

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3



№ 3

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

INTERNATIONAL BULLETIN
OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2021

www.spbgvm.ru



Лекарственное средство
при заболеваниях печени различной
этиологии у кошек и собак

ГЕПАСЕЙФ

Раствор для инъекций



В 1 мл в качестве действующих
веществ содержит
силимарин 12 мг
и витамин Е (токоферол) 2 мг.

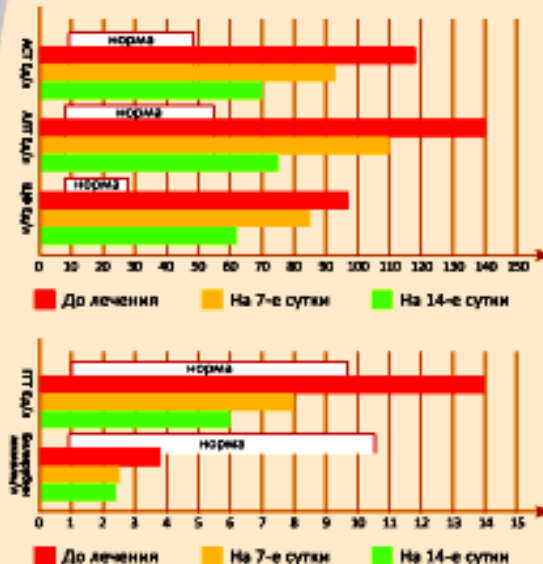


Гепасейф назначают собакам и кошкам для комплексного лечения и профилактики острых и хронических заболеваний печени различной этиологии при инфекционных, инвазионных заболеваниях и токсических повреждениях печени, при дистрофии и жировой инфильтрации печени, с целью коррекции нарушений липидного обмена, а также для снижения побочных эффектов при назначении гепатотоксических химиотерапевтических средств. Применяется внутримышечно и внутривенно кошкам и собакам, в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела.

Преимущества препарата:

- ▶ Препарат содержит в качестве действующих веществ **только натуральные компоненты;**
- ▶ Гепасейф **совместим** с лекарственными средствами, кормами и кормовыми добавками;
- ▶ **Положительно влияет** на восстановление повреждённых клеток печени.

Нормализация биохимических показателей крови у собак при применении «Гепасейфа»*



Доверьте нам заботу о здоровье ваших питомцев!

Номер регистрационного удостоверения: 77-3-21.13-1530№ПВР-3-21.13/02941 от 11.09.2013г.
ООО «АВЗ С-П» Россия, 129329, Москва, Игарский проезд, дом 4, help@vetmag.ru
Телефон круглосуточной «Горячей линии»: 8-800-700-19-93

www.vetmag.ru

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 3.2021

Редакционный совет

А.А. Стекольников – гл. ред., академик РАН, д.в.н., проф., СПб.

Л.Ю. Карпенко-зам. гл. ред., д.б.н., проф., СПб.

А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф., академик РАН, Витебск.

Редакционная коллегия

А.А. Алиев-д.в.н., проф., СПб.

Н.Л. Андреева-д.б.н., проф., СПб.

Л.М. Белова-д.б.н., проф., СПб.

М.И. Гулюкин- акад. РАН, д.в.н., проф., Москва.

Н.В. Зеленецкий- д.в.н., проф., СПб.

С.П. Ковалев- д.в.н., проф., СПб.

А.А. Кудряшов- д.в.н., проф., СПб.

В.А. Кузьмин-д.в.н., проф., СПб.

М.Н. Макарова- д.мед.н., проф., СПб.

К.В. Племяшов- член-корр. РАН, д.в.н., проф., СПб.

Б.С. Семенов-д.в.н., проф., СПб.

А.М. Смирнов- акад. РАН, д.в.н., проф., Москва.

В.В. Соцнев - член-корр. РАН, д.в.н., проф., Новгород.

А.А. Сухинин-д.б.н., проф., СПб.

А.Н. Шиков- д.фарм.н., проф., СПб.

Mustafa Atasever- Prof., Dr. Erzurum, Turkiye.

Ю.К. Ковалёнок-д.в.н., проф., Витебск, Республика Беларусь.

Kushvar Galib Mammadova-Dr., Azerbaijan.

Н.Б. Сарсембаева-д.в.н., проф., Алматы, Республика Казахстан.

Iliya Tsachev- DVM, MSc, PhD, DSc Prof., Stara Zagora, Bulgaria.

О.Ю. Беспятых- д.б.н., доцент, Киров.

В. А. Илюха - д.б.н., доцент, Петрозаводск.

И.А. Плотников – д.б.н., профессор, Киров.

С.В. Бекетов-д.б.н., в. н. с., Самара.

В.Н. Воронин – д.б.н., профессор, СПб.

А.Н. Квочко- д.б.н., профессор, Ставрополь.

В.Г. Скопичев – д.б.н., профессор, СПб.

А.О. Фролов – д.б.н., г.н.с., Санкт-Петербург

О.И. Станисhevская - д.б.н., профессор, СПб.

А.Е. Болгов – д.с.-х. н., профессор, Петрозаводск.

А. А. Лукин - д.б.н., профессор, СПб.

И.Ш. Шапиев - д.с.-х. н., профессор, СПб.

Н. В. Пристач - д.с.-х. н., профессор, СПб.

В. Б. Галецкий - д.с.-х. н., СПб.

Л.В. Романенко - д.с.-х. н., член РАЕ, СПб

Максимов В.И. - д.б.н., профессор, Москва

Редакционно-технический отдел

Л.А. Лукоянова- к.в.н., СПб.

О.С. Попова- к.в.н., СПб.

В.В. Крюкова- к.в.н., СПб (англ.яз)

К.А. Анисимова - к.в.н., СПб

Сдано в набор 15.09.2021

Подписано к печати 29.09.2021

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянцева № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 14+0,25 цв. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

Editorial council

A. A. Stekolnikov - editor in chief, academic of RAS, doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg

L.Y. Karpenko - deputy editor, doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg.

A. I. Yatusевич - deputy chief editor, doctor of veterinary sciences, professor, academic of RAS, Vitebsk.

Editorial board

A. A. Aliev, doctor of veterinary sciences, doctor of economics, prof., St. Petersburg

N. L. Andreeva- doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg

L. M. Belova- doctor of biology sciences, professor, St. Petersburg

M. I. Gulyukin- academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow

N. In. Zelenevskiy - doctor of veterinary medicine, doctor of economics, prof, St. Petersburg.

S. P. Kovalev – doctor of veterinary sciences, prof., St. Petersburg.

A. A. Kudryashov -doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.

V. A. Kuzmin- doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg.

M. N. Makarova - doctor of medicine, professor, St. Petersburg.

K. V. Plemyashov - corr. member of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., St. Petersburg

B. S. Semenov - doctor of veterinary sciences, professor, St. Petersburg

A. M. Smirnov- academic of RAS, doctor of veterinary sciences, prof., Moscow

V. V. Sochnev- corr. member of RAS, doctor of vet. sciences, prof., N. Novgorod.

A. A. Sukhinin - doctor of biology sciences., prof, St. Petersburg

A. N. Shikov- doctor of pharmacology sciences, prof., St. Petersburg

Mustafa Atasever- professor., Dr. Erzurum, Turkey

Y. K. Kovalenok - doctor of veterinary sciences, prof., Vitebsk

Kushva Galiba Mammadova - doctor, Azerbaijan

N. B. Sarsembayeva -doctor of vet. sciences, prof., Almaty, Republic of Kazakhstan

Iliya Tsachev - DVM, MSc, PhD, DSc, Prof., Stara Zagora, Bulgaria

O. Yu. Bespyatykh – doctor of biology sciences, associate professor, Киров

V. A. Ilyuha - doctor of biology sciences, associate professor, Petrozavodsk

I. A. Plotnikov- doctor of biology sciences, professor, Киров

S. V. Beketov- doctor of biology sciences, Samara

V. N. Voronin- doctor of biology sciences, professor, Saint Petersburg

A. N. Kvochko - doctor of biology sciences, professor, Stavropol

V. G. Skopichev – doctor of biology sciences, professor, Saint- Petersburg

A. O. Frolov- doctor of biology sciences, senior science member, Saint- Petersburg

O. I. Stanishhevskaya - doctor of biology sciences, professor, Saint- Petersburg

A. E. Bolgov- doctor of agricultural sciences, professor, Petrozavodsk

A. A. Lukin - doctor of biology sciences, professor, Saint-Petersburg

I. S. Shapiev - doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg

N. V. Pristach- doctor of agricultural sciences, professor, St. Petersburg

V. B. Galetsky- doctor of agricultural sciences, St. Petersburg.

L. V. Romanenko- doctor of agricultural sciences, member of RAE, St. Petersburg

Maximov V.I. -doctor of biology sciences, professor, Moscow

Editorial and technical Department

L. A. Lukoyanova - PhD of Vet.Med., St. Petersburg

O. S. Popova – PhD of Vet Med., St. Petersburg

V.V. Kriukova - PhD of Vet Med., St. Petersburg (English)

K.A. Anisimova - PhD of Vet Med., St. Petersburg

Sent to 15.09.2021

Signed for printing 29.09.2021

The format of 100×70 1/16 .

Glossy paper number 1. Offset printing.

Conv. Pec. liter. 14+0,25 fl. incl.

Conv. Cr. - ott . 18.2 . Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: здание ФГБОУ ВО Санкт-Петербургского государственного аграрного университета

**НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ
ЖУРНАЛ**

Номер государственной регистрации СМИ ПИ № ФС 77-28268 от 18 мая 2007 г. Подписной индекс в агентстве Роспечать 82393.

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный ветеринарный университет ветеринарной медицины» (ФГОУ ВО «СПбГУВМ»)

Журнал основан в январе 2004 года в Санкт-Петербурге и входит в список ведущих рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

МВВ входит в базу данных Russian Science Citation Index.

Журнал распространяется по всем регионам России и Республике Беларусь (ВУЗЫ, НИИ, ВЕТЕРИНАРНЫЕ ОТДЕЛЫ).

Журнал выходит не менее 4 раз в год. В нем публикуются работы по всем основным вопросам ветеринарии и смежным дисциплинам.

В этот журнал вы можете поместить рекламу Вашей фирмы. Объявления и коммерческая реклама публикуются после оплаты. Срок исполнения — в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

Справки и технические возможности типографии, в которой печатается журнал, оговариваются по телефону (812) 387-11-58.

Адрес редакции: 196084, СПб, ул. Черниговская дом 5, СПбГУВМ, редакция журнала «Международный вестник ветеринарии» (МВВ). тел 8-812-387-11-58

**RESEARCH AND PRODUCTION
JOURNAL**

The number of the state registration in mass media PI № FS77-28268 from may 18, 2007. Subscription index in the agency Rospechat 82393.

Founder — Federal state educational institution of higher professional education "Saint-Petersburg state University of veterinary medicine" (FSEI of HPE "SpbGUVM").

The journal was founded in January 2004 in St. Petersburg and is included in the list of leading peer-reviewed scientific journals in which the main scientific results of dissertations for the degree of doctor and candidate of Sciences should be published.

International Bulletin of Veterinary Medicine is included in the Russian Science Citation Index database.

The journal is distributed in all regions of Russia and the Republic of Belarus (universities, research institutions, veterinary departments).

The magazine is published at least 4 times a year. It publishes papers on all major issues of veterinary medicine and related disciplines.

In this magazine, you can place an advertisement for your company. Ads and commercial information are published after payment. The execution period is within 3 months.

The editorial board is not responsible for the content of advertisement.

When reprinting, a link to the journal is required.

The opinion of the authors and the editorial board on certain issues may not coincide.

Postgraduates are not charged for the publication of the manuscript.

Information and technical capabilities of the printing house where the magazine is printed are discussed by phone number (812) 387-11-58.

Editorial office address: 196084, St. Petersburg, Chernigovskaya str. 5, "SPbGUVM", editorial office of the journal "International Bulletin of Veterinary Medicine" (MVV).

СОДЕРЖАНИЕ

Инфекционные лезии	60-	Использование рекомбинантного белка VP2 в качестве субъединичной вакцины против инфекционной бурсальной болезни. Джавадов Э.Д., Румянцев А.М, Веретенников В.В., Тарлавин Н.В.	9	
		Эпизоотологические особенности и лабораторная диагностика кампилобактериоза продуктивных животных и птицы. В.А. Кузьмин, А.А. Сухинин, С.А. Макавчик, Д.А.Орехов, А.В. Цыганов, В.А.Гришина	15	
		Динамика показателей индексов неспецифической реактивности в крови цыплят при экспериментальном стафилококкозе и колибактериозе. Моисеева А.А., Присный А.А., Скворцов В.Н., Белимова С.С.,	21	
		О механизме формирования энзоотичных (эндемичных) зон по африканской чуме свиней на территории России. Авилов В.М., Сочнев В.В., Гусев А.А.	25	
		Биохимические изменения в плазме крови цыплят при сочетанной иммунизации аттенуированными вакцинами против эймериоза. Фролова О.А., Донкова Н.В.	39	
		Разработка способа одновременной идентификации возбудителей лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота. Усольцев К.В., Горбунова М.Е., Сафина Р.Ф., Шангараев Р.И., Сальманова Г.Р., Осянин К.А., Фаизов Т.Х., Хаммадов Н.И.	46	
		Возбудители анизакидоза, передающиеся через морских промысловых рыб, в условиях Магаданской области. Е.А. Витомскова, А.М. Кузьмин, В.И. Жулева, Е.С. Москаленко, А.Б. Постникова	55	
		Цитокиновый профиль у больных актинобациллезной плевропневмонией поросят и его коррекция ципропигом. Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю., Владимирова Ю.Ю., Адодина М.И.	60	
	Фармакология, токсикология, фармация		Общая экономическая эффективность применения разработанного синбиотического средства для профилактики желудочно-кишечных заболеваний телят в производственных условиях. Самойленко В.С., Ожередова Н.А., Симонов А.Н., Светлакова Е.В.	66
			Изучение эффективности комплекса профилактических средств при смешанном микотоксикозе. Тарасова Е.Ю., Хаммадов Н.И., Матросова Л.Е., Танасева С.А., Ермолаева О.К., Семёнов Э.И.	71
		Сравнительная эффективность препаратов галокур и парофор 70 для терапии телят при криптоспориديозе. Колесников В.И., Четвертнов В.И.	79	
		Перспективность потенцирования препаратов-протекторов гепатобилиарной системы с использованием антагонистов CGPR-рецепторов. Пономарёв В.С., Попова О.С.	84	
		Влияние препаратов на основе интерферонов на формирование клеточного иммунитета у новорожденных поросят. Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю., Владимирова Ю.Ю., Тараканова К.В.	88	
		Исследование мутагенной активности препарата на основе рекомбинантной протеазы микромицета <i>aspergillus ochraceus</i> ВКМ F-4104D. Шабунин С.В., Паршин П.А., Востроилова Г.А., Шабанов Д.И., Хохлова Н.А., Корчагина А.А.	94	
		Нормализация гематологических и микробиологических показателей сельскохозяйственной птицы различными адсорбентами при профилактике микотоксикозов. Капитонова Е.А.	99	
		Антибиотикорезистентность микроорганизмов <i>staphylococcus aureus</i> , изолированных от животных. Макавчик С.А., Кротова А.Л.	103	

Зооигиена, санитария, кормление	Оценка доброкачественности и безопасности мяса кроликов при применении марботрима. Григорьева Н.А., Жуков М.С., Шабанов Д.И., Вели А.А., Богданова М.С.	108
	Дизайн дуплексной пщр в реальном времени для выявления мяса убоя курицы в смешанной мясной продукции. Гергель М.А., Зайцева Е.В., Солтынская И.В., Путинцева А.В., Крылова Е.В., Тимофеева И.А., Кирсанова Н.А., Акинина Т.Н., Василевич Ф.И., Богомазова А. Н.	113
	Влияние нового адсорбента микотоксинов на мясную продуктивность цыплят-бройлеров. Капитонова Е.А.	121
	Ветеринарно-санитарный осмотр продуктов убоя цесарок и определение биологической полноценности их мяса при использовании биостимуляторов в эмбриогенезе. И.С. Луговая, Т.О. Азарнова, Ю.В. Петрова, М.С. Найденский, А.А. Антипов, М.С. Царькова	126
	Изучение микобактерицидного и туберкулоцидного действия новой биоцидной композиции. Аржаков П.В., Денгис Н.А.	131
Биохимия, анатомия, физиология	Коррекция микробиоценоза кишечника у кроликов при добавлении в рацион ДБА «ПроСтор». Ожередова Н.А., Вережкина М.Н., Дыптан О.Н.	135
	Воспроизводительная функция у коров при разной продолжительности скармливания танамин Zn. Омельчук А.И., Семенютин В.В., Крамарева И.А., Лавринова Е.В., Артюх В.М.	141
	К вопросу о состоянии печени попугая корелла при воздействии токсического агента. Веремеева С.А., Краснолобова Е.П., Козлова С.В.	147
	Заболееваемость органов дыхания у телят здоровых и перенёсших интранатальную асфиксию. Алехин Ю.Н., Жуков М.С.	151
	Динамика живой массы и показатели крови телят в зависимости от нормы выпойки цельного молока. Ускова И.В., Баймишев Х.Б.	158
	К вопросу об аденокарциноме предстательной железы собак. Краснолобова Е.П., Череменина Н.А., Гефель С.А.	163
	Морфометрические показатели сердца нутрий в постнатальном онтогенезе. Данников С.П., Квочко А.Н.	168
	Показатели микрофлоры кишечника телят при использовании пробиотика на основе штамма <i>enterococcus faecium</i> L-3. Лебедев М.Н., Ковалев С.П.	174
	Морфофункциональные особенности кожи домашних свиней (<i>sus scrofa domestica</i>) в условиях технологического стресса. Н.А. Гарская, Л.Г. Перетягко, А.А. Захаров, Л.П. Гришина	177
	Биохимические показатели крови у коров-первотелок и их корреляция с воспроизводительной функцией. Николаев С.В., Конопельцев И.Г.	185
Хирургия	Современные подходы при получении и криоконсервации эмбрионов крупного рогатого скота <i>in vitro</i> . Г.С. Никитин	192
	Репродуктивная способность ремонтных самок стандартной черной норки в зависимости от уровня энергетического питания в период выращивания. Н.Н. Лоенко, В.Н. Куликов, И.П. Люднов	206
	Динамика роста и развития яичников крольчих с момента рождения до полового созревания. Николаев С.В.	211
	Способ лечения овец с гнойно-некротическими язвами дистального отдела конечностей. Финагеев Е.Ю., Стекольников А.А.	217
	Хирургическая патология у овец в хозяйствах Постовской области. Финагеев Е.Ю., Стекольников А.А.	223

CONTENTS

Infectious diseases	The use of recombinant protein VP2 as a sub-unit vaccine against infectious bursal disease. Dzhavadov E.D., Rumyantsev A.M., Veretennikov V.V., N.V. Tarlavin	9	
	Epizootological features and laboratory diagnostics of campylobacteriosis of productive animals and poultry. Kuzmin V.A., Sukhinin A.A., Makavchik S.A., Orekhov D.A., Tsyganov A.V., Grishina V.A.	15	
	Dynamics of non-specific reactivity indices in chicken blood in experimental staphylococcosis and colibacillosis. Moiseeva A.A., Prisnyi A.A., Skvortsov V.N., Belimova S.S.	21	
	About the mechanism of formation of enzootic (endemic) zones of African swine fever on the territory of Russia. Avilov V.M., Sochnev V.V., Gusev A.A.	25	
	Biochemical changes in blood plasma of broilers at combined vaccination with attenuated vaccines against eimeriosis. O.A. Frolova, Donkova N. V.	39	
	Development of a method for simultaneous identification of causes of leukemia and immunodeficiency of cattle. Usoltsev K.V., Faizov T.Kh., Gorbunova M.E., Safina R.F., Shangaraev R.I., Salmanova G.R., Osyanin K.A., Khammadvov N.I.	46	
	Pathogens of anisakidosis transmitted through marine commercial fish in the conditions of the Magadan region. E.A. Vitomskova, A.M. Kuzmin, Zhuleva V.I., E. S. Moskalenko, A. B. Postnikova	55	
	Cytokine profile in piglets with actinobacillus pleuropneumonia and its correction with tsiprolog. Shakhov A.G., Sashnina L.Yu., Vladimirova Yu.Yu., Adodina M.I.	60	
	Pharmacology, toxicology, pharmacy	The overall economic efficiency of using synbiotic for the prevention of gastrointestinal diseases in calves in the production environment. Samoilenko V.S., Ozheredova N.A., Simonov A.N., Svetlakova E.V.	66
		Study of the complex preventive agent effectiveness against combined mycotoxicosis. Tarasova E.Yu. - Candidate of biological Sciences, senior researcher; Khammadvov N.I., Matrosova L.E., Tanaseva S.A., Ermolaeva O.K., Semenov E.I.	71
Comparative efficiency of halocur and parofor 70 preparations for therapy of calves in cryptosporidiosis. V.I. Kolesnikov, V.I. Chetvertnov		79	
Prospects for potentiation of hepatobiliary protector drugs using CGPR receptor antagonists. Ponamarev V.S., Popova O. S.		84	
Effect of the drugs based on interferons on the formation of cell immunity in newborn piglets. Shakhov A.G., Sashnina L.Yu., Vladimirova Yu.Yu., Tarakanova K.V.		88	
Study of the mutagenic activity of the drug based on recombinant protease of micromycete aspergillus ochraceus VKM F-4104D. Shabunin S.V., Parshin P.A., Professor, Vostroilova G.A., Shabanov D.I., Khokhlova N.A.- laboratory researcher, Korchagina A.A.		94	
Normalization of poultry haematological and microbiological indices by various adsorbents in the mycotoxicoses prevention. E.A. Kapitonova		99	
Antibiotic resistance microorganisms of staphylococcus aureus isolated from animals. Makavchik S.A., Krotova A.L.		103	
Assessment of the rabbit meat quality and safety when using marbotrim. Grigoryeva N.A., Zhukov M.S., Shabanov D.I., Veli A.A., Bogdanova M.S.	108		

Zoohygiene, Sanitation, Feeding	Design of duplex real-time PCR for the detection of chicken meat in mixed meat products. Gergel M. A., Zaitseva E. V., Soltynskaya I. V., Putintseva. V., Krylova E. V., Timofeeva I. A., Kirsanova N. A., Akinina T. N., Vasilevich F. I., Bogomazova A. N.	113
	The influence of a new adsorbent of mycotoxins on the meat performance of chicken broilers. Kapitonova E. A.	121
	Veterinary and sanitary inspection of guinea fowl slaughter products and determination of the biological value of their meat when using biostimulants in embryogenesis. Lugovaya I. S., Azamova T. O., Petrova Yu. V., Naydensky M. S., Antipov A. A., M. S. Tsarkova	126
	Study of the mycobactericidal and tuberculocidal effects of the new biocidal composition Arzhakov P. V., Dengis N. A.	131
	Correction of intestinal microbiocenosis in rabbits with the addition of ProStor DBA to the diet. Ozheredova N. A., Verevkina M. N., Dyptan O. N.	135
	Reproductive function in cows at different duration of feeding tanamine Zn. Omelchuk A. I., Semenyutin V. V., Kramareva I. A., Lavrina E. V., Artyukh V. M.	141
	Biochemistry, anatomy, physiology	To the question about the state of the liver of a parrot corella under exposure to a toxic agent. Veremeeva S. A., Krasnolobova E. P., Kozlova S. V.
Morbidity of the respiratory organs of healthy calves recovered after intranatal asphyxia. Alekhin Yu. N., Zhukov M. S.		151
Weight dynamics and indicators of blood of calves depending on the rate of drinking of whole milk. Uslova I. V., Baimishev N. B.		158
To the question about prostate adenocarcinoma in dogs. Krasnolobova E. P., Cheremenina N. A. - Ph.D., Gefel S. A.		163
Morphometric parameters of the heart of the nutria in postnatal ontogenesis. Dannikov S. P., Kvochko A. N.		168
Indicators of intestinal microflora of calves when using a probiotic based on the strain enterococcus faecium L-3. Lebedev M. N., Kovalev S. P.		174
Morphofunctional features of the skin of domestic pigs (<i>sus scrofa domesticus</i>) under technological stress. Garskaya N. A., Peretiatko L. G., Zakharov A. A., Grishina L. P.		177
Dynamics of the biochemical composition of blood in first-calf cows and correlation of biochemical markers with reproductive function. Nikolaev S. V., Konopeltsev I. G.		185
Modern approaches for obtaining and cryoconservation of cattle embryos in vitro. Nikitin G. S.		192
Reproductive capacity of repairing standard black mink females in dependence of the food energy level during the growing period. N. N. Loenko, V. N. Kulikov, I. P. Ludnov		206
Surgery	Dynamics of ovarian growth and development from birth to puberty. Nikolaev S. V.	211
	Method of treatment of sheep with purulent-necrotic ulcers of the distal extremities. Finageev E., Stekolnikov A. A.	217
	Surgical pathology in sheep at the farms of the Rostov region. Finageev E. Y., Stekolnikov A. A.	223



ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 578.823:619

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.9

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА VP2 В КАЧЕСТВЕ СУБЪЕДИНИЧНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ

Джавадов Э.Д.- док. вет. н., Румянцев А.М. канд. биол. н., Веретенников В.В. – асс. каф. эпизоотологии им В.П. Урбана, Тарлавин Н.В. - асс. каф. эпизоотологии им В.П. Урбана (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Ключевые слова: болезнь Гамборо, инфекционная бурсальная болезнь, рекомбинантные вакцины, дрожжи *P. pastoris*, белок VP2.

