=5)	средняя (n=5)	высокая (n=5)
Толщина КС вне складок, мкм	2006,7±89,6*	1807,2±106,6	1729,7±136,6	1577,4±132,3
Толщина КС стенки в области складок, мкм	3559,9±115,3**	3301,2±151,2*	2963,4±168,1	2743,1±145,8
Толщина СО вне складок, мкм	1299,1±87,8**	1221,6±102,5*	1039,9±80,5	869,7±71,9
Толщина СО в области складок, мкм	2877,5±140,2***	2079,9±139,9	1863,4±117,1	1697,2±129,4
Толщина МО, мкм	679,3±49,9**	571,4±49,2	499,1±37,8	441,2±32,1
Толщина внутреннего мышечного слоя, мкм	352,5±19,8**	329,3±15,7	257,4±20,2	263,8±19,2
Толщина наружного мышечного слоя, мкм	256,3±9,5	234,1±10,9	180,9±9,7	176,7±6,9
Толщина серозной оболочки, мкм	219,3±8,4*	197,4±9,9	183,1±11,3	174,7±10,2
Высота ворсинок, мкм	770,1±13,8***	653,2±17,4**	603,6±12,5***	487,5±23,6
Ширина ворсинок, мкм	93,5±3,9**	81,6±4,1	84,2±4,5	74,8±3,7
Глубина крипт, мкм	269,5±41,8	287,5±52,8	282,4±39,1	232,8±57,6
Ширина крипт, мкм	60,3±9,1	63,2±7,3	61,8±6,7	56,3±6,1

Примечание: КС – кишечная стенка; СО – слизистая оболочка; МО – мышечная оболочка; *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 – по отношению к высокой степени антенатального недоразвития.

Ворсинки тощей кишки имеют листовидную форму, покрыты однослойным эпителием. Между складками они выше и тоньше, чем в области складок. Боковые поверхности ворсинок бугристые, что обусловлено многорядностью строения как в основании ворсинки, так и в этих углублениях. Ворсинки телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития соединены между собой клетками мезенхимы. Эпителий ворсинок по характеру разнообразный по всей длине ворсинки, на верхушке и в средней части отсутствует его дефинитивная дифференциация, а в нижней части эпителий чаще двурядный. В толще ворсинок выявлены капилляры, их диаметр варьирует от 5,29±1,01 мкм до 6,97±1,68 мкм.

Наибольшая высота ворсинок выявлена у телят-нормотрофиков и составляет 770,1±13,8 мкм, а наименьшая у телят-гипотрофиков с вы-

сокой степенью недоразвития и составляет $487,5 \pm 23,6$ мкм. Ширина колеблется от 74,8 мкм до 93,5 мкм. Количество ворсинок на 550 мкм длины слизистой оболочки, колеблется в зависимости от степени недоразвития от 4,6 до 6,5.

Количество крипт на 550 мкм длины в зависимости от степени недоразвития колеблется, у телят-нормотрофиков 11,2, а телят-гипотрофиков 8,3-10,2. Глубина крипт у телят-нормотрофиков составляет $269,5 \pm 41,8$ мкм, что больше чем у телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития на 4,5% и меньше чем у телят-гипотрофиков со средней степенью недоразвития на 13,6%. У телят-нормотрофиков ширина крипт составляет $60,3 \pm 9,1$ мкм, а у телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития $56,3 \pm 6,1$ мкм. В области кишечных складок она становится меньше, лежат крипты компактнее, количество их на площади подсчета больше, чем между складками.

Таким образом, у телят-гипотрофиков отмечается тенденция к увеличению глубины и ширины крипт. Коэффициент соотношения ворсинка : крипта у телят-гипотрофиков в зависимости от степени недоразвития варьирует от 2,1 до 2,3. У телят-нормотрофиков он составляет 2,8. Уменьшение соотношения ворсинок и крипт указывает на более низкую скорость миграции энтероцитов и уровень их дифференцировки, следовательно, нарушение процессов регенерации и резкое удлинение крипт, особенно их регенеративных зон, это может привести к атрофии слизистой оболочки тощей кишки.

Толщина мышечной оболочки у телят-гипотрофиков с высокой степенью недоразвития составляет $441,2 \pm 32,1$ мкм, что на 11,6%, 22,8% и 35,1% ($P < 0,05$) меньше чем у телят-гипотрофиков со средней, низкой степенью недоразвития и телят-нормотрофиков. Мышечная оболочка тонкого кишечника состоит из двух слоев. Внутренний слой мышечной оболочки значительно толще наружного. Внутренний мышечный слой превышает наружный у животных всех четырех групп на – 27,3%, 28,9%, 29,7% и 33,1% соответственно.

Толщина серозной оболочки у телят-гипотрофиков составляет $174,7 \pm 10,2$ мкм, что 4,6%, 11,7% и 20,3% меньше, чем у телят-гипотрофиков со средней, низкой степенью антенатального недоразвития и телят-нормотрофиков.

Закключение. Таким образом, в тканевых компонентах стенки тощей кишки отмечаются морфофункциональные изменения, связанные с перестройкой ее организации – как морфологической, так и функциональной. Степень развития цитологических структур, таких как ворсинки, крипты и эпителиальный слой, в целом зависит от степени физиологической зрелости при рождении. Морфологическая не-

завершенность дифференциации тканевых компонентов стенки тощей кишки новорожденных телят ведет к нарушению ряда важнейших функции кишечника (защитная, иммунная, всасывательная) и характеризуются функциональной недостаточностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимов, В.И. Структурно-функциональное становление желудка и кишечника поросят в постнатальном онтогенезе при разных условиях содержания : автореф. дис. ... канд. биол. наук: 16.00.02 / В.И. Ефимов; Казан. гос. акад. вет. медицины им. Н.Э.Баумана. – Казань, 2001. - 16 с.
2. Романова, Т.А. Морфология и гистохимия энтероцитов тонкой кишки у плодов и новорожденных телят : автореф. дис. ... канд. биол. наук: 16.00.02 / Т.А. Романова; Мордов. гос. ун-т им. Н.П. Огарева. – Саранск, 1999. - 19 с.
3. Столяров, В.А. Закономерности развития тканей тонкой кишки у плодов и телят черно-пестрой породы : автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.02 / В.А. Столяров; Казан. гос. акад. вет. Медицины. – Казань, 2001. - 38 с.
4. Михайлевская, Е.О. Развитие тонкой кишки на этапе новорожденности у телят костромской породы и лосят : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.02.01 / Е.О. Михайлевская; Мордов. гос. ун-т им. Н. П. Огарева. – Саранск, 2012. - 18 с.
5. Романова, Т.А. Закономерности развития стенки тонкой кишки и ее эпителиальной ткани крупного рогатого скота в онтогенезе : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 06.02.01 /Т.А. Романова; Мордов. гос. ун-т им. Н. П. Огарева. – Саранск, 2010. - 44 с.
6. Афанасьев, А.И. Постнатальная адаптация физиологически незрелых телят после введения Оксиметилурацила /А.И. Афанасьева, К.Н. Лотц, С.П. Катаманов, Т.Г. Толстикова // Вестник РАСХН, 2010; № 5. – С. 67-69.
7. Гаврилова, В.А. Развитие стенки тонкого отдела кишечника и его составляющих двенадцатиперстной, тощей, подвздошной кишок и их оболочек у поросят от рождения до 60 суток / В.А. Гаврилова, В.А. Столяров, Т.М. Басова // Ученые зап. Казан. гос. акад. ветеринар. медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань, 2010; Т. 201. – С. 191-196.
8. Гагарина, М.Н. Морфологическое состояние лимфоидного аппарата двенадцатиперстной кишки телят при введении в рацион пробиотика "Бацелл" /М.Н. Гагарина, Л.И. Дроздова // Соврем. проблемы патол. анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных / Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. – Москва, 2011. – С. 120-122.
9. Гнездилова, Л.А. Применение лигфола при лечении телят с патологией желудочно-кишечного тракта, полученных от импортированных в Россию коров /Л.А. Гнездилова, А.К. Петров // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц / Урал. науч.-исслед. ветеринар. ин-т. Екатеринбург, 2010; Вып. 3. – С. 315-318.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ ЗАЩИТНЫМИ
СВОЙСТВАМИ И ВЕЛИЧИНОЙ ТИТРА АНТИТЕЛ
ПРИ ИММУНИЗАЦИИ МЫШЕЙ РАЗЛИЧНЫМИ ФРАКЦИЯМИ
АНТИГЕНА *BORDETELLA BRONCHISEPTICA***

А.Ю. Финогенов, Е.Г. Финогенова, М.М. Мистейко

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

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. В статье приведено сравнение результатов опыта по определению защитного действия различных фракций антигена *Bordetella bronchiseptica* и величины титра антител у мышей после иммунизации данным антигеном. Определено, что наличие у мышей защитных титров антител не менее чем 1:16 обеспечивает защиту мыши от заражения этим антигеном.

Summary. The article compares the results of the experiment to determine the protective effect of different fractions of *Bordetella bronchiseptica* antigen and antibody titer values in mice following immunization with this antigen. It was determined that the presence of the mouse protective antibodies galleries least 1:16 protects mice from infection with this antigen.

Введение. Использование вакцинных препаратов давно стало основой специфической профилактики большинства инфекционных заболеваний, в том числе и бордетеллиоза свиней. Бордетеллиоз (инфекционный атрофический ринит) свиней относится к довольно «молодым» заболеваниям. Впервые болезнь описана в 1829 г. Франком в Германии. Болезнь причиняет значительный ущерб свиноводству. Летальность колеблется в пределах 7-10%, но главный ущерб состоит в снижении привесов больных поросят на 30-40%, перерасходе кормов на их доразивание, недополучение товарной свинины [5].

Бордетеллиоз в настоящее время зарегистрирован во многих странах мира. Среди них такие страны как ФРГ, Англия, Польша, Франция, Россия, Украина и др. [7].

Поскольку данное заболевание является довольно молодым, то и разработкой методов специфической профилактики этого заболевания занялись сравнительно недавно.

К настоящему моменту во многих странах мира продолжают поиски новых средств специфической профилактики бордетеллезной инфекции [8, 9].

В Республики Беларусь также ведется работа по разработки эффективных средств специфической профилактики бордетеллиоза свиней и отработки мер борьбы с этим заболеванием [3, 4, 6].

При разработке вакцинного препарата необходима отработка методов контроля иммуногенности вакцины. Ранее наиболее распространенным методом оценки иммуногенности вакцинных препаратов являлось прямое заражение лабораторных животных (чаще мышей) предварительно иммунизированных испытуемой вакциной. Данный метод имеет ряд отрицательных моментов, а именно: длительность и трудоемкость опыта и низкая степень корреляции результатов при повторях. При этом методе на процент гибели животных влияют многие факторы: применяемая среда и условия культивирования, время инкубации и др. Поэтому в последнее время все чаще в качестве метода контроля иммуногенности вакцины стали использовать определение титра антител к антигенам, входящим в состав вакцины после иммунизации животных. Данный метод более простой и быстрый в применении и дает более стабильные результаты. Однако при определении величины титра антител у иммунизированных животных более правильным является первоначальное определение степени корреляции величины титра антител и защиты животного при прямом заражении применительно к данному антигену.

Цель работы – определение величины титра антител к антигену *Bordetella bronchiseptica*, которое обеспечивает защиту животного при прямом заражении этим антигеном. Кроме того, в данном опыте были проведены исследования не только цельноклеточного антигена, но и его отдельных фракций с разной молекулярной массой.

Материал и методика исследований. В работе был использован штамм *Bordetella bronchiseptica* КМИЭВ–В120, выделенный из легочной ткани поросенка, больного пневмонией и депонированный в коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Данный штамм культивировали на агаре Хоттингера при 37⁰С в течение суток. Смыв штамма с агара осуществляли забуференным физиологическим раствором (рН 7,2-7,4) с содержанием 0,5% раствора формалина.