Key words: Gumboro disease, infectious bursal disease, recombinant vaccines, *P. pastoris* yeast, VP2 protein.



РЕФЕРАТ

Во всех регионах мира, производящих птицу, вирус инфекционной бурсальной болезни (ИББ) продолжает оставаться одной из главных проблем для птицеводов. Вирус вызывает у цыплят анемию и обезвоженность мышечной ткани, также кровоизлияния в мышцах голени, бедра, крыльев и груди. Наиболее характерные для данной болезни изменения наблюдаются в фабрициевой бурсе. В первые 2-4 дня после заражения птицы она увеличивается в 2-3 раза. Ее слизистая оболочка становится отечна, гиперемизирована, в ней обнаруживаются кровоизлияния и некротические участки. Летальность от этой болезни невысокая, но основной опасностью ИББ является вызываемое ей иммунодепрессивное состояние.

Последствиями иммуносупрессии, связанной с ИББ, является восприимчивость цыплят к условно-патогенным микроорганизмам, повышение восприимчивости к другим заболеваниям и снижению эффективности вакцинации против болезни Ньюкасла, болезни Марека, инфекционного бронхита и др. Вакцинация является наиболее важной мерой для борьбы с ИББ в полевых условиях. На сегодняшний день на птицефабриках широко применяются живые и инактивированные вакцины против инфекционной бурсальной болезни. За достаточно длительный период применения этих вакцин было найдено большое количество недостатков их использования, поэтому возросла актуальность рекомбинантных вакцин на основе вирусного белка VP2, которые считаются более безопасными и дешевыми.

Вакцинированные куры, у которых происходит синтез вируснейтрализующих антител к капсидному белку VP2, устойчивы к инфекционной бурсальной болезни.

Целью работы являлось произвести рекомбинантный белок VP2 и испытать его эффективность на цыплятах кросса Ломан Браун.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус инфекционной бурсальной болезни (ВИББ) вызывает тяжелую иммунодепрессию у цыплят, в основном в возрасте 3-6 недель [5], путем разрушения лимфоцитов в бурсе Фабрициуса (БФ). У цыплят, которые полностью восприимчивы к инфекции ИББ, болезнь вызывает ухудшение роста и увеличение смертности, а также иммуносупрессию, которая повышает восприимчивость к другим заболеваниям и снижает эффективность вакцинации против болезни Ньюкасла, болезни Марека, инфекционного бронхита и др. Пассивная защита цыплят от ВИББ достигается путем вакцинации родительского стада кур аттенуированной и инактивированной вакцинами против ИББ. Материнские антитела передаются потомству через желток и обеспечивают защиту цыплят в течение первых нескольких недель жизни. Но вакцинация живыми вакцинами имеет ряд недостатков, так как вакцинный штамм и патогенный вирус реплицируется и разрушает клетки иммунной системы птиц и вызывают иммуносупрессию [4]. А вакцинация инактивированными вакцинами является дорогой и требует больших трудозатрат.

С таким количеством недостатков, связанных с имеющимися в настоящее время живыми аттенуированными вакцинами против ИББ, поиск нового подхода для улучшения вакцины или создания новых вакцин является оправданным. В последние годы различные исследователи использовали рекомбинантную технологию для экспрессии структурных белков ВИББ в качестве субъединичных вакцин. VP2 был целевым белком для разработки субъединичных вакцин с использованием различных систем экспрессии.

Ген VP2 был экспрессирован в *Escherichia coli*, но продукты его экспрессии были признаны бесполезными для производства субъединичной вакцины против ВИББ [1,2]. Сообщалось, что VP2 может вызывать высокий уровень анти-VP2 антител у цыплят, но эти антитела не нейтрализовали ВИББ. [3]. Поэтому для нашего исследования мы использовали

дрожжевую систему экспрессии, а именно *Pichia pastoris*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве источника гена оболочечного гликопротеина VP2 использовали вирус инфекционной бурсальной болезни из штамма «52/70», который был выделен из патматериала.

Для наработки плазмид в работе использовали штамм бактерий *Escherichia coli* DH5 α (fhuA2 lac(del)U169 phoA glnV44 Ф80' lacZ(del)M15 gyrA96 recA1 relA1 endA1 thi-1 hsdR17).

В работе использовали штаммы дрожжей *P. pastoris* X-33 (дикий тип).

Для экспрессии гена оболочечного гликопротеина VP2 в дрожжах был использован вектор pPICZ α A (рис. 1), Thermo Fisher Scientific, США), широко используемый при синтезе рекомбинантных белков в дрожжах *P. pastoris*.

Последовательность гена оболочечного гликопротеина VP2 была получена в ходе обратной транскрипции (ОТ) и последующей амплификации методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Обратная транскрипция проводилась с использованием набора «RevertAid™ First Strand cDNA» (Fermentas) по методике производителя. При этом использовали геноспецифичный обратный праймер (VP2-R). Полученная кДНК служила матрицей для проведения ПЦР. При этом использовали набор «Encyclo Plus PCR kit» (Евроген, Россия) с применением следующих праймеров:

VP2- EcoRI -F 5'-
AgaattcATGACAAACCTGCAAGATCA-
3'

VP2- XbaI-R 5'- Atcta-
gaAATGCTCCTGCAATCTTCAG -3'

Праймеры содержали сайты рестрикции: EcoRI и XbaI.

Использовали следующие параметры ПЦР: 95°C – 3 минуты, а затем 30 циклов: 95°C - 30 с, 53°C - 30 с, 72°C - 90 с. ПЦР-продукт, кодирующий ген оболочечного гликопротеина VP2, был очищен методом выделения из агарозного геля с помощью набора «Eurogen Cleanup standart kit» (Евроген, Россия). Очищен-

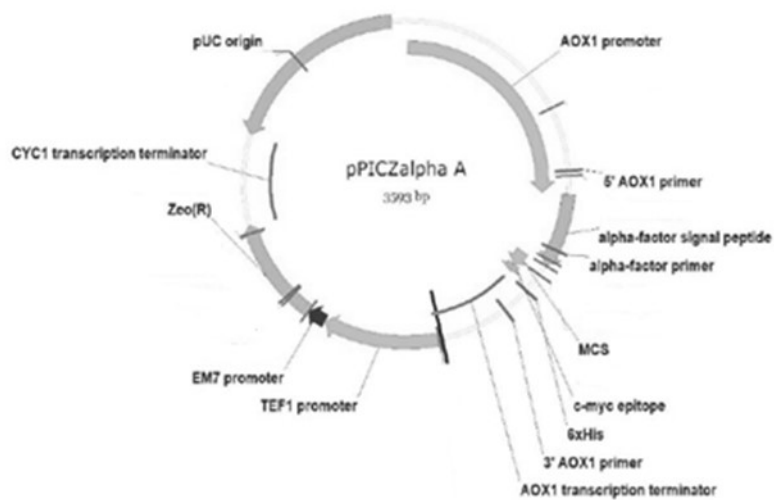


Рис. 1. Карта вектора *pPICZα A* (Thermo Fisher Scientific, США): *pUC origin* – бактериальный ориджин репликации, *ZeoR* – ген устойчивости к антибиотик у зеоцину, *AOX1 promoter* – промотора гена алкогольоксидазы дрожжей *P. pastoris AOX1*.



Рис. 2. Вакцинация цыплят подкожным методом

ный ПЦР-продукт лигировали с линейризованной плазмидой pAL2-T по методике, предложенной фирмой производителем набора Quick-TA kit (Евроген, Россия).

В качестве адьюванта использовали 6% гидроксид алюминия (ГОА), который добавляли к жидкости, содержащей рекомбинантный белок до конечной концентрации 10% от общего объема вакцины. Полученные препарат смешивали на аппарате «Vortex» в течение 10 минут и вводили животным не ранее чем через 18 часов после приготовления.

В опытах использовали цыплят яичных кроссов «Ломанн-коричневый» (Lohmann brown) суточного возраста.

Серологические исследования проводили в ИФА с использованием набора «IDEXX». Исследования проводили на цыплятах яичного направления. Были взяты 4 группы цыплят по 10 животных в каждой группе: цыплятам 1-ой группы вводили вакцину с рекомбинантным белком VP2 в концентрации 1мг/мл в объеме 100 мкл (0,1 см³) подкожно (рис. 2); цыплятам 2-ой группы вводили вакцину с

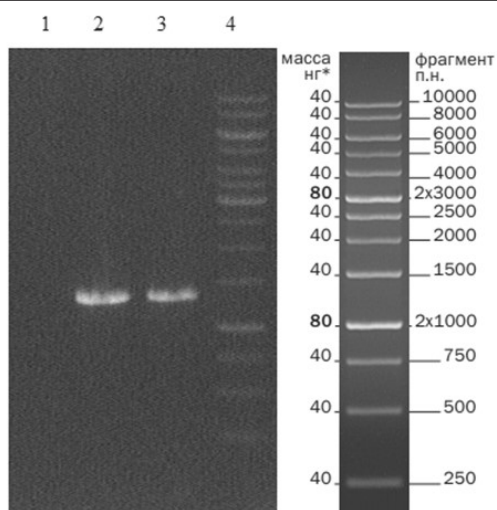


Рис. 3. Электрофореграмма результатов ПЦР-реакции с праймерами VP2- EcoRI-F и VP2-XbaI-R. Размер полученных фрагментов соответствует теоретически ожидаемому (1339 п.н.)

*Дорожка №1- отрицательный контроль
Дорожки №2- геномная ДНК штамма VP2-GS115 в качестве матрицы (клон №1)
Дорожка №3- геномная ДНК штамма VP2-GS115 в качестве матрицы (клон №2)
Дорожки №4- Ladder 1 кВ (Евроген, Россия)*

рекомбинантным белком VP2 в концентрации 0,2 мг/мл в объеме 100 мкл (0,1 см³) подкожно; цыплятам 3-ой группы вводили вакцину с рекомбинантным белком VP2 в концентрации 0,04 мг/мл в объеме 100 мкл (0,1 см³) подкожно; цыплятам 4-ой группы вакцину не вводили (контрольная группа). Вакцину вводили на 14-ые сутки однократно.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в вивариях на базе ФГБОУ ВО СПбГУВМ и в лаборатории кафедры генетики и биотехнологии ФГБОУ ВО СПбГУ.

Для интеграции плазмиды pPICZα-VP2 в геном дрожжей *P. pastoris* плазмиду pPICZα-VP2 линеаризовали с помощью рестриктазы PmeI. Получившимся линейным фрагментом трансформировали штамм *P. pastoris* GS115 методом элек-

тропорации. Отбор трансформантов проводился на среде YEPDS с зеоцином.

Наличие необходимой интеграции в хромосомной ДНК штамма, трансформированного плазмидой pPICZα-VP2, проверяли с помощью ПЦР с парой праймеров VP2-EcoRI-F – VP2-XbaI-R. В качестве матрицы использовали геномную ДНК полученных трансформантов. Результаты ПЦР анализа приведены на Рис. 3.

Таким образом, был получен штамм VP2-GS115 дрожжей *P. pastoris*, содержащий кассету экспрессии с геном VP2. В этой кассете кодирующая последовательность VP2 находится в единой рамке считывания с последовательностями альфа-фактора, с-тус-эпитопа и 6х гистидиновой метки. Транскрипция этой кассеты обеспечивается за счёт работы промотора гена AOX1, индуцируемого в средах с метанолом. Добавленная к белку последовательность альфа-фактора обеспечит выделение белка клетками дрожжей в среду и будет удалена в процессе секреции. Последовательность с-тус-эпитопа позволит эффективно анализировать синтез белка с помощью Вестерн-блот гибридизации.

Для индукции синтеза рекомбинантного белка полученный штамм VP2-GS115 культивировали в среде BMGY в течение 72 часов, после чего центрифугировали и переносили клетки в среду BMMY с метанолом на 72 часа для индукции промотора AOX1. Далее среду отделяли от клеток и концентрировали. Пробы наносили на градиентный ПААГ, проводили электрофоретическое разделение белков и их перенос на нитроцеллюлозную мембрану с последующей обработкой антителами. Результаты электрофореза и вестерн-блот гибридизации приведены на Рис. 4.

Полученный штамм VP2-GS115 культивировали в среде BMGY в течение 48 часов, после чего центрифугировали и переносили клетки в среду BMMY на 72 часа для индукции промотора гена AOX1 и синтеза рекомбинантного белка. Клетки центрифугировали, после чего отбирали среду, содержащую секретированный белок. Среду концентрировали и использовали для после-

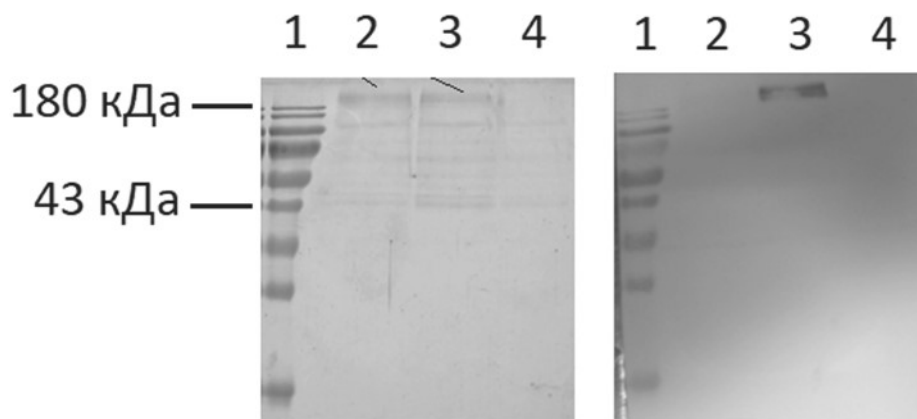


Рис. 4. Электрофореграмма (слева) и вестерн-блоттинг (справа) секреторных белков. Дорожка №1- Маркер PageRuler Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Fisher Scientific, США). Дорожка №2 - Среда от штамма VP2-GS115 выделяющего секреторный белок с VP2 с-тус эпитопом и 6xHis-меткой . Дорожка №3 Среда от штамма X-33, не синтезирующего рекомбинантных белков.

дующей иммунизации цыплят на 14 сутки.

Во всех группах сыворотку крови для выявления антител к вирусу ИББ отбирали в возрасте 1, 14 и 40 дней. Результаты можно увидеть в таблице 1.

По результатам проведенных исследований можно сказать, что иммунитет образовался только у группы №1, так как произошло увеличение титра антител при коэффициенте вариации 12,5%. В группе №2 и №3 иммунитет остался на уровне 14 дня, возможно, это связано с маленьким количеством рекомбинантного белка в вакцине. В контрольной группе титры антител почти полностью отсутствовали.

ВЫВОДЫ

В итоге проведенных исследований можно сделать вывод, что дрожжи *P. pastoris* являются хорошо отработанной системой экспрессии рекомбинантного белка VP2 вируса инфекционной бурсальной болезни, несмотря на некоторые трудности, связанные с очисткой белка. Также, исходя, из опыта на цыплятах кросса Ломан Браун можно отметить, что средний титр антител на первые сутки составлял более 5000, что свидетельствует о среднем уровне материнских антител, поэтому и титры на 14 день были не такими

высокими. Итоговые титры на 40 день показали действие вакцины только в первой группе, так они были на уровне 600, хотя в контрольной группе титры на 40 день уже опускались к 100. В дополнении стоит ответить, что в группах 2 и 3 титры были выше, чем в контрольной, но их было недостаточно, чтоб защитить птицу от ИББ, поэтому можно сделать вывод, что количество рекомбинантного белка существенно влияет на поствакцинальный иммунитет и следующие опыты нужно проводить с большими концентрациями рекомбинантного белка VP2.

Исследование выполнено при поддержке гранта ФГБОУ ВО СПбГУ М1 2020-1 «Создание нового поколения вакцинных препаратов для птиц на основе рекомбинантных антигенов и адъювантов – иммуностимуляторов»

THE USE OF RECOMBINANT PROTEIN VP2 AS A SUB-UNIT VACCINE AGAINST INFECTIOUS BURSAL DISEASE.

Dzhavadov E.D. - Doctor of veterinary sciences, Rumyantsev A.M. candidate of biology sciences, Veretennikov V.V. - Assistant of the Department of Epizootology, N.V. Tarlavin - Assistant of the Depart-

ment of Epizootology (St. Petersburg State University of Veterinary Medicine)
ABSTRACT

In all poultry producing regions of the world, infectious bursal disease (IBD) virus continues to be a major concern for poultry farmers. The virus causes anemic and dehydrated muscle tissue in chickens, as well as hemorrhages in the muscles of the lower leg, thigh, wings and chest. The most characteristic of this disease are observed in the fabrication bursa. In the first 2-4 days after infection of the bird, it increases 2-3 times. Its mucous membrane becomes edematous, hyperemic, hemorrhages and necrotic areas are found in it. The mortality from this disease is low, but the main danger of IBD is the immunosuppressive state it causes. The consequences of immunosuppression associated with IBD, an increase in the susceptibility of chickens to opportunistic microorganisms, an increase in susceptibility to diseases and a decrease in the effectiveness of vaccination against Newcastle disease, Marek's disease, infectious bronchitis, etc. Vaccination is the most important measure for combating IBD in the field. Today, live and inactivated vaccines against infectious bursal disease are widely used in poultry farms. A large number of disadvantages of their use have been found, therefore, the relevance of recombinant vaccines based on

the viral VP2 protein has increased, which are considered safer and cheaper.

Vaccinated chickens, in which the synthesis of virus-neutralizing antibodies to the VP2 capsid protein occurs, are resistant to infectious bursal disease.

The aim of the work was the recombinant protein VP2 and to test its effectiveness in chickens of the Lohman Brown cross.

ЛИТЕРАТУРА

1. Azad AA, Jagadish MN, Brown MA, Hudson PJ. Deletion mapping and expression in *Escherichia coli* of the large genomic segment of a birnavirus. *Virology* 1987;161:145–52
2. Azad AA, Mckern NM, Macreadie IG, Failla P, Heine HG, Chapman A, et al. Physicochemical and immunological characterization of recombinant host-protective antigen (VP2) of infectious bursal disease virus. *Vaccine* 1991;9:715–22
3. Jagadish MN, Staton VJ, Hudson PJ, Azad AA. Birnavirus precursor polyprotein is processed in *Escherichia coli* by its own virus-encoded polypeptide. *J Virol* 1988;62:1084–7
4. Kibenge FSB, Dhillon AS, Russell RG. Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. *J Gen Virol* 1988;69:1757–75
5. Wyeth PJ, Cullen GA. Maternally derived antibody-effect on susceptibility of chicks to infectious bursal disease. *Avian Pathol* 1976;5:253–60.

УДК: 619.616.98.579.843.1:636.2: 636.4: 636.3:636.5

DOI : 10.17238/issn2072-2419.2021.3.15

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦЫ

В.А. Кузьмин, д.в.н., профессор ORCID0000-0002-6689-3468, А.А. Сухинин, д.б.н., профессор orcid.org/0000-0002-1245-3440, С.А. Макавчик, к.в.н., доцент orcid.org/0000-0001-5435-8321, Д.А.Орехов, к.в.н., доцент ORCID 0000-0002-7858-1947, А.В. Цыганов к. пед. н., доцент, магистр ветеринарно-санитарной экспертизы ORCID 0000-0003-2994-6257, В.А.Гришина, ветеринарный врач. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Ключевые слова: кампилобактерии, крупный рогатый скот, свиньи, овцы, птица, бактерионосительство, идентификация, эпидемиологические риски. **Key words:** campylobacter, cattle, pigs, sheep, poultry, bacterial carrier, identification, epidemiological risks.