Отмывку смыва от остатков питательной среды проводили центрифугированием при 6000 оборотов в минуту 30 минут. Полученный осадок бактериальных клеток разводили в забуференном физиологическом растворе (рН 7,2-7,4) с содержанием 0,5% раствора формалина, который вносили до первоначального объема. Инактивацию отмытого антигена проводили 0,5% раствором формалина при температуре 37⁰С на протяжении 72 часов. Контроль полноты инактивации осуществля-

ли путем посева антигена на МПА, МПБ, агар Сабуро и среду Кита-Тароцци. При отсутствии роста инактивацию считали полной.

Ультразвуковое разрушение клеток для получения фракций антигена проводили при частоте 1-1,3 мГц. Для этого очищенный от питательной среды смыв антигена вносили в свинцовый стакан и подключали ультразвук. Двукратно повторяли следующий цикл: четыре раза проводили ультразвук по 10 минут и 5 минут перерыв.

Контроль полноты разрушения клеток проводили путем микроскопии мазка. При необходимости проводили повторный курс ультразвука. Ультразвуковое разрушение клеток прекращали, если в поле зрения микроскопа находилось более 90% разрушенных клеток.

Для осаждения разрушенных клеточных оболочек полученный дезинтегрat центрифугировали при 2500 об/мин 15 минут. В полученном надосадке измеряли концентрацию общего белка биуретовым методом на автоматическом биохимическом анализаторе Автолайзер.

Разделение фракций антигена проводили с использованием центрифужных фильтров для концентрации и разделения биологических растворов «Amicon Ultra» производства фирмы Millipore следующих размеров: 3 кДа, 10 кДа, 30 кДа, 50 кДа, 100 кДа. Для проведения фракционирования полученный клеточный дезинтегрat вносили в фильтр размером 100 кДа и проводили центрифугирование при 3000 об/мин 20 минут. После окончания центрифугирования объем антигена, который остался над фильтром переносили в стакан с подписью более 100 кДа и откладывали для дальнейших опытов, а тот объем, который профильтровался в центрифужный стакан, переносили в емкость с подписью менее 100 кДа и подвергали дальнейшему фильтрованию. Так проводили последовательное отделение фракций до последнего фильтра.

После последовательного отделения всех фракций был измерен полученный объем каждой фракции и определено содержание белка. Определение общего белка проводили на биохимическом анализаторе согласно инструкции к набору.

После получения различных фракций антигена был проведен опыт по определению защитных свойств как цельноклеточного антигена, так и отдельных его фракций.

Для проведения опыта было сформировано 6 групп мышей по 12 голов в каждой группе (5 групп опытных и 1 контрольная). Мышам первой опытной группы вводили цельноклеточный антиген, второй группы – фракцию антигена более 100 кДа, третьей – фракцию 50-100 кДа, четвертой группы фракцию 30-50 кДа, пятой группы – фракцию 10-30 кДа. Мыши 6 группы служили контролем. Антиген и его фрак-

ции всем мышам вводили внутримышечно в объеме 0,3 мл. Перед введением мышам полученные фракции антигена смешивали с адьювантом – гель гидроокиси алюминия. После проведения иммунизации мышей выдерживали 21 день для выработки у них иммунного ответа. В этот период за мышами вели ежедневное наблюдение.

Через 21 день после введения антигена от 6 мышей из каждой группы отбирали кровь для определения величины титра антител к *Bordetella bronchiseptica*. Титр антител у мышей определяли в реакции агглютинации.

Оставшимся 6 мышам из каждой группы вводили суточную культуру *Bordetella bronchiseptica* в концентрации 2 ЛД₅₀. Величину ЛД₅₀ определяли в отдельном опыте по общепринятой методике. Расчет ЛД₅₀ проводили методом Кербера в модификации Ашмарина [1,2] по формуле: $ЛД_{50} = -\lg D_n - d(\sum l_i - 0,5)$, где D_n - доза, дающая максимальный эффект; l_i - отношение числа животных, погибших при заражении данной дозой, к общему числу зараженных этой дозой; i - номер дозы (минимальную дозу принимают за первую); d - логарифм кратности разведения.

Суточную культуру вводили внутрибрюшинно в дозе 0,4 мл. После заражения за мышами вели наблюдение на протяжении 10 суток. Учитывали гибель мышей в каждой из групп. По итогам опыта определяли процент выживших мышей в каждой из групп, по которому судили о протективных свойствах каждой фракции антигена *Bordetella bronchiseptica*.

После проведения опыта сравнивали величину титра антител у иммунизированных мышей и процент выживших животных после иммунизации каждой фракцией антигена.

Результаты исследований и их обсуждение. После проведения фракционирования антигена *Bordetella bronchiseptica* было получено 4 фракции антигена с различной молекулярной массой (таблица 1).

Таблица 1 – Объем и содержание общего белка в разных фракциях *Bordetella bronchiseptica*.

Название фракции	Объем, мл	Содержание общего белка, г/л
Фракция более 100 кДа	10	5,35
Фракция 50-100 кДа	7	5,38
Фракция 30-50 кДа	5	0,8
Фракция 10-30 кДа	3	1,07

Последние 2 фракции с использованием центрифужного фильтра на 3 кДа не получились в виду того, что после отделения фракции на фильтре 10 кДа не отделилась фракция менее 10 кДа.

При определении величины титра антител у иммунизированных мышей были получены результаты, представленные в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты опыта по определению титра антител

№ мыши	Опытные группы					Контрольная 6
	1	2	3	4	5	
	Фракция антигена, кДа					
	Цельно-клеточный	Более 100	50-100	30-50	10-30	
	Титр антител					
1	1:64	1:32	1:32	0	0	0
2	1:64	1:32	1:8	0	0	0
3	1:64	1:32	1:16	0	0	0
4	1:64	1:32	1:32	0	0	0
5	1:64	1:32	1:8	0	0	0
6	1:128	1:64	1:16	0	0	0
среднее	1:74,7	1:37,3	1:18,6	0	0	0
+/-	10,67	5,3	4,4	0	0	0

Как видно из приведенной таблицы, наиболее высокий титр антител получен в 1 группе мышей, которым вводился цельноклеточный антиген и составил $1:74,7 \pm 10,67$. Также высокий титр антител был получен во второй группе мышей, которым вводилась фракция антигена более 100 кДа, и составил $1:37,3 \pm 5,3$, что в 2 раза ниже, чем в первой группе, но данный титр антител также является защитным. В 3 группе мышей, которым вводилась фракция антигена 50-100 кДа, титр антител был еще ниже и составил $1:18,6 \pm 4,4$, что в 2 раза ниже, чем во 2 группе. В данной группе у 4 животных из 6 также отмечен защитный титр антител. В 4 и 5 опытной и 6 контрольной группах в сыворотке крови антител к *Bordetella bronchiseptica* не обнаружено. Это говорит о том, что фракции антигена 30-50 кДа и 10-30 кДа являются неиммуногенными.

Результаты опыта по определению протективных свойств различных фракций *Bordetella bronchiseptica* представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты опыта по определению протективных свойств различных фракций штамма *Bordetella bronchiseptica*

№ группы	Фракция	Количество животных	Пало, гол	Выжило, гол
1	Цельноклеточный	6	0	6
2	более 100 кДа	6	0	6
3	50-100 кДа	6	0	6
4	30-50 кДа	6	6	0
5	10-30 кДа	6	6	0
6	контроль	6	6	0

Как видно из приведенной таблицы, в первых трех опытных группах мышей, которых иммунизировали цельноклеточным антигеном и фракциями более 100 кДа и 50-100 кДа, все животные остались живы, т.е. цельноклеточный антиген и данные фракции антигена обладают дос-

таточными протективными свойствами. В группах мышей, которых иммунизировали фракциями 30-50 кДа и 10-30 кДа, наблюдалась гибель всех мышей, т.е. данные фракции не обладают защитным действием. В контрольной группе также наблюдалась гибель всех мышей.

Таким образом, анализируя данные по величине титра антител и количеству выживших мышей хорошо заметна корреляция. Так, в первых 3 группах мышей, которых иммунизировали цельноклеточным антигеном и фракциями антигена более 100 кДа и 50-100 кДа, у мышей отмечался титр антител в пределах от 1:8 до 1:128. Также в этих группах после заражения культурой *Bordetella bronchiseptica* все мыши были живы. В 4 и 5 опытных группах антител к *Bordetella bronchiseptica* обнаружено не было и в этих же группах отмечена гибель всех мышей при введении им культуры *Bordetella bronchiseptica*. Это говорит о том, что наличие титра антител к антигену *Bordetella bronchiseptica* свидетельствует о защите животного от этого заболевания.

Заключение. Результаты опыта по сравнению величины титра антител после иммунизации мышей различными фракциями антигена *Bordetella bronchiseptica* и проценту выживших иммунизированных мышей после заражения их культурой *Bordetella bronchiseptica* свидетельствуют о том, что наличие в организме мышей антител к *Bordetella bronchiseptica* в титре от 1:8 обеспечивает наличие стойкого иммунитета при инфицировании их данной культурой. Поэтому определение титра антител является вполне информативным методом при оценке иммуногенных свойств вакцины против бордетеллеоза свиней. В конструировании вакцин против бордетеллеоза свиней помимо цельноклеточного антигена *Bordetella bronchiseptica* оправданным является применение его фракций величиной более 100 кДа и 50-100 кДа, которые обеспечивают формирование напряженного иммунитета. Применение в составе вакцин отдельных фракций антигена будет способствовать снижению реактогенности вакцины и уменьшению антигенной нагрузки на организм свиней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин, И.П., Воробьев, А.А. Вычисление LD50 при малом числе подопытных животных // Журнал микробиологии. - 1959. - № 2. - С. 102-108;
2. Ашмарин, И.П., Воробьев, А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. - М.: Медгиз, 1962. - 125 с.
3. Бабина, М. П. Методические рекомендации по ветеринарно-санитарной экспертизе продуктов убоя свиней при бордетеллезной инфекции/М. П. Бабина, А. А. Вербицкий, С. С. Стомма ; рец. В. В. Максимович, В. С. Прудников. - 2008
4. Иммунологическая эффективность экспериментального образца вакцины против бордетеллезной инфекции свиней. / Андросик Н.Н., Толяронок Г.Е., Андросик Л.Д., Вербицкий А.А. / Проблемы патологии, санитарии и бесплодия в животноводстве: Материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения академиков ака-

демии наук Беларуси Х.С. Горегляда и М.К. Юсковца, г. Минск, 10-11 декабря 1998 г. - Мн., 1998. - С. 79-80.

5. Инфекционные болезни животных / Б. Ф. Бессарабов, А. А. Вась-И74 тин, Е. С. Воронин и др.; Под ред. А. А. Сидорчука. — М.: Колос, 2007. — 671 с.

6. Методические рекомендации по диагностике и мерам борьбы с бордетеллезом свиней/А. А. Вербицкий [и др.]; рец. В. В. Максимович, И. Н. Громов. - 2008

7. Ятусевич, А.И., Андросик, Н.Н. Малоизученные инфекционные и инвазионные болезни домашних животных. - Мн.: Ураджай, 2001. - 231 с.

8. Dugal, F., Girard, C., Jacoues, M. Adherence of Bordetella bronchiseptica 276 to uorcine trachea maintained in organ culture. // Applied and Environmental Microbiology. - 1990. - Vol. 56. - №6. - P. 1523-1529.

9. Kielstein, P., Schimmel, D., Desens, H. Zur Wirksamkeit und Einsatzkonzeption der Impfstoffe EP-Vac Bordetella und EP-Vac Pasteurella "Dessau". // Mh. Veter.-Med. - 1987. - Vol. 42. - №5. - P. 212-215.

УДК 636.2083:611.786

ВЛИЯНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НА КАЧЕСТВО КОПЫТЦЕВОГО РОГА У КОРОВ

Е.В. Ховайло, А.Л. Лях, В.А. Ховайло

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

(Поступила в редакцию 30.06.2013 г.)