РЕФЕРАТ

Кампилобактериоз – зоонозная инфекционная болезнь животных и человека, характеризуется различной степенью тяжести и полиморфностью проявлений: репродуктивной патологией, поражением желудочно-кишечного тракта, у людей - токсикоинфекцией. Цель работы – выявление эпизоотологической и эпидемиологической роли отдельных видов и подвидов патогенных кампилобактерий в инфекционном процессе у продуктивных животных. Работу в течение 12 лет проводили в животноводческих и птицеводческих хозяйствах на территории СЗФО РФ. Диагноз устанавливали на основании комплексных эпизоотологических, бактериоскопических, бактериологических, серологических, молекулярно-биологических исследований. Сезонность в заболевании кампилобактериозом при промышленной технологии содержания животных и птицы не установлена. При бактериологическом исследовании 4163 смешанных культур от КРС, овец, свиней, птицы выделено 67,59 % чистых культур кампилобактерий. Максимальный удельный вес носительства кампилобактерий, в среднем, выявлен у птицы - 79,49 % и КРС - 71,79 %; у свиней - 63,62 %, у овец - 52,61 %, соответственно. Установлена циркуляция у животных двух патогенных подвидов кампилобактерий в инфекционном процессе, обуславливающих эпидемиологические риски: *C. jejuni sbsp. jejuni* с максимальным уровнем у птицы — 79,03 % и *C. fetus sbsp. fetus*, соответственно, у овец — 46,79 %. ПЦР с использованием отечественной тест-системы "КАМ-БАК" выявила высокую специфичность для ДНК кампилобактерий от крупного рогатого скота подвида *C. jejuni sbsp. jejuni*. Целесообразно создание базы данных по патогенным кампилобактериям и обмен информацией между ветеринарной и медицинской службами для осуществления надзора за этим зоонозом.

ВВЕДЕНИЕ

Кампилобактериоз (Campylobacteriosis, Vibriosis) — острая зоонозная инфекционная болезнь животных многих видов. Вызывается патогенными кампилобактериями, проявляется в основном поражением половых органов,

вагинитами, частыми перегулами, временным бесплодием, массовыми абортми, метритами, задержанием последа, рождением нежизнеспособного потомства, также поражением кишечника, печени; у кур – гепатитом, снижением прироста массы тела цыплят-бройлеров, яйце-

носкости кур-несушек, падежом цыплят. У человека болезнь проявляется токсикоинфекцией с преимущественным поражением ЖКТ, а у людей с ослабленным иммунитетом — генерализованным (септицемическим) процессом. Распространение кампилобактериоза вызвано интенсификацией животноводства, птицеводства, возросшей международной торговлей животными, птицей, кормами, продуктами животного происхождения. По своей распространенности кампилобактериоз не уступает сальмонеллезу [2,7,11].

Согласно современной классификации и номенклатуре бактерий возбудителей данной болезни относят к роду *Campylobacter*. Род *Campylobacter* включает в себя более 20 видов, из которых наибольшее значение в патологии животных и человека имеют *C. fetus*, *C. jejuni*, *C. coli*, реже *C. lari(dis)*, *C. sputorum*, *C. concisus* и др. Внутри вида *C. fetus* различают два подвида: *C. fetus subsp. venerealis* и *C. fetus subsp. fetus*. В антигенном отношении кампилобактеры неоднородны, их антигенная структура представлена О-, К-, Н-антигенами и выявлена антигенная связь с бруцеллами. Кампилобактерии в процессе своей жизнедеятельности продуцируют энтеро- и цитотоксины. При разрушении клеток эти бактерии выделяют эндотоксины, вызывающие диарейный, болевой и интоксикационный синдромы [5,7].

Болезнь зарегистрирована в РФ и многих странах мира. Эпизоотические вспышки обуславливают значительный экономический ущерб за счет повторных осеменений, увеличения сроков сервис-периода, недополучения приплода и молока, абортот, финансовых затрат для осуществления противоэпизоотических мероприятий.

В естественных условиях чаще заболевают КРС и овцы, реже — свиньи, козы и куры. Основным источником возбудителей у КРС (*C. fetus ssp. venerealis*, *C. fetus ssp. fetus* и *C. jejuni*) — инфицированные быки-производители с пожизненным сохранением данных микробов в органах репро-

дуктивного тракта и выделяющие их с секретом предстательной железы, спермой и препуциальной слизью. Важное значение в эпизоотологии кампилобактериоза имеет технология воспроизводства стада с искусственным осеменением или вольной случкой инфицированными быками. Передача возбудителя инфекции осуществляется, главным образом, половым путем при естественном спаривании или искусственном осеменении [8,11]. Не исключены алиментарный и контактный пути заражения молодняка животных от больных матерей. Факторы передачи возбудителя — некачественно продезинфицированные акушерский инструментарий, спецодежда персонала, подстилка и др.

В распространении возбудителя кампилобактериоза в поголовье наибольшее значение придается клинически здоровым животным, выращенным в неблагополучном стаде, но являющимся бактерионосителями длительное время (до полутора лет). Резервуарами и переносчиками возбудителя болезни могут быть свиньи, собаки, лисицы и дикие птицы, которые поедают инфицированные плоды и после́ды и выделяют возбудителя с фекалиями длительное время (до 45 дн).

У птиц кампилобактерии являются комменсалами желудочно-кишечного тракта птиц, что обуславливает бессимптомное течение инфекции и возможность реализации населению контаминированной птицеводческой продукции. Возбудитель кампилобактериоза *C. jejuni* передается от бактерионосителей с помётом и быстро распространяется по всему поголовью. Клинически болезнь у птиц проявляется в виде признаков гепатита, особо выраженных при наличии паразитарных, вирусных и других бактериальных болезней [5,6].

Кампилобактериоз в животноводческих и птицеводческих хозяйствах проявляется в виде спорадических случаев. При осложнении секундарными инфекциями может иметь место летальный исход. в ФГУ «ВГНКИ» (г. Москва).

Особую проблему в настоящее время кампилобактериоз приобретает в здраво-

охранении, что связано с его возрастающей ролью в качестве пищевой токсикоинфекции в виде диарейной формы у человека, вызванной потреблением продукции животноводства и птицеводства, контаминированной *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli* прижизненно или при разделке. Гематогенно-диссеминированную форму инфекции у людей вызывают *C. fetus* и *C. lari* [2,6,11].

Обращает на себя внимание, что больные коровы и нетели, выделяющие кампилобактерий в течение от трех до десяти месяцев с секретами и экскретами, в том числе с молоком, представляют собой эпидемиологическую опасность для потребителей подобной контаминированной продукции животного происхождения. Аналогичный эпидемиологический риск представляет и птицеводческая продукция, зараженная патогенными кампилобактериями [2,5,6,8,11].

Цель работы — выявить эпизоотологическую и эпидемиологическую роль отдельных видов и подвидов патогенных кампилобактерий в инфекционном процессе у продуктивных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работу проводили в животноводческих, свиноводческих, птицеводческих, фермерских и личных подсобных хозяйствах на территории Северо-Западного Федерального округа РФ (СЗФО РФ) в течение 12 лет.

Эпизоотическую ситуацию изучали согласно общепринятым методам эпизоотологического обследования [9]. Диагноз на кампилобактериоз ставили на основании комплексных эпизоотологических, бактериологических и серологических исследований [6]. В работе использованы методы доказательной эпизоотологии [1].

Объектами исследований являлись: крупный рогатый скот (быки, коровы, тёлки, телята в возрасте до 3-4 мес), свиньи (хряки, свиноматки, поросята в возрасте до 2 мес), овцы, с/х птица в условиях промышленного содержания. Бактериологические и серологические исследо-

вания проводили в ПНИЛ СПбГАВМ, исследования на ПЦР - в ФГУ «ВГНКИ» (г. Москва).

При диагностике кампилобактериоза использовали бактериоскопический, бактериологический, серологический, молекулярно-генетический методы [2,3,4,6,7,8,11]. Диагностику и индикацию *C.jejuni.subs.jejuni* четырёх культур кампилобактерий,ю изолированных от КРС, проводили в ПЦР в режиме «горячего старта» с помощью отечественной тест-системы "КАМ-БАК" согласно Наставления....., 2004 г. в ФГУ «ВГНКИ» (г. Москва).[4]. Микроскопические исследования осуществляли для прижизненной и посмертной диагностики кампилобактериоза. Бактериологически исследовали периферическую кровь, молоко, вагинальную и препуциальную слизь, внутренние органы абортированных плодов, мертворожденных и павших животных, фекалии. При невозможности использования элективных питательных сред с антибиотиками для обнаружения кампилобактерий в материалах с высокой степенью микробной обсемененности (фекалии, помёт) применяли метод фильтров.

Серологические исследования осуществляли согласно Наставления по применению кампилобактериозного (вibriозного) антигена для реакции агглютинации с вагинальной слизью (РАВС) и Наставления по применению кампилобактериозных (вibriозных) люминесцирующих сывороток при лабораторной диагностике кампилобактериоза (вibriоза) животных [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении эпизоотической ситуации в хозяйствах на территории СЗФО РФ было установлено, что за 12-летний период исследований сезонность в заболевании кампилобактериозом КРС, свиней, овец, птицы при промышленной технологии содержания не выявлена.

У с/х животных и птицы кампилобактериоз обычно протекает бессимптомно, поэтому в основе диагностики лежат лабораторные методы детекции возбудите-

лей, которые характеризуются значительными трудностями, обусловленными отсутствием патогномических клинических и патологоанатомических признаков.

Изоляцию культур кампилобактерий из проб био- и патологического материала проводили в течение 50-60 ч в микроаэрофильных условиях с использованием специальных устройств – анаэроаппаратов, в комплект которых включены газогенерирующие пакеты. Часть культур кампилобактерий, которые плохо росли в этих условиях, культивировали в полужидком агаре (ПЖА) при температуре 25-30⁰С [3].

Результаты бактериологического, серологического и молекулярно-биологического исследований на кампилобактериоз био- и патматериала от с/х продуктивных животных показали следующее. Всего бактериологически исследованы 4163 смешанные культуры микроорганизмов от КРС, овец, свиней, птицы, из них выделено 2814 (67,59%) чистые культуры кампилобактерий.

Анализ результатов проведенных бактериологических исследований отобранных проб био- и патматериала даёт основание говорить о значительном (в среднем, 66,87%) уровне носительства кампилобактерий в организме с/х животных на территории СЗФО РФ за весь 12-летний период исследований. Максимальный удельный вес циркуляции кампилобактерий за этот период, в среднем, установлен у птицы - 79,49% и КРС - 71,79%. У свиней уровень бактерионосительства за тот же период составлял, в среднем, 63,62%, у овец – 52,61%.

Бактериологическое исследование молока от абортировавших и больных маститных коров показало высокий уровень (около 40%) микроскопического обнаружения бактериальных форм, сходных в поле зрения микроскопа с типичными кампилобактериями: в препаратах, приготовленных из биоматериала, грамотрицательный возбудитель имел вид изогнутой палочки в виде запятой или S-образную форму. Следует отметить особые трудности при культивировании кампилобакте-

рий, о чем свидетельствуют литературные данные отечественных и зарубежных авторов [3,7,8,11]. В наших экспериментах в связи со сложностями очистки первичных загрязненных культур, из 136 бактериологически исследованных проб молока были изолированы только 18 чистых культур подвида *C. jejuni sbsp. jejuni*. Из литературы известно, что именно данный подвид кампилобактерий может являться одним из этиологических агентов мастита у коров [2,5,6], что обуславливает его эпидемиологическое значение при попадании такого молока в розничную сеть от недобросовестных поставщиков. Отечественными авторами установлено, что эпидемиологическую опасность представляет также мясо кур, содержащее *C. jejuni sbsp. jejuni* [5].

Сотрудниками ФГУ «ВГНКИ» в предоставленных нами четырёх образцах культур кампилобактерий (кровь КРС – три культуры и маститное молоко – одна культура) в ПЦР с помощью отечественного набора "КАМ-БАК" продемонстрирована высокая специфичность для ДНК кампилобактерий подвида *C. jejuni sbsp. jejuni*.

Идентификацию изолированных от животных штаммов кампилобактерий проводили согласно определителя микробов Берджи на основе изучения их культурально-морфологических, биохимических и антигенных свойств.

При серологическом исследовании периферической крови в организме продуктивных животных установлен значительный уровень циркуляции двух основных подвидов патогенных кампилобактерий: 1) *C. jejuni sbsp. jejuni*, в среднем, 59,88% (максимальный у птицы – 79,03% и минимальный у овец – 35,90%) и 2) *C. fetus sbsp. fetus*, в среднем, 24,47% (максимальный у овец – 46,79% и минимальный у свиней – 11,28%; у КРС – 28,58%). Только у КРС из всех продуктивных животных было установлено носительство подвида *C. fetus sbsp. venerealis* – 12,62% [3]. Два других вида кампилобактерий – *coli* (обуславливающий эпидемиологический риск) и *lari* с максималь-

ным уровнем обнаружены у свиней: *C. coli* — в 20,08 %, *C. lari* — в 5,93 % случаев от числа изолированных кампилобактерий.

Особо следует обратить внимание на публикации отечественных и зарубежных авторов [5,6,7,11] о циркуляции вышеназванных двух подвидов патогенных кампилобактерий в организме не только животных, птицы, но и людей с острой кишечной инфекцией при пищевом и водном пути заражения, что является неоспоримым свидетельством эпидемиологической проекции кампилобактериоза. Исходя из вышеизложенного, в настоящее время целесообразно установление взаимного обмена результатами бактериологического и серологического мониторинга патогенных штаммов кампилобактерий и создание общей базы данных ветеринарной службы и службы здравоохранения для профилактики возникновения пищевых токсикоинфекций у людей.

ВЫВОДЫ

Сезонности в заболевании кампилобактериозом продуктивных животных на территории СЗФО РФ в течение 12 лет наблюдения не выявлено. Установлен значительный уровень носительства кампилобактерий у с/х животных на данной территории, в среднем, 66,87%. Выявлено доминирование в инфекционном процессе у КРС, овец и свиней подвидов *C. jejuni sbsp. jejuni* и *C. fetus sbsp. fetus*, а у с/х птицы - *C. jejuni sbsp. jejuni*, которые могут вызывать репродуктивную и кишечную патологию в организме животных и человека, создавая эпидемиологические риски. ПЦР с использованием отечественной тест-системы "КАМ-БАК" (г.Москва, ФГУ «ВГНКИ») продемонстрировала на наших образцах чистых культур кампилобактеров от крупного рогатого скота высокую специфичность для ДНК кампилобактерий подвида *C. jejuni sbsp. jejuni* и рекомендована для практического применения в ветеринарных лабораториях для постановки диагноза на кампилобактериоз. Правомерно осуществление системы обмена между медицинской и ветеринарной службами

взаимной информацией на базе бактериологического и серологического мониторинга патогенных штаммов кампилобактерий, как основы эпизоотологического и эпидемиологического надзора за данным зоонозом.

Выражаем благодарность сотрудникам отдела препаратов против хронических болезней животных и сотрудникам лаборатории молекулярной диагностики Всероссийского государственного Центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГУ «ВГНКИ»), г. Москва, при содействии которых проводилось молекулярно-генетическое исследование.

Публикация подготовлена в рамках реализации заказа МСХ России за счет средств федерального бюджета на 2021 год.
Epizootological features and laboratory diagnostics of campylobacteriosis of productive animals and poultry. Kuzmin V.A. - doctor of Veterinary Sciences, professor, Sukhinin A.A. - doctor of Biological sciences, professor, Makavchik S.A. - candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Orekhov D.A - candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Tsyganov A.V - candidate of Pedagogical Sciences, Associate Professor, master's degree of Veterinary and Sanitary Expertise, Grishina V.A. - veterinary doctor, "St. Petersburg state University medicine"

ABSTRACT

Campylobacteriosis is a zoonotic infectious disease of animals and humans, characterized by various degrees of severity and polymorphism of manifestations: reproductive pathology, damage to the gastrointestinal tract, in humans -toxicoinfection. The aim of the work is to identify the epizootological and epidemiological role of certain species and subspecies of pathogenic campylobacteria in the infectious process in productive animals. The work was carried out for 12 years in livestock and poultry farms on the territory of the Northwestern Federal District of the Russian Federation. The diagnosis was established on the basis of complex epizootological, bacterioscopic, bacteriological, serological, molecular bio-

logical studies. Season prevalence of the disease in animals husbandry wasn't been established and poultry revealed such prevalence. During the bacteriological study of 4163 mixed cultures from cattle, sheep, pigs, poultry, 67.59% of pure campylobacter cultures were isolated. The maximum specific part of campylobacter host, on average, was detected in poultry — 79.49% and cattle — 71.79%; in pigs — 63.62%, in sheep — 52.61%, respectively. The circulation of two pathogenic subspecies of campylobacteria in the infectious process that cause epidemiological risks in animals has been established: *C. jejuni* sbsp. *jejuni* with the maximum level in poultry — 79.03 % and *C. fetus* sbsp. *fetus*, respectively, in sheep — 46.79 %. PCR using the russian test system "CAM—BAC" revealed a high specificity for the DNA of campylobacteria from cattle of the subspecies *C. jejuni* sbsp. *jejuni*. It is advisable to create a database on pathogenic campylobacteria and exchange information between veterinary and medical services for surveillance of this zoonosis.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доказательная эпизоотология (методология научных исследований): монография / В.В. Сочнев, Ю.В. Пашкина, О.В. Козыренко и др. // Н. Новгород: БИКАР.-2016.-160 с.
2. Ефимочкина, Н.Р. Оценка роли бактерий рода *Campylobacter* в возникновении пищевых токсикоинфекций и современные методы обнаружения возбудителя / Н.Р. Ефимочкина // Вопросы питания.-2015.-Том.84.-№ 6.-С. 5-18.
3. Кузьмин, В.А. Серологическая вариабельность культур кампилобактерий, изолированных от животных и людей / В.А. Кузьмин, В.А. Гришина, А.В. Гришина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.-2016.-№ 4.- С. 68-71.
4. Наставление по применению тест-системы для диагностики и идентификации возбудителя кампилобактериоза *C.jejuni* методом полимеразной цепной реакции «КАМ-БАК». Утверждено Департаментом ветеринарии МСХ РФ 3 февраля 2004 г. № 13-5-02/0943.
5. Новикова, О.Б. Усовершенствование методов контроля эпидемиологически опасных и условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от птиц: дисс. ... канд. вет. наук.- Санкт-Петербург, 2004.-168 с.
6. Сборник Санитарных правил СП 3.1.087-96 и Ветеринарных правил ВП 13.4.1307-96 «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных». Кампилобактериоз.- Утв.Госсанэпиднадзор и Деп. ветеринарии МСХ РФ, 1996.
7. Складов, О.Д. Разработка и совершенствование средств и методов диагностики бруцеллеза и кампилобактериоза животных: дисс. ... докт. вет. наук.- Москва, 2006.-271с.
8. Сухинин, А.А. Кампилобактерии в этиологической структуре бактериальных инфекций репродуктивного тракта крупного рогатого скота Северо-Западного региона / А.А. Сухинин, С.А. Макавчик, С.В. Герасимов //Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.-2017.-№ 4.-С. 40-42.
9. Эпизоотологический мониторинг инфекционных болезней животных. Современные геоинформационные технологии в эпизоотологии и эпидемиологии: методические рекомендации / Ю.Ю. Данко, А.В. Кудрявцева, В.А. Кузьмин, Д.А. Орехов и др.// Санкт-Петербург: изд-во СПбГАВМ, 2015 г. – 38 с.
10. Sukhinin, A.A. Method for inactivating infectious of *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* by teotropina compounds / A.A. Sukhinin, S.V. Gerasimov, V.A. Grishina, S.A. Makavchik //International Conference «Global Science and Innovation».- USA, Chicago, March 23-24.-2016.-P. 278-280.
11. Scotter, S.L. Methods for the detection of thermotolerant *Campylobacter* in foods: results of an interlaboratory study / S.L. Scotter, T.J. Humphery, A. Henley // J. Appl. Bacteriol.-1993.-V. 74.-N 2.-P. 155-163.

УДК: 636.5.034:615.33:591.111.1
DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.21

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНДЕКСОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ В КРОВИ ЦЫПЛЯТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТАФИЛОКОККОЗЕ И КОЛИБАКТЕРИОЗЕ

¹Моисеева А.А., научный сотрудник, ^{1,2}Присный А.А., д. б. н., главный научный сотрудник, зав. кафедрой биологии, ¹Скворцов В.Н., д. в. н., руководитель филиала, ¹Белимова С.С., младший научный сотрудник,

¹Белгородский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

²ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Ключевые слова: цыплята, экспериментальная инфекция, колибактериоз, стафилококкоз, лейкоцитарные индексы.

Keywords: chickens, experimental infection, colibacillosis, staphylococcosis, leukocytic indices.

РЕФЕРАТ

Распространенной проблемой в птицеводстве являются болезни микробной этиологии, в частности колибактериоз и стафилококкоз, что обусловлено скрытым носительством этих бактерий у птиц. Кроме того, опасность микроорганизмов заключается в формировании множества токсинов при попадании в организм, что может также способствовать уклонению от воздействия клеток иммунной системы. Для оценки эффекторных механизмов иммунной системы и уровня иммунологической реактивности предлагается использование лейкоцитарных индексов крови, в связи с чем нами изучены данные показатели у экспериментально зараженных цыплят в качестве диагностического критерия, отражающего состояние организма в условиях развития патологии. Для осуществления исследования были организованы два опыта. Для проведения первого опыта сформированы группы: I – контроль, II – экспериментально заражена внутрибрюшинно культурой *Staphylococcus aureus* в концентрации 2 по McFarland. Во втором опыте группа III являлась контролем, а IV – аналогично заражена культурой *Escherichia coli*. Отбор крови проводили на 1, 3, 5 и 7 сутки после заражения. Были изучены следующие показатели: лейкоцитарная формула, а также динамика показателей лейкоцитарных индексов. Выявлены достоверные изменения во всех опытных группах, однако заражение культурой *E. coli* обусловило менее выраженное эндотоксическое воздействие на организм птенцов.

ВВЕДЕНИЕ

Гематологический профиль у птиц является важным составляющим фактором, отражающим реакцию на внешние и внутренние раздражители, что впоследствии влияет на физиологический и пато-

физиологический статус организма [4].

Для оценки степени выраженности патологического процесса в диагностической практике применяют лейкоцитарные индексы, способствующие анализу работы эффекторных механизмов иммунной

системы, а также уровня иммунореактивности, которые отражают формирование неспецифических адаптационных реакций [2]. Кроме того расчетные индексы обладают не только диагностическим, но и прогностическим значением, позволяя характеризовать деятельность эффекторных процессов в организме [1].