Аннотация. Изучено гистологическое строение копытцевого рога и его биохимический состав у коров с язвой Рустергольца и пододерматитом при разных системах содержания. Выявлены закономерности содержания микроэлементов в копытцевом роге. Подтверждено положительное влияние двигательной активности коров на биохимический состав и морфологию копытцевого рога.

Summary. The histological structure and biochemical composition of the hoof horn of cows with Rusterholts ulcers and pododermatitis was studied in different housing systems. The regularities of the trace element content in the hoof horn were revealed. It has been stated that physical activity confirmed the effect on the biochemical composition and morphology of hoof horn.

Введение. В связи с интенсификацией животноводства в Республике Беларусь отмечается тенденция к росту числа заболеваний копытцев у крупного рогатого скота [3, 4]. Ортопедические болезни у коров наносят значительный экономический ущерб хозяйствам за счет снижения продуктивности (установлено, что при первых признаках деформации копытцев от каждой дойной коровы не получают 4% молока), выбраковки большого количества больных животных, причем чаще высокопродуктивных. Заболеваемость копытцев у коров в отдель-

ных хозяйствах доходит до 40-42,5% от общего поголовья, а при выраженной хромоте – от 20 до 50% [1].

Цель работы – изучить влияние двигательной активности коров при беспривязно-боксовом и привязно-стойловом содержаниях на морфологические показатели копытцевого рога.

Материалы и методика исследований. Работа проводилась в условиях хозяйств с круглогодичным беспривязно-боксовым и привязно-стойловым содержаниями коров, активный моцион коровам не предоставлялся. Лабораторные исследования проводились в лаборатории световой и электронной микроскопии УО «ВГАВМ».

В серии опытов нами было изучено распространение ортопедических болезней копытца у дойных коров черно-пестрой породы при беспривязно-боксовом и привязно-стойловом содержаниях, а также их двигательная активность, скорость рота и стирания копытцевого рога, морфологические и биохимические изменения в подошвенном роге, крови и кормов.

С целью изучения распространения патологий копытца была проведена ортопедическая диспансеризация, по результатам которой для каждого содержания были сформированы три группы коров для беспривязно-боксовой и три группы коров для привязно-стойловой системы содержания, по 10 животных в каждой группе: группа 1 – здоровые, группа 2 – коровы с язвой Рустергольца (ЯР), группа 3 – коровы с асептическим пододерматитом (ПД). Порода, возраст, живая масса, удой, период лактации у животных всех групп были одинаковые.

Для определения двигательной активности использовали шагомер. Прибор закрепляли на грудной конечности, на середине предплечья с медиальной стороны с помощью эластичного бинта. Шагомер находился на животном в течение суток. Учет показаний проводили в количестве шагов, а также рассчитывали среднее количество шагов в час в дневное время (с 7.00 до 19.00), т.к. при привязно-стойловом содержании именно в это время проходили основные технологические процессы (доение, раздача кормов, зооветеринарные мероприятия). Длина шага коровы в среднем составляла 0,5 метра, исходя из этого, проводили пересчет шагов в условный километр.

Для гистологического исследования проводили отбор проб копытцевого рога в области подошвы у здоровых животных и на границе патологического процесса и здоровых тканей – у больных коров. Гистосрезы готовили на криотоме фирмы Microm. Микроскопию приводили на микроскопе OLIMPUS BX 51. Обработку полученных изображений проводили с помощью программ Image Scope M и cellSens Standard. При этом учитывали плотность размещения трубочек подош-

венного рога (расстояние между рядами трубочек и расстояние между трубочками в ряду), а также диаметр трубочек, площадь коры, общую и выкрошенную площадь ядра.

Анализ рациона и биохимическое исследование кормов проводили в НИИ ПВМ и Б УО «ВГАВМ».

Для биохимического исследования отбирали парные пробы крови из яремной вены с соблюдением всех правил асептики и антисептики. Для получения плазмы, кровь стабилизировали гепарином (2,0 – 2,5 ЕД/мл). В отобранных пробах крови определяли содержание кальция, фосфора, кобальта, магния, марганца, цинка, молочной кислоты. Исследование проводили на аппарате EUROlyser с использованием диагностических наборов.

Для биохимического исследования отбирали пробы копытцевого рога в виде стружки в области подошвы у здоровых и в области патологического процесса – у больных коров. Для определения золы использовали метод сухого озоления в муфельной печи. Для этого навеску копытцевого рога массой не более двух грамм помещали в тигли и сжигали при температуре 525 °С в течение 3 часов в муфельной печи. Содержание кальция определяли методом титрования. Количество фосфора и магния определяли фотометрическим методом, с применением аппарата КФК – 3 – 01. Содержание микроэлементов (кобальта, меди, марганца, цинка) определяли атомно-абсорбционным методом. Количество первоначальной влаги определяли методом высушивания в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 3 часов. Для определения гигроскопической влаги, пробы копытцевого рога высушивали в сушильном шкафу при температуре 65 °С до получения постоянной массы навески.

Цифровой материал статистически обработан в программах Microsoft Excel 2010, StatBiom 2720.

Результаты исследований и их обсуждение. С целью изучения распространения ортопедических болезней у крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах с беспривязно-боксовым содержанием нами было клинически обследовано 681 корова, а при привязно-стойловом содержании – 649.

При привязно-стойловой системе количество ортопедических патологий составило 11,6% (75 коров) от общего поголовья подвергнутого ортопедической диспансеризации, при этом наиболее часто регистрировали ЯР (54,7%) и ПД (25,3%). При круглогодичном беспривязно-боксовом содержании количество ортопедических патологий составило 9,3% (63 коровы), а наибольшее распространение получили также ЯР (44,4%) и ПД (12,7%).

В хозяйствах, где ортопедическая диспансеризация с последующей расчисткой копытцевого рога проводится регулярно, 2 раза в год при беспривязно-бوكсовом содержании из 440 обследованных коров было выявлено только 8 с ортопедическими болезнями, что составило менее 2% от обследованного поголовья; при привязно-стойловом содержании из 346 обследованных коров было выявлено 18 коров, или 5%. А в хозяйствах, где ортопедическая диспансеризация и расчистка копытцевого рога проходит не регулярно, или не проводится вовсе, этот показатель доходит до 29% – при беспривязно-боксовом содержании и до 19% – при привязно-стойловом содержании.

При беспривязно-боксовом содержании двигательная активность коров составляет 7,8 км в сутки, что обеспечивает достаточно высокую скорость обновления копытцевого рога. Дефицит движения у здоровых коров составляет 2,5-3 км в сутки и обуславливает замедление стирания копытцевого рога на 1,8 мм в месяц, по сравнению с коровами пастбищного содержания, но практически не влияет на скорость роста рога. При привязно-стойловом содержании здоровые коровы за сутки проходят 1,75 км в сутки, а дефицит двигательной активности по сравнению с коровами пастбищного содержания составляет 8,6 км. При этом значительно снижается обновление копытцевого рога за счет уменьшения его скорости роста (на 11,1 мм/мес) и стирания – на 14,8 мм/мес, по сравнению с коровами пастбищного содержания.

Коровы с ЯР проходят 5,1 км в сутки при беспривязно-боксовом содержании и 1,2 км – при привязно-стойловом. Коровы с ПД проходят 3,6 км и 0,8 км в сутки при беспривязно-боксовом и привязно-стойловом содержании соответственно. При ПД у коров при обеих системах содержания уровень двигательной активности и скорости роста и стирания копытцевого рога ниже, чем при ЯР, что указывает на тяжесть течения болезни. При беспривязно-боксовом содержании больные коровы передвигаются довольно много, в результате необходимости, связанной с технологией содержания, при этом скорость роста и стирания копытцевого рога на комбинированных (резина-бетон) полах у них выше, чем у коров привязно-стойлового содержания с содержанием на полах с резиновым покрытием. В результате визуального наблюдения было отмечено, что коровы с ЯР при привязно-стойловом содержании не «ходят», а больше переступают на месте, меняя опорную конечность, а коровы с ПД – больше лежат, передвигаются неохотно, вставая лишь по необходимости.

Таким образом, привязно-стойловое содержание характеризуется наименьшей физиологичностью для коров и значительным дефицитом двигательной активности. Как следствие, копытцевой рог медленнее

обновляется, т.е. его замещение на новый, более прочный рог проходит в течение длительного времени, что снижает его качественные характеристики.

Учитывая, что структурной морфофункциональной единицей копытцевого рога подошвы является роговая трубочка, изменение ее морфологических параметров напрямую сопряжено с изменением прочностных характеристик данного рога [2].

У здоровых коров беспривязно-буксового и привязно-стойлового содержания копытцевой рог характеризуется наиболее плотным и правильным расположением рядов трубочек, расстояние между рядами трубочек и отдельными трубочками в ряду приблизительно равны. Трубочки копытцевого рога подошвы здоровых коров характеризуются самой большой толщиной коры и невыкрошенной части ядра. Плотность размещения трубочек самая высокая и на 50% и 75% больше, чем у коров с ЯР и ПД соответственно.

Причем у здоровых коров привязно-стойлового содержания расстояние между рядами трубочек на 5% меньше, а между трубочками в ряду на 4% больше, площадь коры на 5% меньше, площадь ядра на 13% меньше, чем у здоровых коров беспривязно-буксового содержания. Отношение площади коры к площади ядра трубочки подошвенного рога у коров с разными способами содержания практически одинаковое. Таким образом, у коров с более высокой двигательной активностью, т.е. при беспривязно-буксовом содержании, копытцевой рог прочнее.

У больных коров при беспривязно-стойловом и привязно-стойловом содержаниях отмечаются однотипные изменения морфологических показателей копытцевого рога подошвы по сравнению со здоровыми коровами.

У коров с ЯР трубочки копытцевого рога подошвы схожи с такими у здоровых коров, но меньшего размера, расположены реже, ядро трубочек выкрашивается сильнее, кора истончается. Причем у коров привязно-стойлового содержания отмечалось увеличение расстояния между рядами трубочек, уменьшение расстояния между трубочками в ряду (на 5%), уменьшением площади коры и ядра трубочки на 55% и 78%, по сравнению с коровами беспривязно-буксового содержания.

У коров с пододерматитом плотность расположения трубочек копытцевого рога подошвы самая низкая, они деформированы, крупные за счет большой площади выкрошенного ядра, очень тонкой коры (рис. 3.2.9). Поскольку ядро образовано деградирующими клетками, а кора истончена, то очевидна ярко выраженная стадия альтерации (разрушения) при ПД. У коров с ПД при привязно-стойловом содержании уве-

личивалось расстояние между рядами трубочек и между трубочками в ряду на 7% и 9%, выкрошенной площади ядра трубочки на 42%, уменьшение площади коры и ядра трубочек на 3% и 17%, по сравнению с коровами, больными ПД, беспривязно-боксового содержания.

У здоровых коров при обеих системах содержания дефицит в рационе кальция, фосфора, меди, магния приводит к недостатку этих элементов в крови. Низкая классность кормов приводит к увеличению содержания в крови мочевой и молочной кислот, что влечет за собой развитие ацидоза и, как следствие, нарушение минерального обмена. При этом у больных животных при обеих системах содержания уровень мочевой и молочных кислот в крови на 4-36% выше, чем у здоровых коров. У больных коров при беспривязно-боксовом и привязно-стойловом содержании в крови снижались: уровень кальция на 13-30%, фосфора на 5-12%, кальций-фосфорного соотношения на 7-26%, кобальта на 13-98%, меди на 4-16%, цинка на 11-14%, по сравнению со здоровыми коровами. Количество магния находилось в пределах нормы. Ухудшение биохимических показателей более выражено у коров с ПД и менее – у коров с ЯР. Мы считаем, что на динамику этих показателей решающее влияние оказывает двигательная активность, ввиду того что остальные параметры (рацион, удой, возраст, живая масса, период стельности и продолжительность лактации) были аналогичны, а также несмотря на то что уровень мочевой и молочных кислот был выше у коров беспривязно-боксового содержания.