В связи с воздействием патогенных бактерий на организм, необходимо выявить обусловленные ими нарушения физиологического состояния птиц, а также возможное последующее расстройство ранее перечисленных иммунных функций. Нами была изучена динамика лейкоцитарных индексов в крови петушков кросса «Хайсекс-Браун» в условиях экспериментального стафилококкоза и колибактериоза, а также произведено сравнение обнаруженных гематологических изменений после воздействия двух инфекций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено два опыта, в каждом из которых по принципу аналогов сформировано по две группы цыплят кросса «Хайсекс Браун» суточного возраста. В первом опыте задействована группа I – контроль, II – экспериментально заражена внутрибрюшинно культурой *Staphylococcus aureus* в концентрации 2 по McFarland. Во втором опыте группа III являлась

контрольной, IV – аналогично заражена культурой *Escherichia coli*. Отбор крови методом внутрисердечной пункции производили на 1, 3, 5 и 7 сутки после экспериментального заражения двух опытных групп.

Лейкоцитарную формулу определяли в окрашенных по Романовскому-Гимзе мазках крови путем подсчета отдельных форм лейкоцитов, после чего рассчитывали индекс Кребса (ИК) [6], лейкоцитарный индекс (ЛИ) [5], индекс иммунореактивности (ИИР) [3].

Статистическая обработка цифрового материала проведена с использованием программы SPSS Statistic 17.0, достоверность полученных результатов оценивали при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований зарегистрирован рост данных ИК в группе II на первые, третьи, пятые и седьмые сутки, что составило 50 %, 78 %, 81 % и 73 % (таблица 1), а также на третьи, пятые, седьмые сутки в группе IV (63 %, 35 %, 46 %), что свидетельствует об активно протекающем фагоцитозе (таблица 2).

Формирование процесса бактериальной этиологии в организме опытных цыплят повлияло также и на динамику

Таблица 1
Значения лейкоцитарных индексов в крови цыплят, экспериментально зараженных *S. aureus*, у.е.

Показатель	Группа	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки
ИК	III	1,26±0,14	0,86±0,06	0,89±0,05	0,77±0,06
	VI	4,48±0,49**	5,24±0,34**	4,10±0,49**	3,62±0,59**
ЛИ	III	0,84±0,08	1,18±0,08	1,12±0,06	1,33±0,11
	VI	0,24±0,02**	0,19±0,01**	0,26±0,03**	0,31±0,04**
ИИР	III	26,6±5,21	26,6±5,84	33,4±8,15	44,6±7,14
	VI	5,03±0,69**	0,61±0,06**	3,06±0,41**	8,78±1,73**

** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,01$; * – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$.

Таблица 2

Значения лейкоцитарных индексов в крови цыплят, экспериментально зараженных *E. coli*, у.е.

Показатель	Группа	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки
ИК	I	1,10±0,08	0,97±0,05	1,08±0,06	1,05±0,07
	II	2,08±0,63	2,59±0,36**	1,67±0,09**	1,96±0,10**
ЛИ	I	0,93±0,07	1,05±0,06	0,93±0,05	0,97±0,06
	II	0,64±0,12	0,43±0,6**	0,61±0,04**	0,53±0,04**
ИИР	I	27,7±4,44	42,3±6,34	32,2±5,92	45,2±4,98
	II	9,65±3,56*	11,4±3,84**	16,8±2,73**	26,7±7,56

** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,01$; * – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$.

ЛИ, характеризующего взаимоотношение гуморального и клеточного звеньев иммунитета. Так, падение значений произошло на первые, третьи, пятые, седьмые сутки в группе II (53 %, 71 %, 77 % и 72 % соответственно) и третьи, пятые и седьмые сутки в группе IV, где разница с контролем составила 59 %, 34 %, 43 %.

Наиболее выраженные сдвиги показателей среди всех индексов выявлены в значениях ИИР. Так, в группе II снижение относительно контроля на протяжении всего опыта, в среднем, составило 90 %, что может отражать рост монокинов стимулирующих «дыхательный взрыв» в псевдоэозинофильных клетках, усиливая тем самым протекание фагоцитарного процесса. Падение аналогичного показателя в группе IV было также достоверным, но менее выраженным и уже на последние сутки исследований изменений не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные значения лейкоцитарных индексов крови цыплят опытных групп, можно предположить, что заражение культурой *E. coli* обусловило менее выраженное эндотоксическое воздействие на организм петушков, что подтверждается отсутствием продолжительных изменений в группе IV, в то время как в группе II высокодостоверный сдвиг показателей зафиксирован на протяжении всего исследования.

DYNAMICS OF NON-SPECIFIC REACTIVITY INDICES IN CHICKEN BLOOD IN EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCOSIS AND COLIBACILLOSIS

¹Moiseeva A.A. – junior researcher,
^{1,2}Prisnyi A.A. – D. B. Sc., principal researcher,
¹Skvortsov V.N. – D. V. Sc.,
Head of Department, Belimova S.S. – junior research fellow

¹Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV"

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod State National Research University»

ABSTRACT

Diseases of microbial aetiology namely colibacillosis and staphylococcosis are prevalent in poultry farming as asymptomatic carriers of these bacteria among birds are common. Besides microorganisms upon penetrating the organism harm it in multiple ways such as by creating a host of toxins which helps evade the immune response. To evaluate effector mechanisms of the immune system and the level of immune reactivity we suggested employing leukocytic indices, whereupon we analysed leukocytic indices in experimentally infected chickens and used them as diagnostic criteria for controlling the state of organism in developing pathology. In the course of our research we conducted two experiments. For the first experiment we divided chickens into two groups: Group I – control, Group II – chickens challenged in-

traperitoneally with *Staphylococcus aureus* (2 McFarland units). In the second experiment Group III was control, while Group IV was challenged in the same way with *Escherichia coli*. Blood samples were collected on Day 1, Day 3, Day 5 and Day 7 after the challenge. The following indicators were studied: leukogram and dynamics of leukocytic indices. We observed reliable changes in indicators of each experimental group, but the challenge with *E. coli* caused a less pronounced endotoxic effect on the organism of male chicks.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виолин, Б.В. Фармакотоксикологические свойства и терапевтическая эффективность энрофлона при бактериальных инфекциях птиц / Б.В. Виолин // Аграрная наука. – 2006. – № 10. – С. 23-26.
2. Дерхо, М.А. Интегральные индексы интоксикации как критерий оценки уровня эндогенной интоксикации при бабезиозе / М.А. Дерхо, Е.С. Самойлова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им Н.Э. Баумана. – 2011. – № 3. – Т. 207. – С. 177-182.
3. Иванов, Д.О. Лейкоцитарные индексы клеточной реактивности как показатель наличия гипо- и гиперэргического вариантов неонатального сепсиса / Д.О. Иванов, Н.П. Шабалов, Н.Н. Шабалова, Е.А. Курзина, Н.Н. Костючек // Опыт лечения детей в многопрофильной детской больнице: сборник. – СПб., 2002. – С. 22-28.
4. Кавардаков, Ю.Я. Влияние бентонита на морфологические показатели крови кур-несушек / Ю.Я. Кавардаков, В.М. Романов // Естествознание и гуманизм. Современный мир, природа, человек: сборник научных трудов. – 2008. – Т. 5. – № 1. – С. 72-73.
5. Козинец, Г.И. Исследование системы крови в клинической практике / Г.И. Козинец, В.А. Макаров. – М.: Триада-Х, 1997. – С. 204-243.
6. Угрюмов, В.М. Тяжелая закрытая травма черепа и головного мозга (диагностика и лечение) / В.М. Угрюмов. – М.: Медицина, 1974. – 328 с.

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятиях при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35,
Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com**

УДК 616.98:578.842-022.39:636.4(470)
DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.25

О МЕХАНИЗМЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЭНЗООТИЧНЫХ (ЭНДЕМИЧНЫХ) ЗОН ПО АФРИКАНСКОЙ ЧУМЕ СВИНЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Авилов В.М.¹-д.вет. н., член-корр.РАН, СочневВ.В.¹- д.вет.н., член-корр. РАН,
Гусев А.А.²-д.вет. н., член-корр. РАН
1-Нижегородская ГСХА, 2- Покровский завод биопрепаратов

Ключевые слова: африканская чума свиней, мониторинг эпизоотической ситуации по африканской чуме свиней, механизм формирования энзоотических (эндемических) зон по африканской чуме свиней

Key words: African swine fever, monitoring of the epizootic situation for African swine fever, the mechanism of formation of enzootic (endemic) zones for African swine fever



РЕФЕРАТ

Российская Федерация неблагополучна по заболеванию африканской чумой свиней с ноября 2007 года. Основное неблагополучие по африканской чуме свиней на территории Российской Федерации определяют сформировавшиеся энзоотические зоны и частично выносные случаи болезни на территории субъектов "внеэнзоотических зон". Российская Федерация неблагополучна по заболеванию африканской чумой свиней с ноября 2007 года. Несмотря на принимаемые меры, заболевание имеет тенденцию к ежегодному распространению. За период 2007-2020 годы в России зарегистрировано 1840 очагов этой болезни, в том числе 1077 среди домашних свиней и 737 среди диких кабанов.

На наш взгляд, в России представилась уникальная возможность в естественных условиях изучить этапы формирования энзоотической зоны в регионе Северного Кавказа. На этой территории компактно расположены: Чеченская Республика, Республика Ингушетия, Кабардино-Балкарская Республика, Республика Дагестан, Республика Северная Осетия-Алания, Карачаево-Черкесская Республика, Республика Адыгея, народы которых, за исключением Республики Северная Осетия-Алания, исповедуют исламскую религию, запрещающую потребление свинины.

В данной статье на основании анализа эпизоотической обстановки в 2007-2020 гг. высказано мнение о механизме формирования энзоотических зон по африканской чуме свиней, а также по установлению зон при появлении болезни с целью введения ограничительных и запретительных мер. Определена позиция о роли диких кабанов в формировании энзоотических зон и распространении инфекции. Представление о механизме формирования энзоотических зон – основа для разработки эффективных мер по искоренению африканской чумы свиней на территории России.

ВВЕДЕНИЕ

Российская Федерация неблагополучна по заболеванию африканской чумой свиней с ноября 2007 года. Несмотря на принимаемые меры, заболевание имеет

тенденцию к ежегодному распространению. За период 2007-2020 годы в России зарегистрировано 1840 очагов этой болезни, в том числе 1077 среди домашних свиней и 737 среди диких кабанов.

Если за первые четыре года (2007-2011 гг.) в 22 субъектах Российской Федерации было выявлено 212 неблагополучных пунктов, то только в одном 2020 году болезнь регистрировалась в 30 субъектах в 284 очагах.

Рост заболеваемости определяют формирующиеся энзоотические зоны по АЧС и частично занос болезни в регионы, не имеющие границ с территориями энзоотических зон. Если причины заноса инфекции, как правило, известны специалистам, то механизм формирования энзоотических зон до настоящего времени вызывает дебаты специалистов и учёных.

В тоже время только знание этого механизма позволит разработать меры по своевременному недопущению формирования энзоотических зон.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На наш взгляд, в России представлялась уникальная возможность в естественных условиях изучить этапы формирования энзоотической зоны в регионе Северного Кавказа. На этой территории компактно расположены: Чеченская Республика, Республика Ингушетия, Кабардино-Балкарская Республика, Республика Дагестан, Республика Северная Осетия-Алания, Карачаево-Черкесская Республика, Республика Адыгея, народы которых, за исключением Республики Северная Осетия-Алания, исповедуют исламскую религию, запрещающую потребление свинины. По сообщению управления ветеринарии (А. Дукаев), в Чеченской Республике свиноголовье содержится в местах дислокации подразделений объединённой группировки войск пограничных отрядов, а в частных подворьях выращиванием свиней не занимаются. В этой зоне только в Республике Северная Осетия-Алания население, исповедующее православную религию, занимается свиноводством.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Начало формирования энзоотической зоны АЧС связано с появлением в ноябре 2007 года болезни среди популяции диких кабанов в Чеченской Республике и последующим её распространением в субъектах Северо-Кавказского региона.

Эти данные свидетельствуют о следующем:

- заболевание АЧС в популяции диких кабанов может в короткий срок распространиться на большой территории смежных субъектов, при этом домашние свиньи в этом процессе участие не принимают;

- первый случай заболевания АЧС домашних свиней зарегистрирован в Республике Северная Осетия-Алания. На момент появления болезни среди домашних свиней на территории России АЧС регистрировалась только среди диких кабанов в республиках Северного Кавказа, в том числе в Республике Северная Осетия-Алания, так что вероятный переход возбудителя АЧС из дикой фауны в популяцию домашних свиней практически неоспорим.

Отдельными учеными усиленно обсуждается факт появления в 2008 году в Ставропольском и Краснодарском краях АЧС среди домашних свиней в период, когда, согласно официальной отчётности, болезнь среди диких кабанов не регистрировалась. Следует обратить внимание этих ученых на следующие факты:

- на момент появления неблагополучных очагов в указанных регионах заболевание АЧС среди домашних животных имело место только в Республике Северная Осетия-Алания, при этом контактов между существующими и возникшими очагами специалистами не установлено;

- при появлении АЧС на территории России всё внимание специалистов было направлено на диагностику и ликвидацию АЧС среди домашних животных, методики мониторинга среди диких кабанов не было, и он практически не проводился, имевшимся случаям гибели диких кабанов не придавалось значение, не все случаи находили отражение в официальной отчётности.

В отчете информационно-аналитического центра Россельхознадзора за 2008 год в пояснительной записке о распространении АЧС указывается, что в 2008 году в Ставропольском крае АЧС зарегистрирована и в популяции диких

кабанов, и среди домашних свиней. Однако в официальной отчётности информация о заболевании диких кабанов не нашла отражения.

Об отсутствии мониторинговых исследований и недостоверной отчётности указывает О.Н. Петрова с соавторами: "псевдоблагополучная зона" сформировалась в регионе Северо-Кавказского федерального округа, где нет сообщений о заболевании. Однако нет никаких оснований считать, что эти регионы свободны от АЧС, так как мониторинговых исследований не проводилось" [9].

Следовательно, для объективной оценки требуются дополнительные расследования о сроках появления АЧС в популяции диких кабанов.

В период формирования этой энзоотической зоны зарегистрированы два случая выноса распространения болезни в 2008 году в Оренбургскую и в 2009 в Ленинградскую области.

Таким образом, при формировании южной энзоотической зоны четко прослеживаются три последовательных этапа:

1 этап

Появление в одном из субъектов благополучной по АЧС зоны болезни среди диких кабанов и быстрое её распространение на обширной территории смежных субъектов без участия в этом процессе домашних свиней

2 этап

На фоне распространения АЧС среди диких кабанов в эпизоотический процесс вовлекаются домашние свиньи

3 этап

Вынос возбудителя АЧС из очагов среди домашних свиней как внутри энзоотических зон, так и на территории "внеэнзоотических" зон по причине человеческого фактора (несвоевременная диагностика, нарушение карантинных мероприятий, бесконтрольное перемещение животных и продукции и т.д.).

Вынос возбудителя инфекции представляет опасность как для домашних свиней, так и для диких кабанов.

О роли диких кабанов в формировании энзоотических зон можно косвенно судить по характеру эпизоотического проявле-

ния болезни на территориях "внеэнзоотических зон" с заносным источником заболевания.

Эти данные свидетельствуют, что ни в одном из этих субъектов Российской Федерации, имеющем на своей территории популяцию диких кабанов, не произошло их заражение, а очаги АЧС среди домашних животных не стали причиной формирования энзоотических зон.

В то же время занос в 2017 году АЧС в Калининградскую область в популяцию диких кабанов вызвал широкое распространение болезни среди домашних свиней и диких кабанов. В течение 2018 года было зарегистрировано 56 очагов, в том числе 22 среди домашних свиней.

Основными параметрами, характеризующими энзоотические зоны, являются следующие:

- пусковым механизмом (катализатором) для формирования энзоотических зон являются заболевание и быстрое распространение АЧС среди диких кабанов с последующим вовлечением в этот процесс домашних животных;

- в субъектах энзоотической зоны, как правило, устанавливается стационарное неблагополучие по болезни среди диких кабанов;

- на фоне стационарного неблагополучия по АЧС среди диких кабанов эффективность мероприятий по ликвидации этой болезни остаётся на низком уровне, и неблагополучие субъектов сохраняется более 10 лет.

Периодически граница энзоотической зоны имеет тенденцию к расширению границ за счёт включения в неё соседних субъектов (Воронежская, Волгоградская, Астраханская области, Республика Калмыкия).

В период с 2011 по 2013 годы на территории Центрального федерального округа сформировалась вторая энзоотическая зона АЧС. Источником её формирования послужил занос возбудителя АЧС на территорию Тверской области в популяцию домашних свиней и диких кабанов в конце мая-июне 2011 года.

В последующие годы граница этой энзоотической зоны расширена за счёт

включения в неё Калужской, Рязанской, Псковской областей. Из существовавших энзоотических зон осуществлён вынос возбудителя АЧС в 16 субъектов внеэнзоотической зоны.

Представленные в Таблицах 1 и 5 данные свидетельствуют, что формирование энзоотических зон на территориях Северного Кавказа и Центрального федерального округа идентичны и осуществляется поэтапно:

-на первом этапе появившееся заболевание АЧС среди диких кабанов в Тверской области в течение 3 лет без участия в этом процессе домашних свиней распространилось на территории граничащих и смежных областей. О быстром распространении болезни среди диких кабанов на больших территориях отмечается В.В. Макаровым с соавторами: "Судя по интенсивности регистрации АЧС среди диких кабанов (локализация, хронология, последовательность вспышек) можно предположить, что в этом секторе ЦФО сформировался природный очаг инфекции с реальными типологическими характеристиками с паразитарной системой "дикие кабаны + вирус АЧС" замкнутого, двучленного, простого типа... Именно отсюда заболеваемость кабанов в 2012 и 2013 гг., уже не заносная, а индигенная, иррадиировала во все стороны, особенно в западном и северо-западном направлениях (Смоленская, Псковская, Новгородская, а также Ярославская, Московская, Владимирская области) и превысила таковую домашних свиней. В 2013-2014 гг. заболеваемость кабанов сместилась на юго-запад ЦФО (Брянская, Орловская, Калужская, Тульская области) и далее за пределы страны (Белоруссия, Польша, Прибалтика)" [7].

Во втором этапе практически во всех субъектах на фоне распространения АЧС среди диких кабанов в разные сроки болезнь переместилась в популяцию домашних свиней (Таблица 5).

На следующем этапе важную роль в распространении болезни сыграл вынос ее возбудителя из неблагополучных очагов домашних свиней по причине

"человеческого фактора" - несвоевременная диагностика, нарушение карантинных правил, бесконтрольное перемещение животных и продуктов, неудовлетворительная биологическая защита ферм, несанкционированные свалки и захоронение трупов и т.д. (Тверская, Московская, Смоленская, Псковская области).

По нашему мнению, в настоящее время в России по аналогичной схеме идёт формирование новых энзоотических зон на территориях Поволжья и Дальнего Востока.

Анализируя сроки появления заболевания в популяции диких кабанов в субъектах дальневосточной зоны, следует иметь в виду возможную их недостоверность по причине:

- во-первых, низкого обеспечения этого региона кадрами ветеринарных специалистов, вследствие чего не все случаи гибели кабанов находят отражение в ветеринарной отчётности;

- во-вторых, как правило, трупы диких кабанов обнаруживают значительно позже времени их гибели, и дата заболевания определяется датой проведения лабораторной экспертизы, значительно отодвигая истинную дату на более позднее время.

Не принимая во внимание эти факты, данные о распространении АЧС, представленные в Таблицах 6 и 7, свидетельствуют, что в большинстве субъектов первоначально заболели дикие кабаны, с последующим смещением этой болезни в популяцию домашних свиней, что даёт основания утверждать, что на этих территориях формируются энзоотические зоны со всеми вытекающими последствиями.

В течение 2012-2014 гг. АЧС была зарегистрирована в сопредельных с Россией зарубежных странах: Украина, Белоруссия, Польша, Литва, Латвия, Эстония. Руководителями ветеринарных служб этих стран в Международное эпизоотическое бюро представлены отчеты о заболевании диких кабанов и домашних свиней.

Таблица 1

Распространение АЧС среди диких кабанов и домашних свиней в республиках Северного Кавказа в 2007-2009 гг.

Наименование субъекта Российской Федерации	Количество выявленных неблагополучных пунктов					
	2007 год		2008 год		2009 год	
	Дикие кабаны	Домашние свиньи	Дикие кабаны	Домашние свиньи	Дикие кабаны	Домашние свиньи
Чеченская Республика	1	-	3	-	8	-
Республика Ингушетия	-	-	1	-	-	-
Кабардино-Балкарская Республика	-	-	1	-	1	-
Республика Дагестан	-	-	-	-	2	1
Республика Адыгея			-	-	1	-
Республика Северная Осетия-Алания	-	-	3	29	-	2

Согласно этим данным, а также публикациям ученых, первые случаи заболевания зарегистрированы среди диких кабанов, и только после некоторого времени болезнь регистрировалась у домашних свиней. Таким образом, как в России, так и в упомянутых зарубежных странах появление на благополучной территории африканской чумы среди диких кабанов служит пусковым механизмом для распространения болезни в популяции домашних свиней.

Несмотря на многочисленные факты, подтверждающие важную роль диких кабанов в распространении болезни среди домашних свиней и формировании энзоотических зон по АЧС, ряд ученых игнорируют этот факт, что дает повод природоохранным ведомствам препятствовать осуществлению радикальных мер по ликвидации АЧС в популяции дикого кабана и приводит к низкой эффективности противочумных мероприятий.

На правительственном уровне, различных совещаниях, в публикациях на первый план причин распространения АЧС выносятся "человеческий фактор", а роль диких кабанов рассматривается как вто-

ростепенная.

Информационно-аналитический центр Россельхознадзора, который является главным центром прогнозирования эпизоотий и оценки эффективности оздоровительных мероприятий, в отчете за 2013 год пишет: "В 2013 году сформировалась эндемичная по АЧС зона в Тверской области: заболевание не ликвидировано в течение трех лет и распространилось на соседние регионы. В отличие от южной эпидзоны, во вторичной эпидзоне вокруг Тверской области (северная эпидзона) существенное эпидзначение приобретают дикие кабаны. Является ли данный факт изменением резервуара инфекции или результатом диагностического смещения -неизвестно". Такое заключение полностью исключило роль диких кабанов в формировании энзоотической зоны АЧС в регионе СКФО и поставило под сомнение их участие при формировании энзоотической зоны в ЦФО.

В информационно-аналитическом обзоре С.Н. Дудников, О.Н. Петрова и др., рецензент К.Н. Груздев указывают: "То, что возбудитель африканской чумы свиней был занесён на территорию Рос-

Таблица 2

**Количество выносных очагов АЧС на территории России в 2008-2017 гг.
у домашних свиней/диких кабанов**

Субъект Российской Федерации	Год			
	2008, 2009	2011	2016	2017
Оренбургская область	1/0	1/0		
Ленинградская область	1/0	1/0		
Архангельская область		2/0		
Мурманская область		1/0		
Республика Карелия		1/0		
Республика Татарстан			1/0	
Пензенская область			5/0	
Вологодская область			7/0	
Красноярский край				1/0
Челябинская область				1/0
Тюменская область				1/0
Ямало-Ненецкий АО				1/0
Иркутская область				1/0
Омская область				29/0

Примечание: вынос возбудителя АЧС в Тверскую область рассмотрен ниже.

сийской Федерации дикими кабанов - неоспоримый факт. Однако, главенствующая роль этого фактора в дальнейшем распространении заболевания в стране сомнительна. Дикие кабаны (*Sus scrofa*) не могут быть носителями и распространителями возбудителя, особенно на значительные расстояния, так как АЧС протекает у них в острой форме со 100%-ным летальным исходом через 5-14 дней после заражения, что не позволяет животному преодолевать большие расстояния. Данные об эпизоотии в дикой фауне не являются полными из-за отсутствия возможности наблюдения за болезнью в популяции диких кабанов. Вероятно, болезнь распространяется шире, чем мы предполагаем. Достоверных, методически правильных мониторинговых исследований распространения заболевания в популяции диких кабанов не проводится ни в одном из регионов эндемичных по АЧС зон" [4].

Авторы А.С. Оганесян, М.А. Шибяев, А.К. Караулов и др., отмечая диффузный характер эпизоотии АЧС с выносными случаями на территориях различных

стран Евразии, утверждают: "Человеческий фактор, по всей вероятности, остаётся ведущим для территорий стран с развитым свиноводством, как было отмечено по результатам исследований, проводимых надзорными органами в ЕС, и по результатам анализа локальных и выносных вспышек на территории РФ. Вероятными причинами возникновения на новых территориях и локального распространения АЧС являются нелегальные перемещения (торговля свиньями и продуктами свиноводства между зонами риска, неавторизованные осознанные и неосознанные действия в ЛПХ и на свиноводческих предприятиях, высокая вероятность всплеска не прямых контактов домашней и дикой популяции за счёт антропогенного фактора в летний период" [8]. Таким образом, авторы считают, что "человеческий фактор" является ведущим при распространении болезни на новых территориях.

Об отсутствии роли дикого кабана в формировании энзоотичной зоны АЧС в ЦФО пишут авторы Н.С. Бардина, А.В. Варкентин, А.К. Караулов:

Таблица 3
Распространение АЧС среди диких кабанов в южной энзоотичной зоне

Субъект Российской Федерации	Год регистрации болезни
Краснодарский край	2009, 2010, 2012, 2013, 2015, 2016, 2019, 2020
Ростовская область	2009, 2010, 2011, 2013, 2014, 2021
Республика Адыгея	2009, 2010, 2011, 2019, 2020
Кабардино-Балкарская Республика	2008, 2009, 2015, 2016, 2019
Чеченская Республика	2007, 2008, 2009

"Нередко после первого выявления инфекции в регионе продолжали возникать все новые очаги АЧС, вплоть до признания заражённой территории эндемичной по данному заболеванию. Зачастую к распространению АЧС на ранее благополучных территориях приводит бесконтрольное содержание свиней, несоблюдение ветеринарно-санитарных правил, а также попытки хозяев скрыть заболевание животных, сопровождающиеся стихийными свалками трупов заражённых свиней в местах свободного доступа дикого кабана. Подобные случаи становятся причиной распространения АЧС в таких регионах, как, например, Тверская, Тульская, Московская области и другие субъекты Центрального федерального округа"[1].

Авторы О.Н. Петрова, С.А. Дудников и др. в основных причинах распространения АЧС роль дикого кабана даже не упоминают:

"Основные причины распространения АЧС:

- несвоевременное принятие мер по проведению противозооотических мероприятий в неблагополучных пунктах и угрожаемой зоне;

- нелегальные перевозки свиней и продукции свиноводства;

- отсутствие в Российской Федерации национальной системы, обеспечивающей идентификацию и учет животных и продукции животного происхождения;

- неупорядоченность, в смысле обеспечения безопасности деятельности владельцев ЛПХ, мелких свиноводческих ферм, мелких цехах мясопереработки, практически выведенная из-под надзора

госветслужбы;

- отсутствие скоординированных действий ветеринарных служб субъектов Российской Федерации и их направленность на обслуживание местных экономических интересов;

- не утверждена новая актуализированная для современных условий инструкция борьбы с АЧС. Имеются иные серьезные причины"[9].

В.В. Макаров А.С. Иголкини др. при анализе эпизоотической ситуации в субъектах Центрального федерального округа отмечают: "в этом секторе ЦФО сформировался природный очаг инфекции, ...заболевание прогрессивно концентрируется среди диких кабанов, этому во многом способствуют климато-географические и социально-экономические особенности зоны с аномально высокой популяционной плотностью этих животных,...значительно разрешающие возможности мониторинга за счёт внедрения в практику эффективных диагностических технологий (ПЦР).

Причины распространения и прогрессирующего преобладания заболеваемости АЧС диких кабанов в "западной" эпизоотической зоне неопределённые, прежде всего, потому что конкретные пути и факторы возникновения практически всех вспышек АЧС не подвергаются эпизоотологическому аналитическому исследованию, остаются неизвестными и регистрируются по состоявшемуся факту.

Отсутствие эпизоотической обособленности диких кабанов от домашнего свиноводства, контакты между антропургическими природным циклами неконтролируемы и непредсказуемы

Таблица 4

Количество неблагополучных пунктов по АЧСу домашних свиней/диких кабанов в субъектах энзоотичных зон

Субъект Российской Федерации	Год			
	2009	2010	2019	2020
Кабардино-Балкарская Республика	0/1	-	0/1	-
Ростовская область	20/1	25/6	1/0	1/0
Ставропольский край	7/2	1/0	1/0	2/0
Краснодарский край	1/4	10/8	0/1	1/1
Республика Калмыкия	3/0	1/0	-	0/1
Республика Адыгея	0/1	1/3	0/1	1/1
Воронежская область	-	1/0	-	4/1
Волгоградская область	-	7/0	10/2	3/1
Астраханская область	-	11/1	-	0/1

мы" [7]. Согласно этим выводам, на территории упомянутой зоны сложилась реальная угроза переноса африканской чумы свиней с популяции диких кабанов в популяцию домашних свиней, тем более что на тот момент единственным источником для заболевания домашних свиней были очаги среди диких животных.

Несмотря на это, авторы объясняют появление болезни среди домашних свиней следующими причинами: "...На территории Тверской и сопредельных областей сформировалась вторая, после юга, западная зона. Заболеваемость домашних свиней в хозяйствах всех категорий оставалась преимущественно экзогенной, интенсивность эпизоотического процесса имела характер спорадических вспышек без "привязанных" к отдельным инцидентам доказанных эпизодических связей, за счёт непреднамеренного или контрафактного непредсказуемого заноса извне с контаминированными объектами (продукты свиного происхождения, транспорт)" [7].

Однако позже В.В. Макаров подтвердил роль кабанов в распространении этой болезни: "На основании потока зарубежных аналитических публикаций следует, что кабан является единственным резервуаром инфекции. Не являются проблемой и редкие случаи вовлечения в эпизоотический процесс домашних свиней. Трудно представить, чтобы при таком паттерне эпизоотического процесса какую-то роль может

сыграть пресловутый человеческий фактор" [6].

Упомянутые в нашей статье публикации, искажающие истинную роль диких кабанов в распространении болезни, дали повод природоохранным ведомствам стать на позиции защиты дикого кабана от радикальных мер ликвидации африканской чумы в этой популяции животных.

На правительственном уровне, различных совещаниях, в средствах массовой информации широко обсуждается вопрос о непрофессиональном решении ветеринарных специалистов в части депопуляции и снижения численности поголовья дикого кабана в неблагополучных регионах.

Глава Минприроды С. Донской заявил: "Основной причиной распространения АЧС в России являются не дикие кабаны, а личные подсобные хозяйства, владельцы которых не сообщают о случаях падежа в надзорные органы. Ключевым направлением работы по профилактике распространения АЧС является усиление работы ветслужбы" (РИА Новости, 03.03.2020).

ФГБУ "Центрохотконтроль" подготовлен информационный обзор "Африканская чума свиней среди диких кабанов". Главный смысл обзора в том, что дикий кабан – жертва, а не источник распространения африканской чумы свиней.

Авторы считают основной причиной стремительного распространения заболе-

Таблица 5

Распространение АЧС среди диких кабанов и домашних свиней в субъектах Российской Федерации в 2012-2014 гг. и дата выявления первого случая заболевания (неблагополучные пункты)

Субъект Российской Федерации	2012		2013		2014		Дата заболевания	
	Дикие кабань	Домашние свиньи	Дикие кабань	Домашние свиньи	Дикие кабань	Домашние свиньи	Дикие кабань	Домашние свиньи
Тверская область	35	20	12	4	1	-	июнь 2011	май 2011
Московская область	1	-	17	10	4	1	ноябрь 2012	июль 2013
Тульская область	2	-	11	2	7	3	май 2012	август 2013
Новгородская область	5	-	-	-	2	-	май 2012	май 2016
Ярославская область	-	-	11	4	-	-	январь 2013	июль 2013
Владимирская область	-	-	2	-	-	-	август 2012	сентябрь 2015
Смоленская область	-	-	56	5	5	5	июнь 2013	июль 2013
Брянская область	-	-	-	-	4	1	январь 2014	февраль 2014

вания антропогенный фактор – нарушение санитарных и ветеринарных мер, отсутствие объективного учета поголовья в личных подсобных хозяйствах, межхозяйственные, транспортные связи и, главное – практика скармливания животным не обработанных должным образом пищевых отходов. Подобная тактика представителей природоохранных ведомств только подтверждает отсутствие единой выработанной стратегии и тактики действий. К сожалению, до настоящего времени продолжают публиковаться подобные статьи, исключающие возможность найти согласованное решение о роли диких кабанов, что реально препятствует разработке полноценного комплекса мер по искоренению АЧС на территории России.

А.А. Данилкина продолжает дискуссию о том, что кабан не является ведущим звеном в

распространении АЧС в России[5]. На чём основана доказательная база этого тезиса:

1. На чисто теоретических рассуждениях С.А. Дудникова, О.Н. Петровой и др., что "биологические особенности кабанов не позволяют им стать носителями и распространителями возбудителя АЧС на значительные расстояния, а роль кабанов в качестве резервуара не доказана".

Эти выводы не соответствуют фактическому распространению болезни на территории России.

По утверждению О.Н. Петровой, "бесхозяйственность, нарушение правил утилизации трупов, стихийные захоронения трупов павших от АЧС животных обеспечили занос инфекции в дикую фауну, что усугубило и без того неблагоприятную эпизоотическую обстановку". Такие факты могут иметь место

Таблица 6
Распространение и дата появления очагов АЧС среди диких кабанов и домашних свиней в отдельных субъектах Поволжской зоны

Субъект Российской Федерации	2019		2020		Дата первого выявления заболевания	
	Дикие кабаны	Домашние свиньи	Дикие кабаны	Домашние свиньи	Дикие кабаны	Домашние свиньи
Нижегородская область	6	4	9	4	август 2017	август 2017
Ульяновская область	2	2	1	-	июнь 2019	июль 2019
Чувашская Республика	-	-	1	-	август 2016	август 2016
Самарская область	-	-	40	41	январь 2020	февраль 2020
Республика Татарстан	-	-	3	0	декабрь 2020	2021 г.
Оренбургская область	6	4	9	4	ноябрь 2020	н/д

на энзоотических территориях, как правило, с широким распространением болезни среди домашних животных.

Но возникает вопрос: о какой бесхозяйственности, нарушении правил утилизации, несанкционированных захоронениях трупов больных животных идёт речь, если до появления болезни в популяции диких кабанов на территории их обитания не было ни одного очага АЧС среди домашних свиней (Республики Северного Кавказа, Московская, Тульская, Владимирская, Смоленская, Брянская, Нижегородская, Ульяновская, Самарская области, Хабаровский и Забайкальский края, Республики Чувашия, Татарстан и др.).

Аналогичная обстановка с распространением болезни на территориях стран Прибалтики и других стран Европы. Согласно официальным данным, до заболевания диких кабанов там не было ни одного очага АЧС среди домашних животных, что исключает их роль в переносе возбудителя в дикую фауну.

Автор приводит мнение Всемирной организации продовольствия и сельского хозяйства ООН (ФАО) о том, что "в России главным резервуаром вируса является свиноводческий сектор (ЛПХ и небольшие фермы) и что сезонная циркуляция вируса в популяциях диких кабанов является вторичным феноменом, то

есть инфекция передаётся, в основном, от домашних к диким свиньям, а не наоборот". Как правило, подобное мнение складывается из анализа отчётов государственных ветеринарных служб в Международное эпизоотическое бюро, в данном случае - из отчетов информационно-аналитического центра ФГБУ "ВНИИЗЖ", в составлении которых принимали участие С.А. Дудников, О.Н. Петрова и др. Надо отметить, что это мнение опубликовано в период, когда в европейских странах не было широкого распространения АЧС среди диких кабанов.

В тоже время автор не приводит мнение авторитетной "Постоянной группы экспертов по АЧС в Европе под эгидой GF-TADs", которая на основании фактического материала разработала "Руководство по африканской чуме свиней у диких кабанов и биобезопасности на охоте", в котором высказала прямо противоположное мнение: "Вирус АЧС в популяции дикого кабана в местах его обитания в Северной Европе самоподдерживается без участия домашних свиней и клещей.

...самый недавний этап в эволюции биологического цикла вируса АЧС и его географическое распространение связаны с формированием так называемого

Таблица 7

Распространение и дата появления очагов АЧС среди диких кабанов и домашних свиней в субъектах Дальневосточной зоны

Субъект Российской Федерации	2019		2020		Дата первого выявления заболевания	
	Дикие кабаны	Домашние свиньи	Дикие кабаны	Домашние свиньи	Дикие кабаны	Домашние свиньи
Приморский край	9	17	31	39	август 2019	июль 2019
Еврейская автономная область	5	9	1	16	сентябрь 2019	август 2019
Хабаровский край	1	-	9	22	декабрь 2019	август 2020
Амурская область	1	32	5	1	декабрь 2019	август 2019
Забайкальский край	-	-	1	2	июль 2020	июль 2020

цикла "дикий кабан-среда обитания". Эта новая система неуклонно расширяет свой ареал в Европе в значительной степени благодаря исключительной стабильности и устойчивости вируса АЧС в окружающей среде и в трупах животных. Цикл характеризуется постоянным присутствием вируса в поражённых популяциях дикого кабана, что представляет собой реальную угрозу для сектора свиноводства и управления дикими животными, а также для охотхозяйств. За последние четыре года АЧС стала эндемичной у дикого кабана на значительно больших территориях..." [10].

Такое однобокое освещение автором обсуждаемой проблемы некорректно.

Автор утверждает, что руководство Россельхознадзора считает основными причинами распространения АЧС нарушения, связанные с "человеческим фактором". В качестве доказательства приводится выдержка из доклада С.А. Данкверта от 21.10.2010.

В этом докладе проблема распространения АЧС представлена двумя слайдами: один - о путях распространения болезни и второй - о причинах, способствующих её распространению. Автором включено содержание второго слайда, а о первом слайде упоминания нет. Содержание именно первого слайда состояло в

том, что в период 2007-2010 гг. главный путь распространения АЧС определяли дикие кабаны и несанкционированные перевозки инфицированных животных и продукции свиноводства. Подобное искажение содержания докладов недопустимо и, по крайней мере, неэтично. Автор высказывает противоречивое мнение о целесообразности отстрела диких кабанов с целью снижения их численности. С одной стороны, он отмечает, что чем интенсивнее охотники регулируют численность диких кабанов, тем быстрее и шире распространяется вирус, и в тоже время, поддерживает мнение, что кабан не является резервуаром инфекции и не участвует в ее распространении. В итоге автор делает вывод, что в период эпизоотии численность кабана должна быть минимальной, при этом, каким путём это сделать - не предлагает.

По нашему мнению, реально существует два метода снижения численности популяции кабанов:

- первый - без участия человека сокращать поголовье за счёт естественной гибели, что приведет к массивному инфицированию через трупы павших животных больших территорий обитания кабана с последующим стационарным проявлением на них очагов АЧС в течение длительного времени;

- второй - одновременный организованный отстрел диких кабанов на неблагополучных и соседних территориях, это предотвратит вынос возбудителя и сведет к минимуму инфицирование внешней среды, что позволит в будущем успешно восстановить поголовье кабана.

Безоговорочное право выбора метода снижения численности кабана предоставлено ведомству, на которое государством возложена ответственность по предупреждению и ликвидации массовых болезней на территории страны.

Представленный автором анализ эпизоотической обстановки по распространению АЧС бессистемный и напоминает бухгалтерский отчет с манипуляцией количеством неблагополучных пунктов без указания времени, места и популяций животных, в которых они зарегистрированы.

В утвержденных "Ветеринарных правилах осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов африканской чумы свиней" (далее - Правила) просматривается явная тенденция защиты дикого кабана от радикальных мер борьбы с АЧС, отсутствие жестких требований по охране территорий охотхозяйств от заноса болезни и оснащению их объектами ветеринарно-санитарного назначения (места разделки туш, утилизации отходов, оборудование для сжигания трупов, условия для обработки одежды и охотничьего снаряжения и т.д.).

Если в эпизоотическом очаге среди домашних свиней всё поголовье, независимо от количества, подлежит уничтожению, то для дикого кабана это требование сформулировано следующим образом: "обеспечить отсутствие на территории эпизоотического очага диких кабанов путем регулировки их численности", то есть речь идёт не об отсутствии, а о присутствии их в количестве, установленном нормой регулирования.

Важную роль в эффективном проведении мероприятий играет правильное

определение территории зон, на которых вводятся ограничительные и запретительные меры. В Правилах эти зоны определены по единым критериям, и для домашних свиней, и для диких кабанов:

-эпизоотический очаг– ограниченная территория или помещение, в которых находятся источник возбудителя, факторы передачи возбудителя, и (или) свиньи, или дикие кабаны;

-угрожаемая зона– территория, прилегающая к эпизоотическому очагу, радиус которой составляет от 5 до 20 км;

-зона наблюдения– территория, прилегающая к угрожаемой зоне, радиус которой составляет от 10 до 100 км.

Для домашних свиней такие критерии определения территорий зон могут быть обоснованными, но для диких кабанов, ведущих подвижный образ жизни, перемещаясь по всей территории своего обитания, не обоснованы.

В сложившейся обстановке, когда АЧС диких кабанов в короткий срок распространяется на большие расстояния, вероятно, целесообразно рассмотреть следующие критерии определения территорий зон для диких кабанов:

- эпизоотический очаг– территория охотхозяйств, охотничьих угодий, где установлено заболевание;

- угрожаемая зона– вся территория субъекта Российской Федерации, на которой выявлен эпизоотический очаг;

- зона наблюдения– территории субъектов Российской Федерации, граничащих с территорией субъекта Российской Федерации, неблагополучного по АЧС дикого кабана.

Для каждой зоны необходимо разработать комплекс ограничительных и запретительных мер, предусмотрев в них радикальные меры по недопущению формирования энзоотичных зон АЧС.

Технологии содержания домашних свиней и диких кабанов существенно различаются, а меры борьбы специфичны, целесообразно меры для популяции диких кабанов изложить в Правилах самостоятельным разделом.

Существенным недостатком утвер-

жденных Правил является возложение ответственности за разработку и осуществление мер по борьбе с АЧС на ветеринарную службу субъектов, не имеющую единого органа управления на федеральном уровне.

В результате нет взаимодействия и согласованных мероприятий с соседними регионами, а принимаемые в субъектах программы существенно отличаются по набору мероприятий.

Роль федеральных ветеринарных структур (Департамент ветеринарии Минсельхоза России и Россельхознадзор) сведена к сбору информационного материала (ст. 22 Правил - информация о появлении подозрения на АЧС, ст.30 Правил - информация об установлении болезни, ст.34 Правил - копия постановления о наложении карантина).

Такой организационный уровень борьбы с АЧС и неполноценный комплекс мер по ликвидации болезни в популяции диких кабанов ставит под сомнение искоренение этой болезни на территории России в ближайшее время.

Для объективности необходимо отметить и другую оценку эффективности мер борьбы с АЧС в России. Так, авторы К.Н. Груздев, А.К. Караулов, А.С. Иголкин утверждают, что "в Российской Федерации разработан практический комплекс мер по профилактике и ликвидации АЧС, включающий нормативную базу на федеральном, региональном уровнях и работу на местах, доказавший свою эффективность в условиях борьбы с данным заболеванием свиней... опыт борьбы с АЧС в Российской Федерации можно рекомендовать другим неблагоприятным по АЧС странам, но с адаптацией его к местному социально-экономическому состоянию"[3].

Можно согласиться, что в стране действительно накоплен опыт ликвидации отдельных очагов АЧС в популяции домашних свиней, но нет опыта разработки и осуществления комплекса системных мер по искоренению этой болезни на территории страны, что подтверждается ежегодным ухудшением эпизоотической обстановки. Вероятно, такой опыт ещё предстоит нарабатывать и осваивать.

ВЫВОДЫ

- формирование энзоотичных зон по африканской чуме свиней происходит последовательно в три этапа с обязательным участием больных диких кабанов;

- противостояние Минприроды России и Минсельхоза России в вопросе о роли диких кабанов в распространении африканской чумы свиней и фальсификации отдельными учеными фактического материала по данному вопросу крайне негативно сказываются на разработке и осуществлении комплекса системных мер по искоренению АЧС на территории России.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ

- объединить усилия научных учреждений всех ведомств по изучению причин быстрого распространения на значительные расстояния АЧС в популяции дикого кабана и путей переноса возбудителя от дикого кабана в популяцию домашних свиней;

- пересмотреть и расширить ограничительные и запретительные меры для популяции диких кабанов на территориях различных зон, обратив особое внимание на радикальные меры предотвращения формирования энзоотичных зон по АЧС;

- восстановить государственную ветеринарную службу на всех уровнях административного деления (район, субъект Российской Федерации, Российская Федерация), с единственным органом управления в составе центрального аппарата Минсельхоза России с возложением на него ответственности за состояние ветеринарного дела в стране, в том числе за недопущение и ликвидацию массовых болезней животных.