Биохимические показатели копытцевого рога здоровых коров при беспривязно-боксовом содержании были несколько лучше, чем аналогичные показатели у коров привязно-стойлового содержания, несмотря на то что содержание мочевой и молочных кислот в их крови было выше. При обеих системах содержания биохимические показатели копытцевого рога здоровых коров существенно отличались от таковых у больных коров.

Так в копытцевом роге коров с ЯР при беспривязно-боксовом и привязно-стойловом содержании отмечали увеличение количества влаги, как первоначальной (на 9% и 2%), так и гигроскопической (на 10%), марганца (на 39% и 48%), цинка (на 16% и 11%), снижение количества золы, т.е. общего количества минеральных веществ (на 41% и 32%), фосфора (на 25% и 43%), кобальта (на 97% и 31%), магния (на 60% и 79%) по сравнению с группой здоровых коров. Количество меди в копытцевом роге коров беспривязно-боксового содержания увеличилось на 17%, а у коров привязно-стойлового содержания – снижалось на 19%.

При ПД в копытцевом роге коров при беспривязно-боксовом и привязно-стойловом содержаниях отмечена тенденция к увеличению количества влаги – как первоначальной (на 10% и 8%), так и гигроскопической (на 10%), снижению количества золы (на 66% и 40%), фосфора (на 25% и 43%), кобальта (на 98% и 38%), магния (на 95% и 57%) по сравнению с группой здоровых коров. Также необходимо отметить, что у 25% коров с ПД магния в копытцевом роге не обнаружено вовсе. Отмечено увеличение содержания марганца (на 36% и 48%), цинка (на 4% и 55) по сравнению со здоровыми коровами. Количество меди в копытцевом роге коров беспривязно-боксового содержания увеличивалось на 8%, а у коров привязно-стойлового содержания – снижалось на 33%. Кроме того, отмечено более выраженное ухудшение показателей влаги, золы, кальция, фосфора, кальций-фосфорного соотношения, марганца и меди при привязно-стойловом содержании.

Таким образом, очевидно, что ПД характеризуется явным ухудшением биохимических показателей копытцевого рога, сравнению с ЯР при обоих содержаниях, на что, вероятно, влияет увеличение содержания мочевой и молочных кислот в крови. На ухудшение биохимических показателей у больных коров оказывает влияние их низкая двигательная активность.

Заключение. Высокая двигательная активность коров, содержащихся беспривязно-боксовым способом, оказывает положительное влияние на биохимический состав копытцевого рога подошвы и его морфологическое строение по сравнению с коровами, содержащимися на привязи и ограниченными в движении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болезни рога – хлопот много / Э. Веремей [и др.] // Белорусское сельское хозяйство. – 2011. – №11. – С. 54-56.
2. Быстрова, И. Ю. Влияние хозяйственно-биологических признаков на биофизические свойства копытцевого рога коров / И.Ю. Быстрова // Зоотехния. – 2007. – №8. – С. 29-31.
3. Быстрова, И. Ю. Поражения копытцевого рога / И.Ю. Быстрова // Аграрная наука. – 2007. – №12. – С. 28-29.
4. Быстрова, И. А. Прочность копытцевого рога (Гистологические исследования трубчатого слоя копытцевого рога коров) / И. А. Быстрова // Молочное и мясное скотоводство. – 1995. – №5. – С. 40-41.
5. Веремей, Э. И. Распространение и профилактика заболеваний пальцев и копытцев у крупного рогатого скота / Э. И. Веремей, В. А. Журба // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2003. – №2. – С. 33-35.
6. Головня, С. В. Распространение гнойно-некротических заболеваний у крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь / С. В. Головня, В. М. Руколь // Материалы X Международной студенческой научной конференции / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет". – Гродно, 2009. – С. 106-107.
7. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь. Перспективы развития агропромышленного комплекса республики на 2011 – 2015 годы / Мини-

УДК 615.281.8:619:636.2.053(476)

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА И ПРОБИОТИКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕГО БЕЗВРЕДНОСТИ, СТЕРИЛЬНОСТИ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

И.В. Чуенко¹, П.А. Красочко²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

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

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. В данной статье описаны способы получения основных компонентов комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотика для профилактики и лечения острых респираторных заболеваний телят.

Summary. The article describes how to obtain the basic components of an integrated drug based on the recombinant interferon and probiotics for the prevention and treatment of acute respiratory disease of calves.

Введение. Интерфероновая система является естественной защитной системой организма. Ее основная роль – ингибирование репликации вирусов. Тем самым интерфероновая система противостоит вирусным инфекциям. Однако помимо противовирусной функции, интерфероновая система имеет и целый ряд других функций, таких как регуляторная, нейромодулирующая и др.

Назначение препаратов интерферонов в случае сниженной естественной продукции этого цитокина играет роль заместительной терапии, что может быть использовано как для профилактики, так и для лечения сезонных эпидемий острых респираторных вирусных инфекций вне зависимости от штамма вируса, вызвавшего эпидемию, что выгодно отличает препараты интерферонов от вакцин, которые эффективны только против конкретных штаммов.

В качестве средства профилактики острых респираторных инфекций интерфероны относятся к мерам экстренного применения. Если для того чтобы проявился эффект вакцинации или иммуномодуляторов

необходимо время, то препараты интерферонов могут быть использованы сразу же после контакта с больным ОРВИ или же при первых симптомах заболевания. Даже если появились первые симптомы ОРВИ, применение интерферонов позволяет избежать манифестации заболевания более чем в 80% случаев. [1]

Цель работы. На основании проведенных исследований наработан лабораторный образец комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотика.

Материалы и методика исследований. Для достижения поставленной цели исследования проводили в научно-исследовательской лаборатории РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского».

Источником бычьего рекомбинантного интерферона служила препаративная форма, изготовленная на предприятии ООО «Научно-производственный центр БелАгроГен. Для этого использованы бактерии *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL pIP2403, наследующие плазмиды pET24b(+), которые содержат ген бычьего лейкоцитарного α -интерферона. Их культивировали в LB-бульоне с 20 мкг/мл канамицина при 37 °C с перемешиванием (180 об/мин) до оптической плотности ОП 595=0,6-0,8, после чего в среду добавляли индуктор изопропил- β -D-тиогалактопиранозид (ИПТГ) до конечной концентрации 0,5 mM, культивировали еще 4 ч; осаждали 5 мин при 7000g. Клеточный осадок промывали в 15мM Na-фосфат, 1мM ЭДТА, pH 7,5, ресуспендировали в том же буфере. Клетки разрушали под давлением 17 атм. на проточном дезинтеграторе «EmulsiFlex-C5» (Avestin). Полученную массу центрифугировали 20 мин при 10000g и +4°C, отделяли супернатант от осадка телец включения. Осадок отмывали в том же буфере и растворяли в буфере следующего состава: 7M гуанидингидрохлорид, 20мM Na-фосфат, 1мM ЭДТА, pH 6,0 (в соотношении 1:10 к объему клеточной суспензии, взятой для осаждения). Инкубировали 2 ч при комнатной температуре при постоянном перемешивании. Добавляли сульфит натрия до 30 г/л. Смесь инкубировали 12 часов при комнатной температуре при интенсивном перемешивании. Белки обессоливали хроматографией на колонке объемом 220 мл с Sephadex G25 в буфере состава: 50 mM Na-фосфат, 1 mM ЭДТА, 100 mM NaCl, pH 6,0. Далее белок очищали гель-фильтрацией на колонке с Sephadex G50, уравновешенной тем же буфером. Концентрацию белка измеряли методом Брэдфорд, ДСН-ПААГ-электрофорез и Вестерн-блоттинг белков.

Учитывая полученные результаты нами в работе использованы продукты метаболизма бацилл – *Bacillus subtilis* КМИЭВ – 175. Культуру бацилл хранили в холодильнике при температуре 4±2°C в пробир-

ках с полужидкой агаризованной питательной средой. Для хранения бацилл и для получения инокулята (посевого материала) для пробиотического препарата использовали оптимизированную среду Мейнелла (г/л: меласса - 20; K_2HPO_4 - 7.0; KH_2PO_4 - 3.0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0.1; $(NH_4)_2 SO_4$ - 1.0; Na-цитрат $\times 3H_2O$ - 0,5; H_2O дист. - до 1 л, pH-7,0), в которой в качестве источников углерода использовали дешевый субстрат - мелассу (отход сахаропроизводства). Питательную среду разливали в стерильную посуду и стерилизовали при 0,75 атм 30 мин. Бациллы выращивали методом глубинного культивирования в полужидких питательных средах. Работу по пересеву бактерий проводили в специальном изолированном помещении – боксе, который предварительно облучали бактерицидными лампами в течение 1-2 часов. Получение посевных культур бацилл проводили в пробирках со стерильной оптимизированной средой Мейнелла. Инокулят культур вносили из расчета 5 об.%. Засеянные пробирки термостатировали при 37°C в течение 18 часов. Контроль чистоты посевого материала осуществляли высевом на среды МПА, Эндо, Сабуро.

Результаты исследований и их обсуждение. I генерация. Полученные посевные культуры вносили из пробирок из расчёта 5 об % в стерильные мерные колбы объёмом 100 мл и доливали стерильной оптимизированной средой Мейнелла до метки. Режим термостатирования и контроль чистоты культур здесь и далее такой же, как и на предыдущих этапах.

II генерация. Выращенный на предыдущем этапе посевной материал вносили из расчёта 5 об.% в стерильные мерные колбы объёмом 1000 мл и доливают предварительно проверенной на стерильность с оптимизированной средой Мейнелла.

Для получения пробиотического препарата компоненты питательной среды вносили в термостойкую нержавеющую посуду необходимой емкости и тщательно перемешивали при нагревании до полного растворения, после чего доводили pH с помощью 20% раствора Na_2CO_3 . Затем питательную среду разливали в стерильную посуду и стерилизовали при 0,75 атм. 30 мин. Питательную среду готовили в количестве 9 л. Стерильную среду разливали в боксе, в заранее простерилизованные при 1,5 атм. бутылки с пробками и затем передавливали в ферментер с соблюдением правил асептики. Потери при приготовлении питательной среды и ее стерилизации составили 1,0%.

Для выращивания бактерий использовали ферментёры, которые представляют собой вертикальные цилиндрические аппараты с полезным объемом 10 дм³, снабженные мешалкой, рубашкой, соединенные с термостатом для поддержания температуры культивирования и сте-

рильной подачей воздуха. Полученные инокуляты культур вносили в ферментер последовательно с соблюдением условий стерильности. Ферментацию бацилл проводили совместно в течение 20-24 час глутинным способом при температуре 35⁰С с аэрацией на оптимизированной среде Мейнелла.

Режим ферментации бактерий:

- температура культуральной жидкости 35⁰С;

- периодическое перемешивание и аэрации при 50 об./мин каждые 3 часа

- продолжительность процесса ферментации – 20 - 24 часа.

В конце ферментаций культуральные жидкости *B. subtilis* БИМ В-454 Д должны содержать активно делящиеся типичные клетки бацилл в количестве не менее 1х10⁸ КОЕ/мл, не должно содержаться посторонней микрофлоры.

После культивирования в ферментерах для удаления клеток микроорганизмов проводили двухстадийную фильтрацию культуральной жидкости, используя на первой стадии пористый многослойный керамический фильтр, на второй – фильтровальную установку типа «Миллипор», снабженную мембраной с размером пор 0,2 мкм, что позволяет осуществлять стерилизацию препарата. На каждом этапе технологического процесса контролировали чистоту бактериальной культуры, определяли титр живых клеток, активную (рН). Контроль чистоты посевного материала осуществляли высевом на полужидкую тиогликолевую среду.

Таким образом, на основании полученных результатов основными компонентами комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотиков для профилактики заболеваний органов дыхания вирусно-бактериальной этиологии у телят служили продукты метаболизма бацилл и рекомбинантный α-интерферон.

После изготовления проведены лабораторные испытания препарата с целью определения безвредности, стерильности, антибактериальной активности.

Безвредность опытного образца препарата определяли путем его подкожного введения 10-ти белым мышам массой 18-20 г в дозе по 0,2 мл каждого компонента.

В табл. 1 приведены результаты определения безвредности комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотика.

В результате наблюдения за животными в течение 10 дней все мыши были живы, признаков угнетения не отмечено. Полученные дан-

ные свидетельствуют, что биологические препараты являются безвредными для лабораторных животных.

Таблица 1 – Изучение безвредности комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотиков на мышах

Дни наблюдения		Состояние мышей
	Опыт	Контроль
До обработки	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы
Через 1 сутки	Мыши клинически здоровы, активны, на месте введения препарата припухлости и болезненности не установлено, активны, физиологические функции в норме, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, на месте введения препарата припухлости и болезненности не установлено, активны, физиологические функции в норме, гибели не отмечено
Через 2 суток	Мыши клинически здоровы, активны, на месте введения препарата припухлости и болезненности не установлено, активны, физиологические функции в норме, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, на месте введения препарата припухлости и болезненности не установлено, активны, физиологические функции в норме, гибели не отмечено
Через 3 суток	Мыши клинически здоровы, активны, на месте введения препарата припухлости и болезненности не установлено, активны, физиологические функции в норме, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, на месте введения препарата припухлости и болезненности не установлено, активны, физиологические функции в норме, гибели не отмечено
Через 4 суток	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено
Через 5 суток	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено
Через 6 суток	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено
Через 7 суток	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено
Через 8 суток	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено
Через 9 суток	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено
Через 10 суток	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено	Мыши клинически здоровы, активны, физиологические функции в пределах нормы, гибели не отмечено

Стерильность опытного образца препарата устанавливали путем посева вакцины на мясо-пептонный бульон (МПБ), мясо-пептонный агар (МПА), среду Сабуро и Китта-Тароцци в соответствии с ГОСТ 28085-89 «Препараты биологические. Методы бактериологического контроля стерильности».

Таблица 2 – Изучение стерильности наночастиц биоэлементов на мышах

Дни наблюдения	Состояния роста микрофлоры
Через 1 сутки	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 2 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 3 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 4 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 5 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 6 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 7 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 8 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 9 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено
Через 10 суток	Роста посторонней микрофлоры на МПБ, МПА, агаре Эндо и агаре Сабуро не отмечено

В результате наблюдения за посевами в течение 10 дней посевы были стерильными, что указывает на стерильность биологического препарата.

Для оценки антибактериального действия комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотиков на МПА засеивали различные условно-патогенные бактерии – *E.coli*, *Staph. Aureus*, *Salm. Dublin*, *Proteus mirabilis*, *Bac. subtilis*. После чего в агаре делали лунки диаметром 10 мм и в каждую лунку вносили препарат.

Показателем активности служила зона задержки роста тест-культур.

В табл. 3 приведены результаты изучения антибактериальной активности лабораторных образцов препаратов на основе наночастиц биоэлементов.

Проведенные результаты показывают, что лабораторный образец комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотика обладает высокой антибактериальной активностью.

Таблица 3 – Антибактериальная активность лабораторных образцов препаратов на основе наночастиц биоэлементов (мм зоны задержки роста)

Тест-культура	Зона задержки роста (мм)		
	Комплексный препарат	Интерферон	Пробиотик
E.coli	24	15	26
Staph. aureus	22	13	25
Salm. dublin	21	13	20
Proteus mirabilis	25	12	29
Bac.subtilis	25	12	30

Закключение. После изготовления лабораторного образца разработан лабораторный регламент по изготовлению комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотиков

В основу регламента положены следующие положения:

- требования к посуде, оборудованию и сырью для изготовления комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотиков

- методы подготовки лабораторной посуды для изготовления наночастиц серебра, серебра+меди и цинка;

- методы изготовления рекомбинантного интерферона;

- определение активности рекомбинантного интерферона;

- методы изготовления пробиотика;

- определение активности пробиотика;

- составление готовой формы препарата;

- подготовка комплексного препарата на основе рекомбинантного интерферона и пробиотиков для проведения лабораторных испытаний и использования для лабораторных животных.

Лабораторный регламент утвержден в установленном порядке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богомолов, С.В. Система интерферонов: современные представления о структуре, организации и роли в реализации иммунитета/ С.В.Богомолов // Инфекционные болезни: научно-практический журнал Российского общества инфекционистов. – Москва, 2009.- Т7.-№1.-49-53 с.
2. Глотова, Т.И. Противовирусное действие интерферона/ Т.И. Глотова, А.Г. Гловтов// Методическое пособие РАСХН. Сиб. Отд-ние ИЭВСиДВ.- Новосибирск, 2005.-24 .
3. Гуревич, Г. Профилактика сезонных острых респираторных вирусных инфекций// Г. Гуревич // Биомедицинский журнал.-2001-№ 10 – 42 с.
4. Захарова, И.Н. Значение системы интерферонов в формировании иммунного ответа у детей с острыми респираторными вирусными инфекциями/ И.Н.Захарова //Вопросы практической педиатрии.- Москва, 2009.- Т4.- №5- 38-45 с.
5. Кузнецов, В.П. Интерфероны в каскаде цитокинов: исторический и современный аспекты / В.П. Кузнецов // Антибиотики и химиотерапия. -1998.- Т. 43.- № 5. - 28-40 с.
6. Красочко, П.А. Интерферон: его структура, организация и роль в формировании иммунитета у животных (обзорная информация)/ П. А. Красочко, И.В. Чуенко // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы : сборник научных трудов / Министерство сельско-

го хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет". - Гродно : ГГАУ, 2012. - Т. 1: Ветеринария. - С. 426-436.

7. Красочко, П. А. Научные основы изучения этиологии, патогенеза и разработка мер борьбы с вирусными инфекциями молодняка крупного рогатого скота / П. А. Красочко, А. М. Ламан // Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария : международный научно-теоретический журнал. - 2006. - № 3. - С. 3-8.

8. Хитрова, А.Е. Новые препараты для специфической профилактики смешанных инфекционных болезней телят/ А. Е. Хитрова, Г. Л. Соболева, Т. И. Алипер // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2005. - № 1. - С. 23-24.

УДК 619:616.993.192.1:636.22/.28.0532:612.11:612.017

ОСОБЕННОСТИ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ ТЕЛЯТ

М.В. Якубовский, О.П. Пепеляева

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии

им. С. Н. Вышелесского,

г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 30.06.2013 г.)

Аннотация. В статье представлены данные по динамике гематологических и иммунологических показателей крови телят (эритроцитов, гемоглобина, качественного и количественного состава лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов) при криптоспоридиозной инвазии.

Summary. The article presents data on the dynamics of calf blood hematological and immunological parameters (RBC, hemoglobin, WBC, T- and B-lymphocytes) in case of cryptosporidiosis infestation.

Введение. Одними из опасных возбудителей типичного зооноза являются простейшие *Cryptosporidium parvum*, вызывающие криптоспоридиоз, который часто диагностируется в последние годы и наносит экономический ущерб животноводству [1, 3, 5, 6].

Криптоспоридиоз – протозойное зоонозное заболевание животных и человека, вызываемое кокцидиями семейства *Cryptosporidiidae* Leger, 1911; рода *Cryptosporidium* Tyzzer, 1910, характеризующееся поражением эпителия различных полостных органов – преимущественно кишечника и органов дыхания [5].

Криптоспоридии паразитируют в организме крупного рогатого скота, овец, коз, свиней, оленей, лошадей, кошек, мышевидных грызунов, морских свинок, птиц, рептилий, человека и др. Их ооцисты обнаружены даже в организме моллюсков. Криптоспоридии выявлены у 170 видов разных животных [4, 5, 6].

В последние годы значительно возрос удельный вес криптоспоридиаза (Т.В. Бейер, 1989; В.Ф. Никитин и I. Pavlasek, 1989; М.В. Якубовский и др., с 1988 до наст. вр.; И.И. Бочкарев 1996; С.Г. Нестерович, 2003; А.В. Мальцев, 2003; Е.Л. Дмитриева и др., 2008; А.Л. Кряжев, 2010; О.С. Мехова, 2012). Это вызвано трудностями профилактики и лечения данной патологии, связанными с непродолжительностью приобретаемого иммунитета, большой репродуктивной способностью паразита, его устойчивостью к терапевтическим средствам, недостаточным ассортиментом препаратов и способностью простейших постепенно адаптироваться к ним [2, 3, 5].

Сведения о криптоспоридиозе телят в отечественной литературе относятся к эпизоотологии, диагностике, терапии и профилактике этого заболевания (М.В. Якубовский, Т.Я. Мясцова, С.И. Лавор с 1991, Ю.Л. Бородин, 2008) [7].

Известно, что при протозоозах наблюдается снижение иммунитета, однако комплексных исследований по иммунитету при криптоспоридиозе у телят не проводилось, хотя это имеет большое теоретическое и практическое значение. Нет четких представлений о механизмах патогенеза криптоспоридий. Патоморфологические показатели и биохимические изменения в организме больных телят остаются малоизученными. К настоящему времени отсутствуют достаточно эффективные средства терапии и профилактики криптоспоридиаза.

Исходя из вышеизложенного, мы сочли, что криптоспоридиоз телят является актуальной проблемой, требующей глубоких исследований в направлении детализации симптомокомплекса, изучения биохимических и иммунологических изменений, происходящих в организме при криптоспоридиозе, а также выяснения механизма патогенеза при этой болезни, что является основой для лечения и профилактики криптоспоридиозной инвазии.

Цель работы – изучить особенности иммунитета, патогенеза и симптоматики криптоспоридиаза телят.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в одном из животноводческих хозяйств Минской области Республики Беларусь в зимне-весенний период. Объектом исследований служили телята 9-35-дневного возраста, спонтанно зараженные криптоспоридиями и свободные от данных паразитов. На основании копроскопических исследований методом нативного мазка с окраской по Циль-Нильсену (для определения интенсивности криптоспоридиозной инвазии) были сформированы по принципу условных аналогов 2 группы животных: 1-ая опытная – телята инвазированные криптоспоридиями, 2-ая контрольная – интактные телята.

Для изучения иммунного статуса телят при криптоспоридиозной инвазии от каждого теленка двух групп отбирали пробы крови на 1, 6, 13 и 20 день наблюдений. Параллельно проводили отбор и исследование проб фекалий, за животными вели клиническое наблюдение.

Определение в крови количества эритроцитов и лейкоцитов, уровня гемоглобина проводили с помощью гематологического анализатора Medonic CA-620.

Лейкоцитарную формулу выводили на основании подсчета 100 клеток в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, согласно рекомендациям А.А. Кудрявцева и Л.А. Кудрявцевой (1974). Определение Т (Е-РОК)- и В (ЭМ)-лимфоцитов проводили по методике Д.К. Новикова, В.И. Новиковой (1996).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью прикладных программ Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Интенсивность инвазии у опытных телят на протяжении наблюдений составляла $258,8 \pm 28,6 - 95,04 \pm 34,34$ тыс. ооцист криптоспоридий в 1 г фекалий. Первым выраженным симптомом болезни была водянистая диарея, которая свидетельствует о задержании воды в просвете кишечника. Температура тела животных оставалась в пределах физиологической нормы. С развитием патологического процесса наблюдали угнетенное состояние, прогрессирующее исхудание и обезвоживание организма, профузную диарею с прожилками крови. За весь период наблюдения пал 1 теленок.

При морфологическом и иммунологическом анализе венозной крови у подопытных телят был обнаружен ряд патофизиологических изменений исследуемых показателей.