About the mechanism of formation of enzootic (endemic) zones of African swine fever on the territory of Russia. Avilov V.M.1.- Doc.Vet. Sci., Corresponding Member of RAS,, Sochnev V.V. 1- Doctor of Veterinary Sciences, Corresponding Member RAS, Gusev A.A. 2-Doc. Vet. Scie., Corresponding Member RAS. 1- Nizhny Novgorod State Agricultural Academy, 2- Pokrovsky Plant of Biological Products

ABSTRACT

The Russian Federation is suffering from Afri-

can swine fever since november 2007. The main problem with African swine fever on the territory of the Russian Federation is determined by the formed enzootic zones and partially external cases of the disease on the administrative territories of the "non-enzootic zones". Despite the measures taken, the disease tends to spread annually. For the period 2007-2020, 1840 outbreaks of this disease were registered in Russia, including 1077 domestic pigs and 737 wild boars.

From our opinion, Russia has a unique opportunity in natural conditions to study the stages of the formation of the enzootic zone in the North Caucasus region. This territory is compactly located: the Chechen Republic, the Republic of Ingushetia, the Kabardino-Balkar Republic, the Republic of Dagestan, the Republic of North Ossetia-Alania, the Karachay-Cherkess Republic, the Republic of Adygea, where population, with the exception of the Republic of North Ossetia-Alania, confess the Islamic religion, which prohibits pork consumption.

In this article, based on the analysis of the epizootic situation from 2007-2020. an opinion was expressed on the mechanism of the formation of enzootic zones for African swine fever, as well as on the establishment of zones where the disease appears in order to introduce restrictive and prohibitive measures. The position on the role of wild boars in the formation of enzootic zones and the spread of infection was determined. The understanding of the mechanism of formation of enzootic zones is the basis for the development of effective measures to eradicate African swine fever in Russia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н.С. Бардина, А.В. Варкентин, А.К. Караулов "Обзор эпизоотической ситуации по некоторым инфекционным болезням животных в Российской Федерации в 2018 г.", "Ветеринария сегодня", сентябрь, № 3, 2019, стр. 46
2. К.Н. Груздев, Н.В. Лебедев и др. "Начало эпизоотии африканской чумы свиней в странах Евросоюза (ЕС)", "Ветеринария сегодня", июнь, № 2, 2017, стр. 46-48
3. К.Н. Груздев, А.К. Караулов, А.С. Иголкин "Опыт борьбы с африканской чумой свиней в Российской Федерации и его значение для других стран", "Ветеринария сегодня", март, № 1, стр. 43

4. С.А. Дудников, О.Н. Петрова и др. "Африканская чума свиней в популяции диких кабанов в Российской Федерации (2007-2012 гг.)", Владимир, 2013 г.
5. А.А. Данилкин "О роли кабана и человека в эпизоотии африканской чумы свиней в Российской Федерации", "Вестник охотоведения", 2021 г., том 18, № 1, стр. 54-61
6. В.В. Макаров "О роли кабанов в эпизоотологии африканской чумы свиней в Российской Федерации", "Вестник охотоведения", 2020, том 17, № 4, стр. 302
7. В.В. Макаров, А.С. Иголкин и др. "О некоторых моментах текущей эпизоотологии африканской чумы свиней", "Вестник охотоведения", 2015, том 12, № 1, стр. 61-65
8. А.С. Оганесян, М.А. Шибасев и др. "Эпизоотия африканской чумы свиней 2007-2017 гг.", "Ветеринария сегодня", июнь, № 2, 2018, стр. 24
9. О.Н. Петрова, С.А. Дудников и др. "Африканская чума свиней в Российской Федерации в 2011 г.", Федеральный центр охраны здоровья животных, стр. 6
10. Группа экспертов под эгидой GF-TADs "Руководство по африканской чуме свиней у диких кабанов и биобезопасность на охоте", стр. 7, 21
11. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации годы 2008, 2009, 2010, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, Раздел АЧС, Информационно-аналитический центр Россельхознадзора
12. Приказ Минсельхоза России от 28.01.2021 № 37 "Об утверждении Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов африканской чумы свиней", зарегистрирован в Минюсте России 29.01.2021, регистрационный № 62282

УДК 619: 576.893.192.1; 611.018.54
DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.39

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЦЫПЛЯТ ПРИ СОЧЕТАННОЙ ИММУНИЗАЦИИ АТТЕНУИРОВАННЫМИ ВАКЦИНАМИ ПРОТИВ ЭЙМЕРИОЗА

Фролова О.А. – асп. каф. анатомии, патологической анатомии и хирургии, Донкова
Н.В.-д. вет. н., проф.
ФГБОУ ВО "Красноярский ГАУ"

Ключевые слова: плазма крови, биохимическое исследование, цыплят а-бройлеры, вакцинация, инвазирование, эймериоз, корреляция, гиперурикемия. **Key words:** blood plasma, biochemical research, broiler chickens, vaccination, infestation, eimeriosis, correlation, hyperuricemia.



РЕФЕРАТ

Эймериоз сельскохозяйственной птицы был и остаётся серьёзной проблемой для промышленного птицеводства, снижающей показатели выращивания птицы и увеличивающей экономические затраты. Исследования проведены в 2020-2021 гг. на кафедре анатомии, патологической анатомии и хирургии ФГБОУ ВО "Красноярский ГАУ" в рамках научно-исследовательской работы кафедры по направлению: сравнительная характеристика вакцин, применяемых при эймериозе кур, и в КГКУ "Краевая ветеринарная лаборатория". Объектом исследования были цыплята-бройлеры кросса Росс-308. Основные методы исследования – биохимическое исследование плазмы крови птиц. Задачи исследования: провести эксперимент, в котором у интактных и опытных цыплят, вакцинированных в 14 дней живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза, проанализировать биохимические показатели плазмы крови. По сравнению с интактной группой обнаружено статистически значимое уменьшение в 1 опытной группе альбумина на 30 % ($p \leq 0,01$) и увеличение общего билирубина на 7 % ($p \leq 0,05$), во 2 опытной группе – уменьшение общего билирубина на 10,5 % и холестерина на 9,7 % ($p \leq 0,05$), в 3 опытной группе (сочетанная вакцинация) – снижение триглицеридов на 14 %, альбуминов на 17 %, холестерина на 14 % ($p \leq 0,01$), увеличение хлоридов на 15,6 % ($p \leq 0,05$). Выявлена выраженная положительная статистически значимая ($p < 0,05$) корреляция между мочевой кислотой и холестерином (0,699) в 1 опытной группе, что можно рассматривать в контексте распада клеток и синтеза мочевой кислоты из гуанина и аденина разрушающейся ДНК. А статистически значимая взаимосвязь между хлоридами и альбумином (0,695) в 3 опытной группе (сочетанная вакцинация), позволяет рассценивать увеличение хлоридов как следствие воспалительных процессов в желудочно-кишечном тракте цыплят.

ВВЕДЕНИЕ

Кровь птиц состоит из плазмы и форменных элементов. В плазме содержатся химические вещества, которые находятся в относительном равновесии с межклеточной жидкостью тканей. Определение биохимических показателей плазмы име-

ет диагностическое, терапевтическое и прогностическое значение. Концентрация химических компонентов в крови изменяется в зависимости от физиологического состояния птиц, их рациона и условий содержания [4].

Цель исследования: изучить биохимические показатели плазмы крови цыплят в возрасте 35 дней, вакцинированных в 14 дней живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза.

Задачи исследования:

– провести эксперимент, в котором у интактной и опытных, вакцинированных в 14 дней, живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза, групп цыплят кросса Росс-308 проанализировать биохимические показатели плазмы крови.

Новизна исследования состоит в изучении действия сочетанной иммунизации живыми аттенуированными вакцинами против эймериоза на биохимические показатели плазмы крови цыплят-бройлеров.

По мнению к.б.н. В.Н. Афонюшкина (СФНЦА РАН, неопубликованные данные) проблемы с эймериозами в РФ заключаются, в том числе, в риске восстановления патогенности вакцинных штаммов при использовании разных вакцин в условиях одного хозяйства и эволюции эймерий в направлении роста интенсивности экссудативных процессов в кишечнике птицы. Смещение вакцинных штаммов эймерий на одной площадке может привести к усилению их вирулентности (реверсия патогенности на основе комплементации генов) и спровоцировать заболевание с.-х. птицы. В литературе нет научных работ "обосновывающих отсутствие рисков повышения патогенности вакцинных штаммов при их смешивании друг с другом, то есть, когда ветеринарный врач хозяйства последовательно пробует вакцины разных производителей" [2]. Комплектование хозяйств яйцом или птицей из разных источников также чревато заносом новых штаммов эймерий. О возможности "расширить видовой состав эймерий, циркулирующих на птицефабрике, при использовании вакцин, содержащих виды не актуальные для данной географической зоны" пишут М.А. Кашеева [6] и С.А. Руденко [11].

Но, В.Е. Диковская и др. опытным путём, после проведения 6 неселективных пассажей аттенуированного штамма E.

tenella, полученного посредством селекции с сокращением препатентного периода, выяснили, что E. tenella не изменили вирулентные и репродуктивные свойства, что свидетельствует, по мнению авторов, об отсутствии тенденции к реверсии и стабильности аттенуированного штамма [5].

Кроме того, широкое распространение кишечных вирусных инфекций, сопровождающихся диареей, повышает влажность подстилки, что способствует росту инвазированности эймериозом [2], поэтому изучение последствий совместного действия вакцин против эймериоза в одном организме является актуальным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в 2020-2021 гг. на кафедре анатомии, патологической анатомии и хирургии ФГБОУ ВО "Красноярский ГАУ" в рамках научно-исследовательской работы кафедры по направлению: сравнительная характеристика вакцин, применяемых при эймериозе кур, и в КГКУ "Краевая ветеринарная лаборатория".

Объектом исследования были цыплята-бройлеры кросса Росс-308. Основным методом исследования выбрано биохимическое исследование плазмы крови птиц.

Для проведения эксперимента было сформировано по принципу аналогов 4 группы цыплят-бройлеров кросса Росс-308: интактная и 3 опытных группы. В возрасте 14 дней цыплят опытных групп вакцинировали против эймериоза птиц в дозах согласно инструкции: 1 опытная группа получила вакцину "Эвалон", 2 опытная – "Эймериавакс 4М", а 3 опытная – смесь этих двух вакцин.

От цыплят каждой группы в возрасте 35 дней взяли пробы крови утром натощак из подкрыльцовой вены с соблюдением правил асептики в пробирки с литий гепарином, перемешали, не вспенивая. Плазму от форменных элементов крови отделяли центрифугированием в течение 10 мин при ускорении 805 g [9] с помощью лабораторной центрифуги ОПн-8.

Биохимическое исследование плазмы крови проводили на фотометре лабора-

торном "BioChem SA" с помощью наборов биохимических реагентов "ДиаВетТест", производства АО "Диакон-ДС", Россия [10]. Перед началом исследований контролировали работу фотометра и качество реагентов с помощью калибраторов TruLab N и TruLab P, DiaSys, Германия. Плазму и реагенты смешивали в микропробирках типа Эппендорф. При исследовании плазмы на общий билирубин использовали фотометрический тест с 2,4-дихлоранилином (ДХА), на альбумин – с бромкрезоловым зеленым, на кальций – с о-крезолфталеином (ОКФ), на мочевую кислоту – с 2,4,6-трибром-3-гидроксibenзойной кислотой (ТВНВА), на хлориды – с тиоцианатом ртути, на холестерин – ферментативный фотометрический тест (CHOD-PAP), на триглицериды – GPO-PAP. Для поддержания температуры растворов плазмы крови с реагентами на уровне $37,0 \pm 0,5$ °C использовали термостат SA-18. Было исследовано 45 проб: 15 – интактная группа и по 10 – из каждой опытной группы.

Статистическую обработку, полученных в ходе экспериментальных исследований данных, проводили с помощью пакета анализа программы Microsoft Office Excel [8]. Статистическую значимость различий выявляли с помощью методов вариационной и непараметрической статистики, с определением средних величин и их простых ошибок ($M \pm m$), метода Манна-Уитни [13, 14]. Различия считали статистически значимыми, если вероятность случайности не превышала 5 % ($p < 0,05$).

Для измерения степени сопряженности между варьирующими признаками проводили корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Пирсона (r) [7] и Спирмена [12].

Связь между признаками считали очень слабой при $r < 0,2$; при $0,2 \leq r \leq 0,5$ – слабой; при $0,5 \leq r \leq 0,7$ – средней; при $0,7 \leq r \leq 0,9$ – высокой (сильной) и при $r > 0,9$ – очень высокой (сильной), близкой к функциональной. При отрицательном значении r связь между признаками считали обратной.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как следует из таблицы 1, по сравнению с интактной группой, в плазме крови цыплят 1 опытной группы статистически значимо ($p \leq 0,01$) было меньше на 30 % альбуминов и на 7 % – больше общего билирубина ($p \leq 0,05$).

В плазме крови цыплят 2 опытной группы статистически значимо ($p \leq 0,05$) было меньше на 10,5 % общего билирубина, на 9,7 % – холестерина.

В плазме крови цыплят 3 опытной группы (сочетанная иммунизация) статистически значимо ($p \leq 0,01$) было меньше триглицеридов на 14 %, альбуминов на 17 %, холестерина на 14 %, статистически значимо ($p \leq 0,05$) было больше хлоридов на 15,6 %.

Остальные биохимические показатели статистически значимо не различались.

По данным таблицы 2 мы видим, что у цыплят 1 опытной группы выявлена статистически значимая ($p < 0,05$) положительная корреляционная зависимость между мочевой кислотой и холестерином (0,699).

В 3 опытной группе (сочетанная иммунизация) – положительная статистически значимая ($p < 0,05$) корреляционная зависимость между альбумином и хлоридами. Между остальными показателями статистически значимых соотношений не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Бройлеры характеризуются активными обменными процессами. По сравнению с интактной группой цыплят уровень кальция и хлоридов был повышен во всех опытных группах.

Уровень триглицеридов, холестерина, мочевой кислоты и общего билирубина, по сравнению с интактной группой, был незначительно повышен в 1 опытной группе и понижен во 2 и 3 опытных группах.

Уровень альбумина был понижен во всех опытных группах по сравнению с интактной группой цыплят. Альбумин – основная группа белков здоровой птицы, это переносчик молекул витаминов, минералов, гормонов и жирных кислот. Понижение уровня альбумина может наблю-

Таблица 1
Результаты биохимического исследования плазмы крови цыплят

Показатель	Кальций ммоль/л	Мочевая кислота мкмоль/л	Триглице- риды ммоль/л	Общий билирубин мкмоль/л	Хлориды ммоль/л	Альбумин г/л	Холесте- рин ммоль/л
Интактная группа							
M±m	1,77±0,17	297,2±24,1	0,74±0,02	43,58±1,88	111,94±4,07	24,44±1,18	4,56±0,19
S	0,66	93,2	0,09	7,28	15,76	4,57	0,72
Cv	37,33	31,35	12,14	16,71	14,08	18,71	15,78
1 опытная группа							
M±m	3,09±0,46	369,28±51,03	0,78±0,04	45,60±0,79	116,16±3,53	17,01±1,60	4,62±0,38
S	1,37	153,09	0,11	2,36	10,59	4,79	1,15
Cv	44,35	41,46	14,39	5,17	9,12	28,18	24,85
Укрит. Манна- Уитни к интакт. гр.				p<0.05		p<0.01	
2 опытная группа							
M±m	2,06±0,17	217,3±27,46	0,65±0,04	39,02±2,53	119,85±4,44	20,84±1,01	4,12±0,22
S	0,55	86,83	0,14	8,00	14,03	3,20	0,69
Cv	26,75	39,96	20,96	20,80	11,70	15,34	16,68
Укрит. Манна- Уитни к интакт. гр.				p<0.05			p<0.05
3 опытная группа (сочетанная иммунизация)							
M±m	2,53±0,30	271,98±40,13	0,64±0,03	43,55±1,34	129,51±9,96	20,30±0,82	3,91±0,12
CS	0,89	120,41	0,01	4,02	29,90	2,46	0,37
Cv	35,32	44,27	15,55	9,22	23,08	12,12	9,37
Укрит. Манна- Уитни к интакт. гр.			p<0.01		p<0.05	p<0.01	p<0.01

даться при сниженном синтезе этого белка, например, при хронических воспалительных заболеваниях, повышенной потере альбумина из-за внутренних паразитов или болезни желудочно-кишечного тракта [1]. По мнению Э.И. Ахмедова к снижению количества альбуминов в крови приводит воздействие в кишечнике птицы *Eimeria tenella* [3]. Кроме того, белки острой фазы, куда входит и альбумин, уменьшаются при воспалении. Уменьшение количества этого белка используют как маркер воспаления. Физиологическая роль снижения синтеза альбумина может заключаться в сохранении аминокислот для более эффективного производства других белков острой фа-

зы. Следовательно, можно предположить, что в группе цыплят, где использовали вакцинацию смесью двух вакцин, наличие устойчивой взаимосвязи между альбумином и хлоридами указывает на наличие воспалительных процессов в кишечнике, вызванных действием возбудителей эймериоза.

D.K. Mondal et al. при биохимическом исследовании плазмы крови цыплят, зараженных полевыми изолятами *Eimeria tenella*, также выяснили, что изменения характеризуются катаболизмом белка, увеличением уровня холестерина с последующим снижением концентрации триглицеридов [15].

В качестве профилактики рисков реверсии патогенности эймерий при смене

Таблица 2
Расчёт корреляции по Спирмену биохимических показателей крови цыплят

Показатель	Мочевая кислота, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Общий билирубин, ммоль/л	Хлориды, ммоль/л	Альбумин, г/л	Холестерин, ммоль/л
Интактная группа						
Кальций	-0,584	-0,430	-0,180	-0,544	-0,520	-0,817
Мочевая кислота		0,061	0,290	0,755	0,345	0,653
Триглицериды			-0,340	-0,105	0,126	0,278
Общий билирубин				0,560	0,605	-0,148
Хлориды					0,444	0,415
Альбумин						0,438
1 опытная группа						
Кальций	0,279	-0,033	-0,263	-0,373	-0,036	0,069
Мочевая кислота		-0,278	0,710	-0,604	-0,172	0,699*
Триглицериды			0,077	0,729	-0,473	0,078
Общий билирубин				0,037	-0,011	0,726
Хлориды					0,171	-0,018
Альбумин						0,050
2 опытная группа						
Кальций	0,607	0,637	0,707	0,096	0,480	0,604
Мочевая кислота		0,419	0,674	0,056	0,445	0,242
Триглицериды			0,687	0,661	0,780	0,427
Общий билирубин				0,127	0,447	-0,026
Хлориды					0,607	0,277
Альбумин						0,351
3 опытная группа (сочетанная иммунизация)						
Кальций	0,062	0,133	-0,162	-0,126	-341,000	0,630
Мочевая кислота		-0,584	-0,404	-0,171	-0,589	0,288
Триглицериды			0,269	-0,170	0,253	-0,157
Общий билирубин				-0,270	-0,101	-0,078
Хлориды					0,695*	0,099
Альбумин						-0,012

* $p < 0,05$ – зависимость признаков статистически значима по Спирмену

вакцины можно рекомендовать использовать химические (синтетические) кокцидиостатики, которые резко снижают численность кокцидий, блокируют выход паразитов во внешнюю среду и создают высокий уровень защиты внутренних органов птицы.

ВЫВОДЫ

По сравнению с интактной группой цыплят обнаружено статистически значи-

мое ($p \leq 0,01$) уменьшение в 1 опытной группе альбумина на 30 % и увеличение общего билирубина на 7 % ($p \leq 0,05$).

В плазме крови цыплят 2 опытной группы выявлено статистически значимое ($p \leq 0,05$) уменьшение общего билирубина на 10,5 % и холестерина на 9,7 %.

В плазме крови цыплят 3 опытной группы, где применялась сочетанная вакцинация против эймериоза птиц, – стати-

стически значимое ($p \leq 0,01$) снижение триглицеридов на 14 %, альбуминов на 17 %, холестерина на 14 %, увеличение хлоридов на 15,6 % ($p \leq 0,05$).

При корреляционном анализе обнаружена выраженная положительная статистически значимая ($p < 0,05$) взаимосвязь между мочевой кислотой и холестерином (0,699) в 1 опытной группе, что можно рассматривать в контексте распада клеток и синтеза мочевой кислоты из гуанина и аденина разрушающейся ДНК.

А выраженная положительная статистически значимая ($p < 0,05$) взаимосвязь между хлоридами и альбумином (0,695) в 3 опытной группе цыплят, вакцинированных сочетанной вакциной, позволяет рассуждать увеличение хлоридов как следствие воспалительных процессов в организме цыплят.

Из всего вышеизложенного можно сделать вывод, что целесообразно не допускать одновременного использования разных противоземриозных вакцин на одной птицеводческой площадке, до тех пор, пока факт передачи генов патогенности при половом размножении не будет опровергнут с использованием методов полногеномного секвенирования.

Biochemical changes in blood plasma of broilers at combined vaccination with attenuated vaccines against eimeriosis. O.A. Frolova – Post-Graduate Student, Chair of Anatomy, Pathological Anatomy and Surgery, Donkova N. V. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Krasnoyarsk State Agrarian University.