Таблица 1 – Динамика гематологических показателей в крови телят, больных криптоспоридиозом, ($M \pm m, P$)

Группы телят	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобин, г/л
1-е взятие (возраст телят 9-15 дней)			
Больные криптоспоридиозом	$7,6 \pm 0,82$	$5,08 \pm 0,45$	$78 \pm 5,95$
Интактные	$7,84 \pm 0,82$	$4,94 \pm 0,42$	$80 \pm 4,99$
2-е взятие, 6-й день опыта (возраст телят 15-21 день)			
Больные криптоспоридиозом	$6,12 \pm 0,68$	$5,39 \pm 0,23^*$	$82,6 \pm 3,5$
Интактные	$5,25 \pm 0,19$	$4,43 \pm 0,18$	$77,8 \pm 3,01$
3-е взятие, 13-й день опыта (возраст телят 22-28 дней)			
Больные криптоспоридиозом	$7,8 \pm 1,2$	$5,4 \pm 0,43$	$84,8 \pm 5,76$
Интактные	$5,8 \pm 0,72$	$4,44 \pm 0,32$	$82 \pm 3,4$
4-е взятие, 20-й день опыта (возраст телят 29-35 дней)			
Больные криптоспоридиозом	$7,12 \pm 0,34$	$5,54 \pm 0,19^*$	$85,2 \pm 3,23$
Интактные	$5,8 \pm 0,75$	$4,37 \pm 0,3$	$83,8 \pm 3,8$

Примечание: * - $P < 0,05$

У телят инвазированных криптоспоридиями отмечалось постепенное увеличение количества эритроцитов и гемоглобина на протяжении всего периода исследования (таблица 1), что обусловлено сгущением крови из-за потери организмом воды.

Максимальное статистически достоверное увеличение количества эритроцитов было отмечено на 20-й день наблюдений, этот показатель был выше чем у интактных телят, на 26,8 % ($P<0,05$).

Лейкоциты играют важную роль в клеточном иммунитете. Одна из их основных функции – способность к фагоцитозу.

При проведении исследования по изучению динамики лейкоцитов (таблица 1) при криптоспоридиозе телят были выявлены колебания количества уровня лейкоцитов на протяжении всего опыта в пределах физиологической нормы для данного вида и возраста животного, эти показатели были статистически недостоверны. Однако следует отметить максимальное превышение данного показателя на 34,5% на 13 день исследования по сравнению с показателем интактных телят. Это можно объяснить как ответную реакцию на внедрившегося паразита и развитие иммунных и воспалительных процессов в организме.

Анализ лейкограммы крови показал выраженное повышение уровня эозинофилов у телят, больных криптоспоридиозом, на протяжении всего периода наблюдений, который достиг пика к 13 дню опыта, превысив уровень контроля в 3,44 раза ($P<0,001$) (таблица 2). Увеличение уровня эозинофилов в крови животных связано с паразитированием простейших и сенсибилизацией макроорганизма продуктами их жизнедеятельности, что и вызывает защитные реакции со стороны животного.

Таблица 2 – Лейкограмма крови телят, больных криптоспоридиозом, % ($M\pm m, P$)

Группы телят	Базо- филы	Эозинофи- лы	Нейтрофилы		Моно- циты	Лимфо- циты
			Палоч- кояд.	Сегмен- тояд.		
1	2	3	4	5	6	7
1-е взятие (возраст телят 10-16 дней)						
Больные крип- тоспоридиозом	-	2,8 $\pm$ 0,58*	10,2 $\pm$ 2,89	18,0 $\pm$ 2,51	4,2 $\pm$ 1,39	64,8 $\pm$ 5,51
Интактные телята	-	0,9 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 1,43	18,0 $\pm$ 2,34	3,8 $\pm$ 1,16	69,8 $\pm$ 3,54
2-е взятие, 6-й день опыта (возраст телят 15-21 день)						
Больные крип- тоспоридиозом	-	5,2 $\pm$ 1,07*	12,0 $\pm$ 1,70	18,8 $\pm$ 0,86	5,2 $\pm$ 1,07	58,8 $\pm$ 3,26
Интактные телята	-	1,6 $\pm$ 0,24	10,8 $\pm$ 0,97	16,6 $\pm$ 0,82	4,4 $\pm$ 0,98	66,6 $\pm$ 2,69

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7
3-е взятие, 13-й день опыта (возраст телят 22-28 дней)						
Больные криптоспоридиозом	-	6,2±0,73***	11,8±1,28**	17,6±1,75	4,4±1,03	60,0±2,77
Интактные телята	-	1,8±0,37	6,4±0,68	20,4±3,19	3,4±0,75	68,0±2,37
4-е взятие, 20-й день опыта (возраст телят 29-35 дней)						
Больные криптоспоридиозом	-	5,0±0,71**	12,4±1,03**	19,6±1,57	4,0±0,32	59,1±2,97**
Интактные телята	-	1,6±0,24	6,8±0,66	17,0±1,34	3,2±0,49	71,4±1,4

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

В лейкоцитарной формуле отмечалась нейтрофилия с регенеративным сдвигом ядра влево – процент палочкоядерных нейтрофилов увеличен и к 13 дню наблюдений составил 11,8±1,28%, что на 84,4% выше по отношению к интактным телятам ($P < 0,01$).

Количество лимфоцитов к 20-му дню после начала опыта у животных инвазированных криптоспоридиями было достоверно ниже на 17,4% по сравнению с показателями незараженных животных ($P < 0,01$). Следует отметить, что лимфопения при одновременном возрастании количества лейкоцитов указывает на снижение естественной резистентности организма и тяжелое течение болезни.

Динамики изменений уровней Т- и В-лимфоцитов в крови инвазированных криптоспоридиями телят представлены на рисунках 1 и 2.

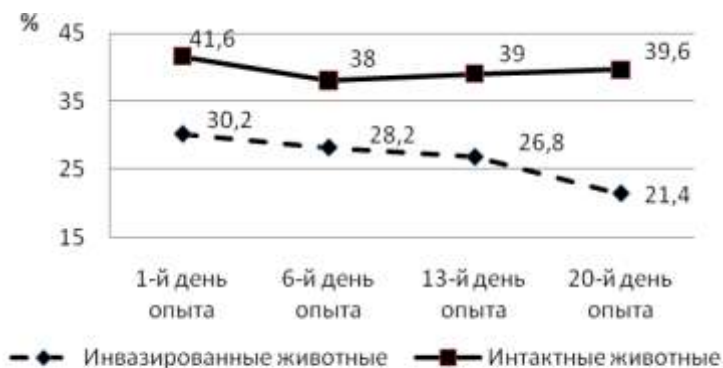


Рисунок 1. Динамика содержания Т (Е-РОК)-лимфоцитов крови инвазированных криптоспоридиями телят

Изучение динамики Т (Е-РОК)-лимфоцитов показало, что содержание их в крови телят, больных криптоспоридиозом, как в начале, так

и в конце исследования было ниже соответственно на 27,4 ($P<0,05$) и 46,0% ($P<0,001$), чем в крови интактных животных (рис. 1), в результате чего происходит ослабление иммунной защиты организма.

Исследование количества розеткообразующих В-клеток в динамике является важным моментом в оценке иммунологической реактивности организма животного, так как В-лимфоциты являются предшественниками антителосинтезирующих плазматических клеток, обеспечивающих гуморальные реакции иммунитета.

Количество В (ЭМ)-лимфоцитов в крови 9–15-дневных телят, свободных от криптоспоридий, и инвазированных данными паразитами, составляло $4,6\pm 1,08$ и $2,8\pm 0,97\%$ соответственно, что говорит о низком уровне пассивного иммунитета, приобретенного от матерей. С возрастом происходило значительное повышение уровня В (ЭМ)-лимфоцитов у всех исследуемых телят. Однако этот показатель был ниже у инвазированных животных по отношению к контрольной группе, и максимальное снижение отмечалось на 13 день наблюдений на 46,4% соответственно ($P<0,01$) (рис. 2).

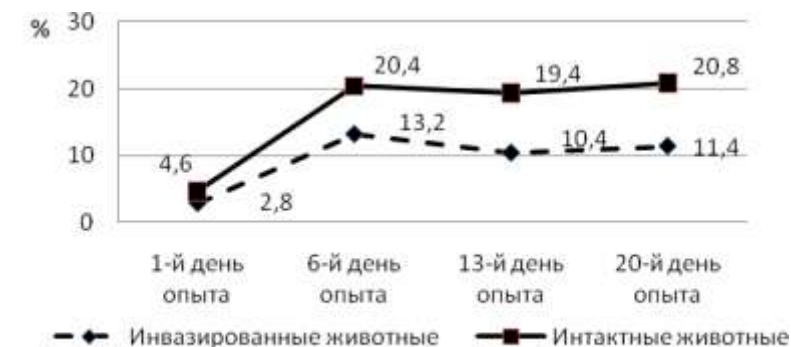


Рисунок 2. Динамика содержания В (ЭМ)-лимфоцитов крови инвазированных криптоспоридиями телят

Снижение уровня розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов в крови животных, инвазированных криптоспоридиями, приводит к снижению как клеточного, так и гуморального иммунитета.

Закключение. Симптоматический комплекс болезни при криптоспориidioзе с учетом гематологических и иммунологических изменений свидетельствовали о глубоком иммунодефицитном состоянии как общего признака патогенеза криптоспориdioзной инвазии, характеризующегося дисбалансом красных клеток крови, нейтрофилией с регенеративным

сдвигом ядра влево, выраженной эозинофилией и лимфопенией, снижением уровня розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Бейер, Т.В. Кишечный криптоспориديоз в раннем возрасте и его последствия / Т. В. Бейер, Н. В. Сидоренко, О. В. Анацкая // Медицинская паразитология и паразитарные болезни: кварталный научно-практический журнал. – 2006. – № 1. – С. 3–7.
2. Бочкарев, И.И. Взаимоотношения в системе паразит-хозяин при криптоспоридиозе / И.И. Бочкарев, Т.А. Шибалова // Тез. докл. III конгресса междунар. ассоциации морфологов. Морфология. – СПб., 1996. – №2. – С. 38–39.
3. Бородай, А.Б. Испытание бровитакокцида и настойки эхинацеи пурпурной при криптоспоридиозе телят / А.Б. Бородай, И.С. Дахно, В.Н. Самородова // С эхинацей в третье тысячелетие: материалы международной научной конференции, Полтава, 7-11 июля 2003 г. / ред. В. Н. Самородов [и др.]. – Полтава, 2003. – С. 233–238.
- 4.Кряжев, А. Л. Криптоспоридиоз телят в хозяйствах молочной специализации Северо-Запада России: автореферат дис. на соискание уч. ст. канд. вет. н. / А. Л. Кряжев; ФГОУ ВПО "Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина", Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И.Скрябина. – Москва, 2005. – 27 с.
- 5.Никитин, В.Ф. Криптоспоридиоз домашних животных: (возбудители, клиническая картина, эпизоотология, диагностика, профилактика и терапия) / В.Ф. Никитин; Всерос. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. – Москва: [б.и.], 2007. – 36 с.
- 6.Паразитарные зоонозы / М. В. Якубовский [и др.]; под. ред. М. В. Якубовского. – Минск: Наша Идея, 2012. – 384 с.
- 7.Якубовский, М.В. Распространение криптоспоридиоза животных в Белоруссии / М.В. Якубовский, Т.Я. Мясцова, С.И. Лавор // Ветеринарная наука - производству: Межведомственный сборник / Белорусский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 1991. – Вып.29. – С. 106–109.

УДК: 619:615.37:616.99:616.3:636.22/.28.053.2:612.11/12

ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЯХ ТЕЛЯТ И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ СОВРЕМЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

**М.В. Якубовский, Н.Ю. Щемелева, И.И. Кузьминский, С.И. Лавор,
О.П. Пепеляева**

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

(Поступила в редакцию 01.07. 2013 г.)

Аннотация. В статье приводятся данные об иммунобиохимических изменениях в организме крупного рогатого скота при паразитировании кишечных гельминтов и криптоспоридий, а также результаты применения иммуностимулирующих препаратов при паразитарных болезнях животных. Применение современных иммуностимулирующих препаратов позволило осуществить коррекцию иммунного ответа, тем самым снизить приживаемость паразитов.

Summary. *In the article data on immunobiochemical changes in the body of cattle with intestinal helminths' parasitizing and Cryptosporidium, as well as the results of immunostimulants in case of parasitic diseases of animals are described. The use of modern immunostimulator drugs allowed a correction of the immune response, thus reducing the survival of parasites.*

Введение Изучение эпизоотической ситуации по паразитозам крупного рогатого скота в последние годы показало, что имеет место значительное инвазирование животных нематодами желудочно-кишечного тракта, фасциолами, телязиями, эймериями, криптоспоридиями, чаще регистрируется диктиокаулез, балантидиоз, протостронгилидозы и другие паразитозы. В отдельных хозяйствах инвазированность желудочно-кишечными стронгилиями крупного рогатого скота, по данным наших исследований за 2011-2012 гг., достигает 72,2-90,0%, что приводит к значительным потерям продуктивности, ухудшению качества животноводческой продукции. Зараженность телят стронгилиями желудочно-кишечного тракта составляет 25,13%, в результате чего молодняк теряет в росте и развитии, чаще регистрируются расстройства со стороны работы желудочно-кишечного тракта, такие животные более восприимчивы к бактериальным и вирусным инфекциям. У молодняка крупного рогатого скота часто регистрируются стронгилоиды – 46,72%, трихоцефалы – 22,27%, эймерии – 46,72% и криптоспоридии – 9,57%.

Химиопрофилактика данных паразитозов на фоне снижения иммунной защиты не является достаточно эффективной. Требуется коррекция состояния иммунного статуса животного. За миллионы лет эволюции гельминты хорошо адаптировались к своим хозяевам, при этом паразиты различными путями избегают действия иммунного ответа хозяина для своего собственного развития и в большинстве случаев противодействуя ему. Для всех паразитарных инвазий характерна иммуносупрессия, и она касается как гуморального, так и клеточного ответа. Некоторые паразиты непосредственно вызывают разрушение лимфоидных клеток, однако в большинстве случаев подавление иммунного ответа происходит путем инактивации макрофагов и Т-клеток.

Тип защитной реакции организма-хозяина в свою очередь зависит от локализации гельминтов. Экспериментально установлено, что при паразитировании гельминтов в кишечнике слизистые покровы последнего формируют особый тип иммунного ответа, обеспечиваемый секреторным IgA, сенсibilизированными лимфоцитами (Т₂-клетки), которые секретируют комплекс цитокинов. Механизм изгнания гельминтов также включает дегрануляцию тучных клеток слизистой кишечника, вызванную продуктами активированных Т₂-клеток. Изменяя прони-

цаемость слизистой оболочки, медиаторы тучных клеток обеспечивают проникновение эозинофилов, комплимента и сывороточных антител в просвет кишечника, тем самым ускоряя изгнание гельминтов.

Механизм действия гуморальной защиты специфических антител при гельминтозах определяется видом инвазии и представлен реакцией антителозависимой клеточной цитотоксичности. Цитотоксические клетки, такие как макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы, прикрепляются к покрытым антителами гельминтам посредством Fc- и C₃-рецепторов и осуществляют экзоцитоз паразитов. Таким образом, важно определить, как изменяются иммунные реакции при внедрении паразитов, непосредственно приводящие к их выживанию в организме хозяина. Изучение иммунитета при паразитарных болезнях имеет практическое значение для научно обоснованного подхода к устранению патологических изменений в организме больного животного при помощи иммунокорректоров.

Особенностью иммуностимулирующих препаратов является их высокая биологическая активность, направленная на повышение иммунитета и обменных процессов у животных, в результате чего организм животного самостоятельно избавляется от паразитов и инфекционных агентов. Кроме этого, иммуностимуляторы не оказывают побочного действия, не накапливаются в органах и тканях животного, не вызывают привыкания со стороны паразитов и не загрязняют окружающую среду. Применять иммуностимуляторы можно как монопрепараты, так и в комплексе с биопрепаратами (вакцины) и химиотерапевтическими средствами, тем самым повышая их терапевтическую эффективность. Нередко при этом дозировка самого лекарственного препарата снижается, что способствует экономии значительных денежных средств.

Для профилактики паразитарных болезней применяют такие иммуностимулирующие препараты, как иммунопаразитан, левамизол, ронколейкин, тималин и многие другие. Не влияя непосредственно на гельминтов, эти препараты стимулируют в организме животных различные звенья иммунитета, что позволяет бороться с паразитами за счет естественных сил организма и длительно поддерживать невосприимчивость к инвазионным заболеваниям. Для иммуностимуляторов характерна избирательность их влияния на различные субпопуляции Т- и В-клеток и макрофаги, поэтому вполне обоснованно изучение дифференцированного применения их в терапии и профилактике гельминтозов.

Таким образом, **целью нашей работы** явилось исследование изменений иммунобиохимических показателей, характеризующих со-

стояние иммунной системы телят при инвазировании желудочно-кишечными гельминтами и криптоспоридиями и на фоне данных исследований применение эффективного иммуностимулятора.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в отделе паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и животноводческих хозяйствах Республики Беларусь.

Для оценки иммунологического статуса были подобраны телята в возрасте 1,5-3 месяца спонтанно инвазированные ассоциативными кишечными гельминтами (стронгилятами, стронгилоидами, трихоцефалами) и криптоспоридиями, в крови которых определяли количество лейкоцитов по общепринятой в гематологии методике, количество розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов – по методике Д.К. Новикова, В.И. Новиковой (1996), количество циркулирующих иммунных комплексов – по методу Ю.А. Гриневич и И.И. Алферова (1981), общий белок и белковые фракции – с помощью электрофоретической системы SEBIA. Лейкоцитарную формулу выводили на основании подсчета 200 клеток в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза согласно рекомендациям А.А. Кудрявцева, Л.А. Кудрявцевой (1974). Из биохимических показателей исследовали активность аспаратаминотрансферазы (АсАт), аланинаминотрансферазы (АлАт), щелочной фосфатазы (ЩФ) и уровень макроэлементов (Са, Р) на биохимическом анализаторе «CORMAY LUMEN».

В качестве иммунокоректора телятам применяли новый комплексный препарат – янсевит, обладающий иммуностимулирующими, пребиотическими, антиоксидантными и противопаразитарными свойствами, оказывающий стимулирующее влияние даже в малых дозах, имеющий длительное физиологическое последствие, безвредный при передозировках в связи с отсутствием побочных эффектов.

После обследования телят на наличие ассоциативных нематод желудочно-кишечного тракта методом Г.А. Котельникова–В.М. Хренова, 1974 и на криптоспоридиоз методом нативного мазка фекалий с окраской по Циль-Нильсену с последующей микроскопией формировали опытные и контрольные группы.

Опытной группе телят, которые были спонтанно инвазированы ассоциативными нематодами желудочно-кишечного тракта и криптоспоридиями применили янсевит в дозе 0,1 г/кг живой массы один раз в сутки пять дней подряд. Контрольной группе телят, спонтанно инвазированным данными паразитами, препарат не применяли, также была сформирована контрольная группа интактных телят.

Результаты исследования и их обсуждение. При ассоциативных паразитозах телят установлены изменения во всех звеньях клеточного и гуморального иммунитета: снижение уровня розеткообразующих Т- и В- лимфоцитов, лейкоцитоз с увеличением количества эозинофилов на 31,50% ($P<0,001$) и нейтрофилия за счет увеличения палочкоядерных нейтрофилов на 84,4 % ($P<0,01$). В течение всего периода наблюдений у телят, инвазированных ассоциативными паразитами, количество розеткообразующих Т-лимфоцитов находилось на достоверно более низком уровне, чем у интактных животных. В начале опыта эти показатели составляли $30,2 \pm 2,03\%$ и $41,6 \pm 3,83$ ($P<0,05$) соответственно, а к концу опыта уровень Т-лимфоцитов у инвазированных животных составил $21,4 \pm 2,89\%$, что было в 1,85 раза ниже, чем в крови интактных телят ($P<0,001$). Уровень В-(ЭМ)-лимфоцитов в крови инвазированных телят на протяжении всего периода наблюдений уступал контролю в 1,64-1,84 раза ($P<0,01$) Также было отмечено значительное снижение уровня альбуминов и белков системы комплимента, макроэлементов.

В наших экспериментах по применению иммуностимулятора янсеви́та, проведенных на телятах в возрасте 1,5-3 месяца, спонтанно инвазированных ассоциативными паразитами (стронгилятами, стронгилоидами, трихоцефалами, криптоспоридиями), выявлены существенные положительные сдвиги в Т- и В-системах иммунитета, иммунных комплексах, белковых фракциях, обусловленные действием янсеви́та. Установлено иммуногенное действие янсеви́та на гуморальное и клеточное звено иммунитета, которое сопровождается повышением количества розеткообразующих Т-лимфоцитов на 18,73% ($P<0,05$) и В-лимфоцитов – на 44,71% ($P<0,001$), снижением аллергизации организма животного – уменьшение количества эозинофилов в 3,31 раза ($P<0,001$) и снижение активности иммунных комплексов в 1,4 раза ($P<0,01$) по сравнению с инвазированными животными контрольной группы.

При изучении динамики белка и белковых фракций на фоне применения данного препарата было выявлено достоверное, по сравнению с инвазированным контролем, увеличение уровня общего белка в течение 14 дней после применения янсеви́та на 20,87% ($P<0,01$), повышение содержания β -глобулинов (комплемента C_3) на 43,11% ($P<0,001$) и γ -глобулинов (иммуноглобулины) на 27,86% ($P<0,01$), что является важным показателем стимулирования гуморального звена иммунитета, так как продукция антител обеспечивается кооперативным взаимодействием В-лимфоцитов при непосредственном участии C_3 комплемента.

Применение янсеви́та способствовало снижению уровня α_2 -глобулинов (церулоплазмин) на 37,66% ($P < 0,01$) по сравнению с контролем. Церулоплазмин называют «реактантом острой фазы». Содержание его в крови повышается при заболеваниях, протекающих с повреждением тканей. Снижение его уровня после применения янсеви́та указывает на восстановительные процессы и улучшение состояния животных.

Янсеви́т, содержащий в своем составе фумаровую кислоту и витамин Е, действует как пребиотик и гепатопротектор, нормализуя работу желудочно-кишечного тракта после воздействия на него паразитов: при этом уровень активности АсАт, АлАт, ЩФ в опытной группе снижается до физиологических показателей.

Установлено, что применение янсеви́та способствовало более быстрой нормализации уровня основных макроэлементов в сыворотке крови телят. Так, на 14-й день исследования соотношение кальция/фосфор в контрольной группе животных составляло 1,31, что свидетельствует о нарушении минерального обмена, а в опытной данный показатель составил 1,58. Содержание кальция и фосфора на 30-й день исследования находилось в опытной группе в пределах физиологической нормы, что положительно влияет на иммуногенез и на защитные силы организма, так как, обладая большой биологической активностью, кальций и фосфор играют существенную роль в процессах биосинтеза, роста и развития организма животного.

При исследовании влияния янсеви́та на уровень инвазированности телят кишечными гельминтами (стронгилятами, стронгилоидами и трихоцефалами) и криптоспоридиями, установлено, что через 7 дней после применения препарата эффективность при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта (гемонхи и кооперии) составила – 81,48%, при стронгилоидозе – 75,98%, при трихоцефалезе – 67,42%, при криптоспориidioзе – 66,70%.

В контрольной группе уровень заражения данными паразитами составлял: стронгилятами (гемонхи и кооперии) – 90,0%, стронгилоидами – 50,0%, трихоцефалами 65,0% и криптоспоридиями – 35,0%.