ABSTRACT

Eimeriosis of poultry has been and remains a serious problem for the industrial poultry industry, reducing the production of poultry and increasing economic costs. The studies were carried out in 2020-2021. at the Department of Anatomy, Pathological Anatomy and Surgery of the FSBEI VO "Krasnoyarsk GAU" in the framework of the research work of the department in the direction: comparative characteristics of vaccines used for eimeriosis of chickens, and at the KSKU "Regional Veterinary Laboratory". The object of the study was broiler chickens of the Ross-308 cross. The main research

methods are biochemical research of blood plasma of birds. Research objectives: to conduct an experiment in which intact and experimental chickens vaccinated at 14 days with live attenuated vaccines against eimeriosis, analyze the biochemical parameters of blood plasma. Compared with the intact group, a statistically significant decrease in albumin by 30% ($p \leq 0,01$) and an increase in total bilirubin by 7% ($p \leq 0,05$) were found in experimental group 1, in experimental group 2 - a decrease in total bilirubin by 10, 5% and cholesterol by 9.7% ($p \leq 0,05$), in experimental group 3 (combined vaccination) - a decrease in triglycerides by 14%, albumin by 17%, cholesterol by 14% ($p \leq 0,01$), an increase chlorides by 15.6% ($p \leq 0,05$). A pronounced positive statistically significant ($p < 0,05$) correlation was found between uric acid and cholesterol (0.699) in experimental group 1, which can be considered in the context of cell decay and the synthesis of uric acid from guanine and adenine of degrading DNA. A statistically significant relationship between chlorides and albumin (0.695) in the 3rd test group (combined vaccination) allows us to regard the increase in chlorides as a consequence of inflammatory processes in the gastrointestinal tract of chickens.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амиров, Д.Р. Клинико-инструментальные методы исследования и лабораторная диагностика при незаразной патологии птиц / Д.Р. Амиров, О.А. Грачева, Б.Ф. Тамимдаров, А.Р. Шагеева / Казань: Центр информационных технологий ФГБОУВО Казанская ГАВМ. – 2015. – С. 21.
2. Андреева, Ю.Н. Кокцидиоз: вопросы диагностики, лечения и профилактики / Ю.Н. Андреева, Е.А. Сканчева, Т.Г. Титова [и др.] // БИО. – 2017. – № 2(197). – С. 30-33.
3. Ахмедов, Э.И. Оценка состояния организма цыплят по биохимическим показателям в период лечения экспериментального эймериоза (*Eimeria tenella*) / Вестник БГУ. – Сер. 2. – 2014. – № 1. – С. 35-39.
4. Васильева, Е.А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных. – М.: Россельхозиздат. – 1982. – С. 4-7.
5. Диковская, В.Е. Вирулентные и репро-

- дуктивные свойства аттенуированного штамма *Eimeria tenella* / В.Е. Диковская, И.М. Бирюков, Е.А. Симонова // Национальная ассоциация ученых (НАУ). – 2019. – № 50. – С. 19-22.
- 6.. Кащеева, М.А. Обзор вакцин против эймериоза кур, представленных на Российском рынке / М.А. Кащеева, Ф.И. Василевич // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 3. – С. 35-37.
- 7.. Коэффициент корреляции Пирсона (r-Пирсона) [Электронный ресурс]. URL: <https://www.eztests.xyz/criteria/pearsonr/> (Дата обращения 25.04.2021).
- 8.. Лебедев, Е.Я. Биометрия в MS Excel: Учебное пособие / Е.Я. Лебедев, А.М. Хохлов, Д.И. Барановский, О.М. Гетманец // СПб.: Издательство "Лань". – 2018.
- 9.. Методические указания по применению унифицированных биохимических методов исследований крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. ГУВ МСХ СССР Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина. Отделение ветеринарии. Москва. – 1981.
- 10.. Методические рекомендации по применению наборов реагентов "ДиаВетТест" для биохимических исследований сыворотки (плазмы) крови животных на полуавтоматическом анализаторе. – М.: Россельхознадзор. – 2018.
- 11.. Руденко, С.А. Кокцидиоз: актуальные вопросы стратегии и тактики борьбы с паразитарной инвазией. – БИО. – 2020. – № 11(242). – С. 24-27.
- 12.. Сайт "Медицинская статистика" Расчет критерия корреляции Спирмена (онлайн калькулятор). [Электронный ресурс]. URL: <https://medstatistic.ru/calculators/calcspirmen.html>. (Дата обращения 25.04.2021).
- 13.. Степанов, В.Г. Применение методов непараметрической статистики в исследованиях сельскохозяйственной биологии и ветеринарной медицины: Учебное пособие. СПб.: Издательство "Лань". – 2019. – С. 27-32.
- 14.. U-критерий Манна-Уитни [Электронный ресурс]. URL: <https://www.eztests.xyz/criteria/mann-whitney/> (Дата обращения 25.04.2021).
- 15.. Mondal D.K., Chattopadhyay S., Batabyal S., Bera A.K., Bhattacharya D. Plasma biochemical indices at various stages of infection with a field isolate of *Eimeria tenella* in broiler chicken // *Veterinary World*. – 2011. – Vol. 4, N 9. – P. 404-409.

УДК: 619:616.98:578.828.11:636.22/.28

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОДНОВРЕМЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЛЕЙКОЗА И ИММУНОДЕФИЦИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Усольцев К.В. - канд. вет. наук, вед. науч. сотр., Горбунова М.Е. – мл. науч. сотр., Сафина Р.Ф. – асп., Шангараев Р.И. - канд. вет. наук, мл. науч. сотр., Сальманова Г.Р. – асп., Осянин К.А. - канд. биол. наук, зав. отд. биохимии и генетического анализа, Фаизов Т.Х. - д-р вет. наук, зав. лаб. молекулярно-генетического анализа, Хаммадов Н.И. - канд. биол. наук, вед. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный центр радиационной, токсикологической и биологической безопасности»

Ключевые слова: возбудитель лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС), возбудитель иммунодефицита крупного рогатого скота (ВИ КРС), полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ), энзоотический лейкоз, дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), геном. **Key words:** bovine leukemia virus (BLV), bovine immunodeficiency virus (BIV), real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), enzootic leukemia, deoxyribonucleic acid (DNA), genome.



РЕФЕРАТ

Статья описывает процесс разработки способа одновременной генетической идентификации нуклеиновых кислот вирусов лейкоза (ВЛ) и иммунодефицита (ВИ) крупного рогатого скота (КРС). При создании данного способа были использованы ранее разработанные праймерные комбинации к провирусным ДНК ВЛ КРС, ВИ КРС и ДНК КРС. Для контроля амплификации были созданы два положительных контрольных образца (ПКО), представляющие собой рекомбинантные генетические конструкции на основе плазмиды pALT2 со встроенными специфичными нуклеотидными последовательностями участков провирусной ДНК ВЛ КРС и ВИ КРС. Подобран оптимальный температурно-временной режим и экспериментально доказана его работоспособность. Методом десятикратных разведений рекомбинантных плазмид, несущих специфичные гены ВЛ КРС и ВИ КРС, определена минимальная чувствительность, которая составила 1 – 3 молекул ДНК в 1 мкл реакционной смеси для генов обоих возбудителей. Также в результате проведения ПЦР с образцами гетерогенной и гомогенной ДНК доказана высокая специфичность разработанного способа. Практическая значимость и работоспособность разработанного способа подтверждены исследованиями образцов крови КРС, полученных от больных и здоровых животных, из животноводческих хозяйств неблагополучных по лейкозу. Предложенный способ позволяет одной реакцией и в одной реакционной смеси обнаруживать и идентифицировать провирусную ДНК ВЛ КРС и ВИ КРС одновременно.

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации энзоотический лейкоз является наиболее распространенной инфекцией. Так, по данным Россельхознадзора, в 2019 году энзоотический лейкоз занимал первое место по количеству заболевших животных (20266

особей) [21]. Ущерб, причиняемый лейкозом КРС, обусловлен снижением продуктивности животных [5, 6], преждевременной выбраковкой больного лейкозом скота [2], уменьшением приплода и потерей его племенной ценности (ограничениями в реализации), перево-

дом племенных животных в категорию товарных, затратами на проведение ветеринарно-санитарных и зоотехнических мероприятий.

По существующим правилам борьбы с лейкозом КРС [20], основным методом, по которому определяют факт инфицированности животных возбудителем лейкоза КРС (ВЛ КРС), является реакция иммунодиффузии (РИД). Это достаточно простой и дешёвый метод диагностики лейкоза, однако обладающий некоторыми недостатками, такими как субъективность, длительность постановки анализа (до 48 часов) и недостаточная чувствительность по сравнению с молекулярно-генетическими методами [1].

Согласно новым ветеринарным правилам по профилактике и ликвидации лейкоза [22] к узаконенным методам лабораторной диагностики добавился иммуноферментный анализ. Данный метод является более чувствительным и специфичным по сравнению с РИД, и он успешно адаптируется под различные автоматизированные системы проведения анализа, что значительно сокращает время постановки ИФА и снижает возможность ошибки исследователя. Однако следует понимать, что процесс антителообразования имеет волнообразный характер и зависит от возраста, физиологического состояния организма животного, условий кормления и других факторов [3]. Поэтому, при лабораторной диагностике энзоотического лейкоза важно комбинировать серологические и молекулярно-генетические методы анализа, такие как ПЦР. ПЦР является высокочувствительным методом анализа и позволяет обнаруживать непосредственно провирусную ДНК возбудителя в исследуемой пробе. Данный метод позволяет выявлять возбудителя в организме уже на первых неделях жизни телят в отличие от серологической диагностики (РИД, ИФА), при которой устойчивые результаты анализов получаются к 6-ти месячному возрасту [4]. Кроме того, ПЦР позволяет надежно обнаруживать возбудителя лейкоза КРС в начале инкубационного периода, когда в

крови животного ничтожный уровень специфических антител. Также метод ПЦР можно успешно адаптировать к автоматизированным системам проведения анализа, начиная с момента пробоподготовки и кончая детекцией результатов.

Также следует заметить, что часто энзоотический лейкоз протекает в виде смешанной ретровирусной инфекции [5, 6, 11]. В качестве ко-инфекции при основном заболевании выступает иммунодефицит крупного рогатого скота. Возбудителем этой инфекции является вирус иммунодефицита КРС (BIV), относящийся к семейству Retroviridae и роду Lentivirus [24, 25]. К последнему, помимо BIV и HIV (вирус иммунодефицита человека), относятся вирусы инфекционной анемии лошадей (EIAV), артрита-энцефалита коз (CAEV), иммунодефицита кошек (FIV) и иммунодефицита обезьян (SIV) [15, 24, 25]. Вирус иммунодефицита КРС может вызывать латентную инфекцию, взаимодействуя с такими иммунокомпетентными клетками, как Т-лимфоциты, моноциты и нейтрофилы [15]. Воздействуя на данные клетки, вирус иммунодефицита может привести к нарушению иммунного ответа организма на различные инфекционные агенты [16, 18, 19, 20]. Поражая иммунокомпетентные клетки, вирус иммунодефицита КРС при смешанной инфекции с вирусом лейкоза КРС может усиливать патогенное действие последнего на организм животного [11].

В связи с вышеизложенным, целью данной работы было создание способа одновременной идентификации возбудителей лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота на основе метода мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали две рекомбинантные плазмиды на основе плазмиды рAL2-T. Одна плазида содержала участок идентичный провирусной ДНК возбудителя лейкоза, другая - провирусную ДНК возбудителя иммунодефицита КРС. Синтез целевых последовательностей

Таблица 1

Праймеры и зонды для амплификации участков генов BLV, BIV и «ВКО»

Целевой ген; ID GenBank	Наименование	Последовательность (5' à 3')	Локализация маркерной последовательности	Отжиг олигонуклеотидов, °С
p24 BLV; K02120	FPp24BLV	ccgtaggctggtcatgtgggc	1041 – 1061	62,2°С
	Rp24BLV	ggcaccgggttcg-caagtatg	1159 – 1180	61,0°С
	Zp24BLV	ROX-tgatcgaccgggaa-gcaatatattggca-BHQ2	1126 - 1154	69,2
env BIV; NC_001413	FPenvBIV	caactatggatcaggacctagacggc	5410 - 5435	60,1°С
	RPenvBIV	aaccccaataaaggcataattgaaacatta	5641 - 5670	60,2°С
	ZenvBIV	R6G-aacgcggggaaagg-gaggaggatc-RTQ1	5440 - 5464	69,0°С
ген каппа-казеина КРС; МК455075.1 («ВКО»)	FPVКО	ctggcaggcacag-tattgaca	30 - 56	56,6°С
	RPVКО	attactac-caacagaaccagttgac	144 - 166	56,1°С
	ZVКО	CY5-ttgaagaattggg-caggtgacctaaactg-BHQ3	105 - 133	64,0°С

нуклеотидов (праймеры и зонды) ВЛ КРС и ВИ КРС, вставка данных последовательностей в плазмиды, накопление и выделение рекомбинантных плазмид осуществлялись в ЗАО «Евроген» (г. Москва).

В исследовании также были задействованы образцы крови коров, положительно реагирующих в РИД (содержат антитела к вирусу лейкоза КРС).

Выделение ДНК осуществляли из лейкоцитов крови коров используя набор «ДНК-сорб В» согласно инструкции производителя (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Лейкоциты получали из цельной крови КРС с использованием буфера А pH 7,6 (318 mM сахараза, 1% тритон-Х 100, 5 mM MgCl₂,

2 mM трис-НСl) по следующему протоколу: К 300 мкл цельной крови добавили 1 мл буфера А; осторожно перемешали и поместили в морозильник на -16°С на 10 мин; центрифугировали 5000 об/мин в течение 1 мин, надосадочную жидкость удалили; к осадку лейкоцитов добавили 100 мкл ТЕ буфера, перемешали и центрифугировали 5000 об/мин в течение 1 мин, надосадочную жидкость удалили.

Мультиплексную ПЦР в режиме реального времени проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, включающей 10-кратный ПЦР буфер (ЗАО «Синтол», г. Москва) - 2 мкл; 2,5 mM смесь нуклеозидтрифосфатов (ЗАО «Синтол», г. Москва) - 2 мкл; 25 mM раствор MgCl₂ (ЗАО «Синтол», г. Москва) - 2 мкл; 10 pM

Таблица 2
Нуклеотидные последовательности BLV и BIV, встроенные в плазмиды

Целевой ген	Название	Нуклеотидная последовательность 5' à 3'
p24 BLV	BLV Control	ggcaccgggttcgcaagtatggatacaaacactacgacttgcaatcctg- caggccgacctaccctgctgactagaacagcttggccaatatattgcttccccgg tcgacsaacggccacatgaccagcctaacgg
Env BIV	BIV Control	саactatggatcaggacctagacggcgcggaacgcggggaaaggggaggag- gatccgaagaactgcttcaggaggagatcaacgaaggaggctgacagccagag aagctttacaacatggatcaataacgggtgagatccaccctgggtcctggcaggaa tgctgtccatgggagtaggaatgctactaggagtagtattgtcagttaccagacacact gatttggataactaatgtttcaattatgcctttattgggggt

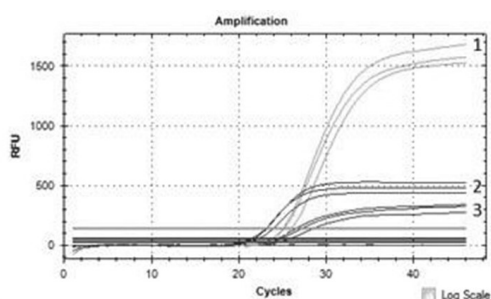


Рис.1 Проверка работоспособности ПЦР тест-системы для индикации провирусной ДНК лейкоза и иммунодефицита (интерфейс программы *Bio-Rad CFX Manager 2.1*). Примечание: 1. графики флуоресценции по каналу ROX (индикация ВЛ КРС); 2. графики флуоресценции по каналу R6G (индикация ВИ КРС); 3. графики флуоресценции по каналу Cy5 (индикация ВКО).

растворы прямых и обратных праймеров, ПЦР-зондов к ВЛ КРС и ВИ КРС, ДНК коровы (внутренний контрольный образец, ВКО) по 0,5 мкл каждого олигонуклеотида; Таq полимераза 0,5 ед/мкл – 0,5 мкл; раствор выделенной ДНК (матрица) – 11 мкл. Температурно-временной режим амплификации на амплификаторе CFX 96 (Био-Рад, США) был: 1-й цикл 95°C - 3 мин; 2-й цикл 95°C - 15 сек; 60°C - 30 сек. 2-й цикл был повторен 42 раза. Флуоресценция детектировалась по каналам R6G, ROX и Cy5 на втором цикле амплификации (при температуре 60°C).

Результаты интерпретировали по факту наличия/отсутствия пересечения кривой флуоресценции, которая устанавливается автоматически, в программном обеспечении прибора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Для разрабатываемого способа индикации и идентификации ВЛ КРС и ВИ КРС были использованы ранее разработанные праймерные комбинации для обнаружения провирусной ДНК возбудителя лейкоза КРС [9, 10, 12], возбудителя иммунодефицита КРС и ДНК крупного рогатого скота («внутренний контрольный образец» (ВКО) [14]. Данные праймерные комбинации представлены в таблице 1.

Праймерные комбинации были проанализированы с помощью BLAST-анализа [26] с использованием стандартной нуклеотидной базы «Standard Nucleotide BLAST», исключая из поиска последовательности, связанные с вирусом энзоотического лейкоза «Bovine leukemia virus (taxid:11901)» при анализе праймеров и зондов к гену p24 BLV и с вирусом иммунодефицита КРС «Bovine immunodeficiency virus (taxid:11657)» при анализе олигонуклеотидов к гену env BIV. В результате BLAST-анализа установлено, что анализируемые специфичные олигонуклеотиды (праймеры и зонды) строго комплементарны только к фланкируемым нуклеотидным последовательностям ВЛ КРС и ВИ КРС и не комплементарны к нуклеотидным последовательностям ДНК других организмов.

Также были разработаны два положительных контрольных образца (ПКО),

Таблица 3

Определение чувствительности разработанного способа индикации и идентификации провирусной ДНК ВЛ КРС и ВИ КРС

Разведение ДНК	Рекомбинантная плаزمида со вставкой гена p24 BLV	Рекомбинантная плазмида со вставкой гена env BIV
	Значение Ct по ROX	Значение Ct по R6G
10-3	7,86	8,13
10-4	8,06	9,46
10-5	12,4	13,12
10-6	15,98	15,44
10-7	19,38	20,59
10-8	22,31	23,76
10-9	25,48	26,89
10-10	27,73	35,48
10-11	30,1	39,52
10-12	34,75	не определено
10-13	не определено	не определено

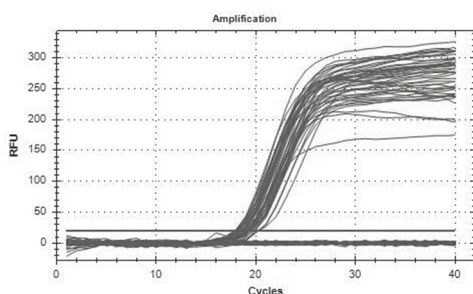


Рис. 2. Результаты ПЦР 73 проб крови КРС. Данные по флуоресценции по каналу Су 5 (ВКО – ДНК коровы)

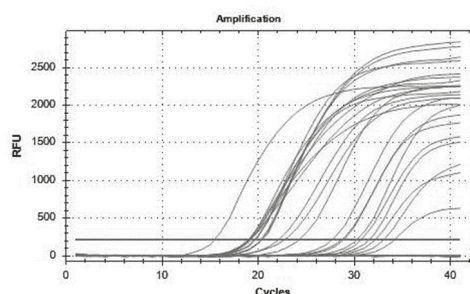


Рис.3. Результаты ПЦР 73 проб крови КРС. Данные флуоресценции по каналу ROX (провирусная ДНК ВЛ КРС).

представляющие собой рекомбинантные генетические конструкции на основе плазмиды pALT2 со встроенными специфичными нуклеотидными последовательностями участков идентичных провирусной ДНК ВЛ КРС и ВИ КРС. Данные нуклеотидные последовательности ПКО представлены в таблице 2. Разработанные контрольные образцы необходимы для проверки прохождения амплификации.

Одним из важных моментов является выбор температурно-временного

режима постановки ПЦР, а именно подбор температуры «отжига» праймеров и зондов. Вначале с помощью программы Vector NTI 9.1 была определена расчётная температура «отжига» разработанных олигонуклеотидов (таблица 1). Затем экспериментально, по каждой праймерной комбинации (праймеры и флуоресцентный олигонуклеотидный зонд) с использованием температурного градиента, была подобрана оптимальная температура «отжига». Для праймерной комбинации

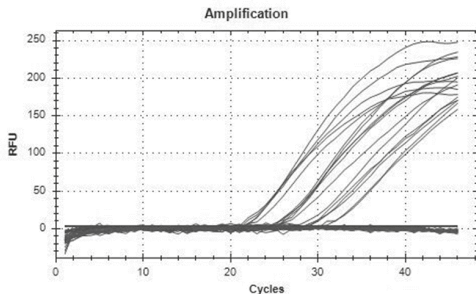


Рис. 4. Результаты ПЦР 73 проб крови КРС. Данные флуоресценции по каналу HEX (R6G) (провирусная ДНК ВИ КРС).

для провируса ВЛ КРС данная температура была определена с помощью температурного градиента от 55°C до 65°C и составила 61°C. Аналогично были определены температуры «отжига» для праймерных комбинаций провируса ВИ КРС и индикации ДНК коровы (ВКО), которые составили 61°C и 60°C, соответственно.

Проанализировав полученные результаты, нами был выбран следующий температурно-временной режим амплификации:

1 цикл, 95°C - 3 мин; 2 цикл, 94°C - 15 сек, 60,5°C - 15 сек (5 повторов); 3 цикл, 94°C - 15 сек, 60,5°C - 30 сек (40 повторов), индикация по каналам ROX, HEX, Cy5.

Этот температурно-временный режим был испытан для индикации провирусной ДНК ВЛ КРС и ВИ КРС (рис.1).

Чувствительность разработанного способа для индикации и идентификации провирусной ДНК ВЛ КРС и ВИ КРС определяли методом 10-кратных разведений рекомбинантных плазмид со вставками участков специфичных генов - p24 для BLV и env для BIV. Расчёты по определению количества молекул нуклеиновых кислот в заданном объеме осуществляли с помощью расчётных онлайн-форм, расположенных на интернет ресурсе MolBiol.ru [23]. Стоконый раствор плазмиды со вставкой гена p24 BLV имел концентрацию 426 нг/мкл, а плазмиды со вставкой гена env BIV - 114 нг/мкл. С

каждым разведением обоих рекомбинантных плазмид была поставлена полимеразная цепная реакция. Результаты по чувствительности указаны в таблице 3.

Согласно таблице 3 для рекомбинантной плазмиды со вставкой гена p24 BLV, разведение (10-12) было последним, где было определено пороговое значение флуоресценции (Ct), равное 34,75 цикла, что составило 1 - 3 молекул ДНК плазмиды в 1 мкл. Для плазмиды с геном env BIV последнее десятикратное разведение было (10-11), пороговое значение Ct составило 39,52 цикла и расчётное количество плазмиды в 1 мкл составило примерно 1 - 3 молекулы.

Проверка специфичности разработанных праймерных комбинаций (p24 BLV, env BIV) была проведена на образцах гетерогенной и гомогенной ДНК, полученных из биологического материала от коровы, лошади, барана, свиньи, козы, крысы, мыши, кролика, бактериальных культур вакцинных штаммов возбудителей бруцеллеза и сибирской язвы, крови козы, зараженной вирусом артрита – энцефалита (по результатам ПЦР), гомогенатов культуры клеток FLK-BLV и свежесыведенных лимфоцитов из крови больных коров.