Заключение. Таким образом, применение янсеви́та крупному рогатому скоту в дозе 0,1г/кг живой массы с кормом один раз в сутки в течение пяти дней подряд способствует повышению количественных и функциональных показателей иммунитета, в особенности его гуморального звена, нормализует функцию желудочно-кишечного тракта, при этом его эффективность составляет при стронгилятозах (гемонхи и кооперии) – 81,48%, при стронгилоидозе – 75,98 %, при трихоцефалезе 67,42% и при криптоспориidioзе – 66,70%, что дает основание ре-

комендовать его для широкого применения в хозяйствах республики при паразитарных болезнях молодняка на фоне снижения иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммуитет и его коррекция в ветеринарной медицине / П.А. Красочко, М.В. Якубовский и др.; под общей ред. П.А. Красочко. – Смоленск, 2001. – 322 с.
2. Якубовский М.В. Современные проблемы иммунологии гельминтов / М.В. Якубовский, Г.Н. Чистенко, В.Н. Горталев и др. // Мед. обзор. – 1991. – С.121–127.
3. Озерецковская, Н.Н. Современные проблемы терапии гельминтозов / Н.Н. Озерецковская // Мед. паразит. и паразитар. болезни. – 1975. – №. 3. – С. 271–276.
4. Оробец, В.А. Отрицательные последствия дегельминтизации сельскохозяйственных животных / В.А. Оробец // Вести ветеринарии. – 2000. – № 15. – С. 88–90.
5. Современные лекарственные средства фармакокоррекции и химиопрофилактики животных. Научно-практическое издание научно-производственной фирмы “Бровафарма”. – Киев, 2007. – С. 113-121.
6. Якубовский, М.В. Диагностика, терапия и профилактика паразитарных болезней животных / М.В. Якубовский, Н.Ф. Карасев. – Минск: БИТ «Хата», 2001. – 384 с.
7. Якубовский, М.В. Стронгилятозы желудочно-кишечного тракта домашних жвачных животных в Беларуси / М.В. Якубовский, Т.Я. Мяцова, Е.А. Кирпанева // Ветеринарная наука – производству: науч. тр. / Белорусский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 2005. – Вып. 37. – С. 196–203.
8. Ястреб, В.Б. Побочные эффекты антгельминтиков / В.Б. Ястреб, Т.С. Новик // Восьмой Международный конгресс по проблемам ветеринарной медицины мелких домашних животных, Москва, 6–8 апреля, 2000г. / Рос. с–х. акад. – Москва, 2000. – С. 172–175.

СОДЕРЖАНИЕ

Бабак В.А., Пунтус И.А., Гусев А.А., Згировская А.А., Ломако Ю.В. КОНСТРУИРОВАНИЕ ВАКЦИНЫ ЖИВОЙ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ДЛЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ОСПЫ ОВЕЦ	3
Бобёр Ю.Н. ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО, ВИТАМИННОГО ОБМЕНОВ В КРОВИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ У ГЛУ- БОКОСТЕЛЬНЫХ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ С СИМПТОМАМИ ОЖИРЕНИЯ	10
Бородинский А.Н., Разводовский Ю.Е., Коноваленко О.В. ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ L-АРГИНИНА, -ГЛЮТАМИ- НА И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ НА СОСТОЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ И ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ	18
Вансяцкая В.К., Кирпанева Е.А. АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ НЕКОТОРЫХ ПУШНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ	25
Воронов Д.В. ГЕМАТО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДОЙНЫХ КОРОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ В ФОРМЕ БОЛЮСА	30
Горовенко М.В. САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ ДЛЯ ЖИ- ВОТНЫХ	37
Громов И.Н., Большакова Е.И., Насонов И.В., Самсонова В.С., Галенко С.С. ДИНАМИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНАХ МОЛОДНЯКА КУР ПРИ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ, ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА И ССЯ-76	44
Демидович А.П., Домосканова Е.П. ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ L-КАРНИТИНА ПОРОСЯТАМ С ВРОЖДЕННОЙ ГИПОТРОФИЕЙ	51
Згировская А.А., Минчук Ю.Н., Гусев А.А., Ломако Ю.В., Бабак В.А., Пунтус И.А. РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ РЕПРО- ДУКТИВНО-РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ	57
Каврус М.А., Лойко И.М., Щепеткова А.Г., Романова Л.В., Кузьмина О.Н., Гайдукевич Ю.В. ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМ- ПЛЕКСА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЛАКТО-, БИ- ФИДОБАКТЕРИЙ И БАЦИЛЛ	66
Каврус М.А., Михалюк А.Н., Вилькевич А.С., Головнева Н.А. ОТРАБОТКА ДОЗ И СПОСОБОВ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА С ПРО- И ПРЕБИОТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ НА МОЛОДНЯКЕ КРУПНО- ГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ СПК «ГРОДНЕНСКИЙ» ГРОДНЕН- СКОГО РАЙОНА	74

Каврус М.А., Михалюк А.Н., Копоть О.В., Пучкова Т.А., Капич А.Н. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕГО И АНТИОКСИ- ДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ ГРИБОВ РОДА <i>CORDYCEPS</i> ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ СВИНЕЙ	82
Кирищенко В.Г., Ятусевич А.И., Мироненко В.М. СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВОГО, УГЛЕВОДНОГО, ВИТАМИННО- МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У НЕТЕЛЕЙ ИНВАЗИРОВАННЫХ МОНИЕЗИЯМИ	91
Ковалев Н.А., Усень М.М., Красочко П.А., Бучукури Д.В., Бутько Л.В. РАЗРАБОТКА И КОНСТРУИРОВАНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БЕШЕНСТВА, ЧУМЫ, ПАРВОВИРУСНОГО ЭНТЕРИТА И ИН- ФЕКЦИОННОГО ГЕПАТИТА ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ	98
Козел Л.С., Сукач В.Л., Милоста О.В. БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ПОРОСЯТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА-СИНБИОТИКА	109
Копоть О.В., Михалюк А.Н., Свиридова А.П., Поплавская С.Л. МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ТЕЛЯТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРА- ТА «БИЛАВЕТ»	116
Красочко П.А., Борисовец Д.С., Станкуть А.Э., Струк М.С., Радько В.Л. ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ КЛЕ- ТОК МДВК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ БИОЭЛЕМЕНТОВ	121
Красочко П.А., Борисовец Д.С., Станкуть А.Э., Струк М.С., Радько В.Л. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА И СЕРЕБРА В СИСТЕМЕ IN VITRO	130
Красочко П.А., Кукса А.О. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО- ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ К НАНОЧАСТИЦАМ СЕРЕБРА И МЕДИ	139
Курилович А.М., Пахомов П.И. ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ФЛОК- СВИРИН» ПРИ БРОНХОПНЕВМОНИИ У ТЕЛЯТ	142
Лазовская Н.О. БАКТЕРИЦИДНО-ЛИЗОЦИМНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ И ПОКАЗАТЕЛИ ФАГОЦИТОЗА У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ИММУНИ- ЗАЦИИ ИХ СУХОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕ- НОСИНОВИТА	149
Лазовский В.А. ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ЛУЛСАЛ» В КОМПЛЕКСНОЙ ПРОФИЛАК- ТИКЕ ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	156

Лазовский В.А. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА ПАСТЕРЕЛЛЕЗА И ТРИХОФИТИИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ПРИМЕНЕ- НИИ ВАКЦИН	162
Малашко В.В., Башура А.В., Малашко Дм.В., Вилькевич А.С. МОРФОЛОГИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ И ЕЕ РЕАКЦИЯ ПРИ РАЗВИТИИ МАСТИТА	169
Малашко В.В., Харитоник Д.Н., Тумилович Г.А., Сукач В.Л., Гойлик Н.К., Казыро А.М., Малашко Д.В., Петушок А.Н., Юшкевич А.С. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗРЕЛОСТЬ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ – ВАЖНЫЙ ФАКТОР В ПРОФИЛАКТИКЕ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТ- НЫХ	177
Михалюк А.Н., Каврус М.А., Андрейчик Е.А., Дубинич М.В., Коломиец Э.И., Сверчкова Н.В. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОРОВОГО ПРОБИОТИЧЕСКО- ГО ПРЕПАРАТА В УСЛОВИЯХ СПК "ЩУЧИНАГРОПРОДУКТ" ЩУЧИН- СКОГО РАЙОНА ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ	189
Михалюк А.Н., Каврус М.А., Вилькевич А.С., Таранда Н.И., Головнева Н.А. ИСПЫТАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ МО- ЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ МАС- ТИТОВ У КОРОВ В УСЛОВИЯХ КСУП «ЗАРЯ И К» ВОЛКОВЫССКОГО РАЙОНА ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ	196
Новикова В.П. ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ БИОДОБАВКИ НА ЭНЕРГИЮ РОСТА И ИММУН- НЫЙ СТАТУС ТЕЛЯТ	202
Петровский С.В., Хлебус Н.К. ИЗУЧЕНИЕ ПАТОЛОГИЙ ПЕЧЕНИ У СВИНОМАТОК В УСЛОВИЯХ СВИ- НОКОМПЛЕКСА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТОДИАГНОСТИКИ	209
Свиридова А.П., Поплавская С.Л., Лойко И.М., Копоть О.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА «ВЕТОКС-1000» ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПОРО- СЯТ	217
Селиханова М.К., Громов И.Н., Алиев А.С., Бурлаков М.В., Емельянова С.А. ДИНАМИКА ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТИМУСЕ И КЛОАКАЛЬНОЙ БУРСЕ ЦЫПЛЯТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТЕЧЕ- НИИ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ	224
Сенько А.В. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛИРОВАНИЯ КАТИОННО-АНИОННОГО БАЛАНСА ОРГАНИЗМА КОРОВ	232
Сенько А.В., Туля О.И. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ ДОБАВОК ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У КОРОВ В ПО- СЛЕОТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД	238

Скудная Т.М. СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ПО- РОСЯТ-ГИПОТРОФИКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ	243
Степанова Е.А., Якубовский М.В. ИММУНОДИАГНОСТИКА ФАСЦИОЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	249
Тумилович Г.А. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ	255
Тумилович Г.А. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ	261
Финогенов А.Ю., Финогенова Е.Г., Мистейко М.М. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ ЗАЩИТНЫМИ СВОЙСТВАМИ И ВЕЛИЧИНОЙ ТИТРА АНТИТЕЛ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ МЫШЕЙ РАЗ- ЛИЧНЫМИ ФРАКЦИЯМИ АНТИГЕНА <i>BORDETELLA BRONCHISEPTICA</i>	267
Ховайло Е.В., Лях А.Л., Ховайло В.А. ВЛИЯНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НА КАЧЕСТВО КОПЫТЦЕ- ВОГО РОГА У КОРОВ	273
Чуенко И.В., Красочко П.А. РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИ- НАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА И ПРОБИОТИКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕГО БЕЗ- ВРЕДНОСТИ, СТЕРИЛЬНОСТИ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ	280
Якубовский М.В., Пепеляева О. П. ОСОБЕННОСТИ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПО- КАЗАТЕЛЕЙ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ ТЕЛЯТ	287
Якубовский М.В., Щемелева Н.Ю., Кузьминский И.И., Лавор С.И., Пепеляева О.П. ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПАРАЗИТАРНЫХ БО- ЛЕЗНЯХ ТЕЛЯТ И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ СОВРЕМЕННЫМИ ПРЕ- ПАРАТАМИ	293

Научное издание

СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО –
ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Сборник научных трудов

Основан в 2003 году

Том 20

ВЕТЕРИНАРИЯ

Ответственный за выпуск В. А. Павлова
Компьютерная верстка: Е. В. Миленкевич

Подписано в печать 17.10.2013.
Формат 60х84/16. Бумага офсетная.
Печать Riso. Усл. печ. л. 17,73. Уч.-изд. л. 19,85.
Тираж 100 экз. Заказ 3416

ISBN 978-985-537-026-1



Издатель и полиграфическое исполнение:

Учреждение образования
«Гродненский государственный аграрный
университет»

ЛИ № 02330/0548516 от 16.06.2009.
Ул. Терешковой, 28, 230008, г. Гродно.