В результате исследования пороговое значение флуоресценции в образцах гетерогенной ДНК (биологический материал от коровы, лошади, барана, свиньи, козы, крысы, мыши, кролика, бактериальных культур вакцинных штаммов возбудителей бруцеллеза и сибирской язвы, крови козы, зараженной вирусом артрита – энцефалита) не определено, то есть в них не содержатся искомые участки генома возбудителей лейкоза и иммунодефицита КРС. Положительный результат ПЦР был зафиксирован по каналу ROX при исследовании образцов ДНК, полученных из гомогенатов культуры клеток FLK-BLV и свежесыведенных лимфоцитов из крови больных коров, а именно 20,13 и 18,46 цикла, соответственно, что подтверждает наличие провирусной ДНК ВЛ КРС в этих образцах.

После определения основных характеристик (чувствительность, специфичность) разработанный способ индикации провирусной ДНК ВЛ КРС и ВИ КРС был испытан на образцах крови КРС, полученных из неблагополучного по лейкозу хозяйств (рис.2 – 4).

Было исследовано 73 пробы крови КРС. В результате установлено, что по каналу Cy5 (ВКО – ДНК коровы) значения Ct (пороговое значение кривой флуоресценции) по всем исследуемым образцам было в диапазоне 22,59 – 28,96 цикла. Это свидетельствует, что выделение ДНК прошло успешно во всех исследуемых образцах (рис.2). Также установлено, что значение Ct по каналу ROX (провиральная ДНК возбудителя лейкоза) было положительным в 27 исследуемых образцах, т.е. данные образцы содержали провирусную ДНК ВЛ КРС (рис.3). По каналу HEX (R6G) (провиральная ДНК ВИ КРС) положительное значение Ct установлено в 18 исследуемых образцах, т.е. в них обнаружена провирусная ДНК возбудителя иммунодефицита КРС (рис. 4). Следует отметить, что в 13 образцах крови содержались фрагменты ДНК как возбудителя лейкоза, так и вируса иммунодефицита КРС.

ВЫВОДЫ

Разработанный молекулярно-генетический способ для индикации и идентификации провирусной ДНК лейкоза и иммунодефицита КРС основан на использовании специфичных праймерных комбинаций, комплементарных к консервативным участкам геномов возбудителей лейкоза и иммунодефицита КРС. Данный способ позволяет одной реакцией и в одной реакционной смеси одновременно выявлять провирусную ДНК обоих искомым возбудителей. Созданный способ обладает высокой чувствительностью, которая составляет 1 – 3 молекулы провирусной ДНК обоих искомым возбудителей в 1 мкл ПЦР смеси. Также доказана высокая специфичность разработанного способа при исследовании образцов гетерогенной и гомогенной ДНК.

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR SIMULTANEOUS IDENTIFICATION OF CAUSES OF LEUKEMIA AND IMMUNODEFICIENCY OF CATTLE
Usoltsev K.V., Faizov T.Kh., Gorbunova M.E., Safina R.F., Shangaraev R.I., Salmanova G.R., Osyanin K.A., Khammatov N.I. Federal State Budgetary Scientific Institute “Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety”
ABSTRACT

The article describes the process of design method one-time indication and identification of pathogens of bovine leukemia virus (BLV) and bovine immunodeficiency virus (BIV) by polymerase chain reaction in real time. For creation this method, early designed primers combination was used to detect provirus DNA BLV and BIV. For the purpose of control amplification two positive control samples (PCS) were created, which are recombinant genetic constructs based on the pALT2 plasmid with embedded specific nucleotide sequences of sections of provirus DNA BLV and BIV. The optimal temperature - time mode has been selected for created test system, and its operability has been proved experimentally. Minimum sensitivity was determined by method ten-fold dilutions of recombinant plasmids which carry specific genes BLV and BIV. The latest was 1-3 DNA molecules in 1 µl reaction mixture for the genes of both pathogens. Designed method was proved high specificity, according to result of PCR with heterogeneous and homogeneous DNA samples. The practical significance and performance of created method are confirmed by studies of blood samples obtained from sick and healthy animals, from farms that are infected by leukemia virus. Designed method allows simultaneously detecting provirus DNA of BLV and BIV one-time in one reaction mixture.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агольцов В.А. Сравнительная диагностическая оценка серологического и молекулярно-генетического методов лабораторных исследований на лейкоз крупного рогатого скота / В.А. Агольцов, Е.С. Красникова, А.А. Щербаков, П.С. Мелкина, Е.А. Горельникова, Н.А. Дружаева //

- Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2012. - № 4 (90). - С. 56-59.
2. Апалькин В.А., Гулюкин М.И., Петров Н.И. Лейкоз крупного рогатого скота. - СПб.: Петролазер, 2005. - 105 с.
3. Байсеитов С.Т., Новикова Н.Н., Власенко В.С., Красников А.П. Сравнительная оценка диагностической эффективности РИД, ИФА и РНИФ при лейкозе крупного рогатого скота. Вестник Омского государственного аграрного университета. 2020. № 1 (37). С. 97-102.
4. Козырева Н.Г., Иванова Л.А., Степанова Т.В., Гулюкин М.И. Лабораторные испытания разработанной мультиплексной ПЦР-РВ при диагностике лейкоза крупного рогатого скота у молодняка. Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии» № 1(29), 2019.
5. Красникова Е.С. Анализ аминокислотного состава молока коров, инфицированных ретровирусами / Е.С. Красникова, А.В. Банникова, А.В. Евтеев, Г.Х. Утанова. // В сборнике: Актуальные проблемы ветеринарной хирургии, онкологии и терапии. - 2016. - С. 87-92.
6. Красникова Е.С. Оценка качества молока, полученного от инфицированных ретровирусами коров, и определение способов его переработки / Е.С. Красникова, Г.Х. Утанова, Н.А. Федосов, А.А. Щербаков // Научное обозрение. 2015. - № 17. - С. 10-15.
7. Красникова, Е.С. Эпизоотическая ситуация по ретровирусным инфекциям животных в Саратовской области и оптимизация лабораторной диагностики / Е.С. Красникова, В.А. Агольцов, О.Е. Семенова // Современные технологии в ветеринарии зоотехнии. Творческое наследие В.К. Бирха: мат. Междунар. науч.-практич. конф. – Пермь. 2013. – С. 100-106.
8. Криворучко, С.В. Вирус иммунодефицита крупного рогатого скота в хозяйствах Ставропольского края / С.В. Криворучко, С.С. Абакин, Г.А. Дубравная // Ветеринарная патология. - 2012. - № 2 (40). - С. 35-38.
9. Никитин А.И., Усольцев К.В., Фаизов Т.Х., Чернов А.Н., Усольцева И.И., Семенова М.Е., Хаммадов Н.И., Алеева З.З., Хусниев Ф.А., Ахмадеев Р.М., Валидов Ш.З., Шуралев Э.А. Способ экспресс-диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Патент на изобретение RU 2644233 С2, 08.02.2018. Заявка № 2016109396 от 15.03.2016.
10. Сафина Р.Ф. Повышение чувствительности и специфичности ПЦР с использованием ДНК-маркеров, кодирующих белки р24 и gp51, в ПЦР-РВ для индикации ВЛКРС / Сафина Р.Ф., Лукманова Г.Р., Усольцев К.В., Хаммадов Н.И., Фаизов Т.Х. // Ветеринарный врач. - 2019. - № 2. - С. 8-14.
11. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьёв Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных. – М.: ВНИТИБП, 2001. - 446 с.
12. Усольцев К.В. Способ одновременной экспресс-диагностики лейкоза и вирусного иммунодефицита крупного рогатого скота на основе метода мультиплексной ПЦР / К.В. Усольцев, Н.И. Хаммадов, К.А. Осянин, Т.Х. Фаизов // В книге: Физико-химическая биология как основа современной медицины тезисы докладов участников Республиканской конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения В.А. Бандарина. Белорусский государственный медицинский университет. - 2019. - С. 122-123.
13. Утанова, Г.Х. Молекулярно-генетическая диагностика вируса бычьего иммунодефицита / Г.Х. Утанова, А.П. Силаев // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА 2017» / Под редакцией академика РАН В.И. Покровского. - ТОМ II. – МОСКВА, 2017. - С. 407 – 408.
14. Хаммадов Н.И. Генетические маркеры вируса ящура крупного рогатого скота, геномный анализ // Проблемы особо опасных инфекций. - 2019. - № 2. - С. 111-116.
15. Bazargani T.T. The first survey on the status of the bovine immunodeficiency virus infection and associated clinical, pathological, haematological and flow cytometric

- findings in holstein cattle in Iran / T.T. Bazargani, M. Tooloei, G.N. Broujeni, M.J. Garagozlo, S. Bokaei, M. Khormali, N. Barjaste // *Journal of Veterinary Research*. – 2010. - №65. – P.1–12.
16. Carpenter S. Characterization of early pathogenic effects after experimental infection of calves with bovine immunodeficiency-like virus. / Carpenter S., Miller L.D., Alexandersen S., Whetstone C.A., Van Der Maaten M.J., Viuff B., Wannemuehler Y., Miller J.M., Roth J.A. // *J. Virol*. 1992; 66:1074–83.
17. Egberink H. Animal immunodeficiency viruses / H. Egberink, M.C Horzinek. // *Veterinary Microbiology*. – 1992. - №33. – P.311-331.
18. González-Fernández V.D. First evidence of bovine immunodeficiency virus infection in Mexican cattle / V.D. González-Fernández, J.L. Tórtora Pérez, M.M. García Flores, J.A. Aguilar Setién, H. Ramírez Álvarez // *Transboundary and Emerging Diseases*. - 2020.
19. Pablo-Maiso L. Prospects in innate immune responses as potential control strategies against non-primate lentiviruses / L. Pablo-Maiso, A. Doménech, I. Echeverría, C. Gómez-Arrebola, D. de Andrés, S. Rosati, E. Gómez-Lucia, R. Reina // *Viruses*. – 2018. - №10 (8). – P. 435.
20. Snider T.G. Natural and experimental bovine immunodeficiency virus infection in cattle. / Snider T.G., Hoyt P.G., Jenny B.F., Coats K.S., Luther D.G., Storts R.W., Battles J.K., Gonda M.A. // *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 1997 Mar; 13(1):151-76. Review.
21. Отчёт по эпизоотической ситуации в Российской Федерации за 2019 г. Официальный сайт Россельхознадзора (<https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2019/iac2019.pdf>)
22. Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота (Зарегистрировано в Министерстве юстиции Российской Федерации 29 апреля 2021 года, регистрационный N 63300). <https://docs.cntd.ru/document/603433105?marker=6540IN>
23. Расчётные онлайн-формы для конверсии массы в моли. Интернет ресурс MolBiol.ru. http://molbiol.ru/scripts/01_07.html
24. Таксономическая классификация NCBI: txid11646. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=11646&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
25. Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV). <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
26. Онлайн-утилита BLAST интернет-ресурса NCBI https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PRO-GRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome
27. ФГБНУ «Федеральный центр радиационной, токсикологической и биологической безопасности» Научный Городок2, Казань, Республика Татарстан, 422701.

УДК 639.3.091(571.65)

ВОЗБУДИТЕЛИ АНИЗАКИДОЗА, ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ ЧЕРЕЗ МОРСКИХ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ, В УСЛОВИЯХ МАГАДАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Е.А. Витомскова - науч.сотр., к.вет.н., А.М. Кузьмин – науч. сотр., В.И. Жулева – ст. лаб.-исслед., Е.С. Москаленко – лаб.-испыт., А.Б. Постникова – лаб.испыт. ФГБНУ «Магаданский НИИСХ»

Ключевые слова: промысловые рыбы, анизакидоз, личинки анизакид, экстенсивность инвазии, интенсивность инвазии, северное Приохотье. **Keywords:** commercial fish, anisakidosis, anisakid larvae, extensiveness of invasion, intensity of invasion, northern Priohoty (northern Okhotsk region).



РЕФЕРАТ

Ресурсную базу рыбодобывающей отрасли в Магаданской области составляют 45 объектов морского промысла. Одними из основных видов рыб, представляющими экономический интерес и пищевую ценность, являются сельдь тихоокеанская, навага, камбала, корюшка и другие. Известно, что практически вся морская промысловая рыба Охотского моря инвазирована возбудителями анизакидоза - опасного гельминтозного заболевания. В настоящее время в регионе не выполняется планомерное и масштабное исследование заражённости всех промысловых видов рыб в направлении решения вопросов эпидемической и эпизоотической значимости морских рыб водоёмов акватории Охотского моря (на примере северной его части в границах Магаданской области). Вышеизложенное определило цель, которая заключалась в проведении анализа заражённости рыб возбудителями гельминтозоантропонозов в сравнительном аспекте на базе многолетнего ихтиопатологического мониторинга (1989-1999 гг.; 2021 г.) и выявления наиболее эпидемиологически значимых видов рыб. Для выполнения цели ставилась задача: изучение заражённости промысловых рыб северного Приохотья возбудителями анизакидоза. Материалом исследования послужили сельдь тихоокеанская *Clupea pallasii*, навага *Eleginus gracilis*, камбала колючая *Acanthopsetta nadeshnyi*, камбала звёздчатая *Platichthys stellatus*, корюшка зубатая *Osmerus mordax dentex*. Методом неполного гельминтологического вскрытия [2] исследовано 3585 экземпляров вышеуказанных видов рыб. Изучение личинок гельминтов проводилось как в живом, так и в фиксированном состоянии па тотальных препаратах. Всего было изучено 268 экземпляров личинок нематод 2-х видов. Наиболее высокие показатели отмечаются у сельди (97,4%) и камбалы колючей (66,4%), при интенсивности инвазии – 1-49 (5,0) и 1-24(4,0) соответственно. Корюшка зубатая и камбала колючая инвазированы двумя видами анизакид (*Anisakis simplex* и *Pseudoterranova decipiens*), а сельдь и навага инвазированы только *Anisakis simplex*. У сельди и наваги личинки анизакид локализуются исключительно в полости тела и на внутренних органах рыбы, а у камбалы и корюшки – дополнительно и в мышцах тела рыбы.

ВВЕДЕНИЕ

Анизакидоз остаётся одним из самых опасных паразитарных заболеваний в Дальневосточном регионе ввиду широкого употребления населением большого видового разнообразия морских промысловых рыб. Исследователи всего мира изучают проблему, связанную с анизакидозом, на протяжении нескольких десятилетий [3,4,5,7,8,10,11]. Заражение анизакидозом происходит в результате употребления в пищу термически необработанной морской рыбы, содержащей личинок гельминтов-анизакид. Патогенными для человека являются анизакиды родов *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contracaecum*, *Hysterothylacium*, у которых промежуточными хозяевами выступают морские рыбы и беспозвоночные [5]. Организм человека для личинок анизакид является «биологическим тупиком», так как дальнейшего развития в нём не происходит.

Г.Ф. Соловьева, 1991 [10] установила, что в Беринговом море личинки анизакид зарегистрированы у 62 видов рыб, в Охотском – у 36 видов, в Японском море – у 30 видов и у побережья Курильских островов – у 52 видов рыб. А.М. Сердюков, 1993 [7] на основе анализа зарубежной и отечественной литературы, а также результатов собственных исследований в бассейне Охотского моря, пришёл к заключению, что высокая заражённость многих видов рыб личинками анизакид в Каспийском, Балтийском, Белом, Баренцевом, Японском морях, а также в акватории Тихого океана предполагает неблагоприятную ситуацию по анизакидозу в этих районах и в первую очередь это относится к бассейнам дальневосточных морей, где личинками инвазированы практически все промысловые виды рыб.

В таком огромном регионе Крайнего Северо-Востока России, как Магаданская область, не проводятся целенаправленные исследования по выяснению эпидемиологической и эпизоотологической значимости рыб в решении проблемы гельминтозов человека и животных. Вы-

шеизложенное определило цель: проведение ихтиопаразитологических исследований, включая анализ заражённости рыб возбудителями гельминтозооантропонозов в сравнительном аспекте на базе многолетнего ихтиопатологического мониторинга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал для паразитологического исследования собран на протяжении 12 лет (1989 -1999; 2021 г.г.) в восьми рыбохозяйственных водоёмах акватории Северного Приохотья: Амахтонский залив, Гижигинская губа, бухты Гертнера и Нагаева, Ньюклинская коса, в устьях и в предъустьевых участках рек Яна, Тауй, Тахтояма. Всего исследовано 4351 экз. рыбы пяти видов: сельдь тихоокеанская (2045 экз.), навага (497 экз.), камбала колючая (678 экз.), камбала звёздчатая (766 экз.), корюшка зубатая (355 экз.). Исследования проводились по общепринятым методикам [2,6]. При определении видовой принадлежности личинок гельминтов за основу взяты морфометрические характеристики паразитов, приведённые в Определителе наиболее распространённых паразитов рыб дальневосточных морей [1]. Личинки нематод просветляли в молочной кислоте. Всего было изучено 268 личинок нематод. При анализе и оценке заражённости рыб и количественных показателей личинок использовали два показателя – экстенсивности инвазии (ЭИ) и интенсивности инвазии (ИИ). Исходные данные обработаны методами математической статистики [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена на базе ФГБНУ Магаданский НИИ СХ. За период 1989-1999; 2021 гг. было изучено пять видов морских рыб в количестве 4351 особей: сельдь тихоокеанская *Clupea pallasii*, навага *Eleginus gracilis*, камбала колючая *Acanthopsetta nadeshnyi*, камбала звёздчатая *Platichthys stellatus*, корюшка зубатая *Osmerus mordax dentex*, выловленных в восьми рыбохозяйственных водоёмах Магаданской области.

В результате исследований были получены следующие показатели: наиболее

высокая заражённость отмечается у сельди (97,4%), у остальных видов рыб средний многолетний показатель экстенсивности инвазии составил – у наваги (45,3%), камбалы колючей (66,4%), камбалы звёздчатой (61,6%), корюшки зубатой (40,8%). На внутривидовом уровне за все годы исследований у сельди экстенсивность инвазии была примерно одинаковой и колебалась в пределах 80,0% - 100,0%. Лишь в 1990 году у сельди, выловленной в Гижигинской губе Северо-Эвенского района, она составила 51,7%. Отклонение экстенсивности инвазии у наваги от 9,3% (1996 г.) до 77,7 (1991 г.), у камбалы колючей 52,0% (1996 г.) до 86,7% (1993 г.), у корюшки 24,0% (1990 г.) до 72,0% (2021 г.) В 2021 году проведено исследование камбалы колючей (n=15) и камбалы звёздчатой (n=15), показатели экстенсивности инвазии которых составили: 66,0% и 66,6% соответственно. Высокие показатели одновременной заражённости сельди, наваги, камбалы колючей и корюшки зубатой отмечены в 1991, 1994 и 2021 гг. (Рис. 1). Корюшка зубатая и камбала колючая инвазированы двумя видами анизакид (Anisakis simplex и Pseudoterranova decipiens), сельдь и навага –Anisakis simplex. Вопрос локализации личинок анизакид в теле рыбы имеет важное эпидемио-

логическое значение. У сельди и наваги личинки Anisakis simplex локализуются в полости тела (в свободном состоянии и без капсул), на внутренних органах (в тонкостенных капсулах), а у камбалы и корюшки – на внутренних органах (в тонкостенных капсулах), в мышцах без капсул. (Рис. 3).

Личинки Pseudoterranova decipiens, обнаруженные в мышцах спины, были заключены в хорошо выраженные капсулы, что свидетельствует о длительности инвазии; в полости тела эти личинки обнаружены в свободном состоянии (на внутренних органах не зарегистрированы). Личинки Anisakis simplex могут активно мигрировать из полости тела рыбы в брюшные мышцы и мышцы спины. Так как у корюшки и камбалы анизакидные личинки располагались в толще мышц, это и определило их эпидемиологическую значимость.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные нами, согласуются с данными других исследователей, занимающихся изучением возбудителей анизакидоза и распространением их в Дальневосточном регионе [1,5,7,10].

ВЫВОДЫ

Впервые проведён анализ многолетнего паразитологического мониторинга зараженности морских рыб возбудителями



Рис.1. Динамика заражённости морских видов рыб личинками анизакид
Примечание: * Экстенсивность инвазии – степень заражённости рыб в процентах.



Рис.2. Динамика интенсивности заражения морских видов рыб личинками анизакид
Примечание: * Интенсивность инвазии – среднее число гельминтов в заражённой



Рис. 3. Личинка *Anisakis simplex* на печени камбалы звёздчатой *Platichthys stellatus* в капсульном состоянии

анизакидоза водоёмов Северного Приохотья (в границах Магаданской области).

Установлены наиболее эпидемиологически значимые виды рыб: камбала колючая *Acanthopsetta nadeshnyi*, камбала звёздчатая *Platichthys stellatus*, корюшка зубатая *Osmerus mordax dentex*.

В связи с выраженной заинтересованностью государственной ветеринарной службы Магаданской области, на основании данных ихтиопатологических исследований, многолетнего мониторинга необходимо разработать и внедрить в практику работы заинтересованного ведомства рекомендации по проведению ветеринарно-санитарной экспертизы морских рыб на наличие возбудителей гельминтозооантропонозов.

Pathogens of anisakidosis transmitted through marine commercial fish in the conditions of the Magadan region. E.A. Vitomskova - scientific. sotr., PhD of Vet. Scien., E.V. Ginter – st. scientific. coworker, A.M. Kuzmin – scientific. sotr. Zhuleva V.I. – Senior Research Laboratory Assistant, E. S. Moskalenko - lab. - test., A. B. Postnikova - lab. test, FGBNU «Magadan Scientific Research Institute of Agriculture»

ABSTRACT

The resource base of the fishing industry in the Magadan Region is 45 marine fishing objects. Some of the main fish species of economic interest and nutritional value are Pacific herring, navaga, flounder, smelt etc. It is known that almost all marine commer-

cial fish of the Okhotsk Sea are infested with pathogens of anisakidosis - a dangerous helminthic disease. Currently, the region does not carry out a systematic and large-scale study of the infection of all commercial fish species in the direction of solving the issues of the epidemic and epizootic significance of marine fish in the water area of the Sea of Okhotsk (for example, its northern part within the borders of the Magadan region). The foregoing determined the goal, which was to analyze the infection of fish with pathogens of helminthiozooanthonoses in a comparative aspect based on long-term ichthyopathological monitoring (1989-1999; 2021) and to identify the most epidemiologically significant fish species. To achieve the goal, the task was determined: the study of the infection of commercial fish in the northern Okhotsk region with the pathogens of anisakidosis. The research material was the Pacific herring *Clupea pallasii*, navaga *Eleginus gracilis*, spiny flounder *Acanthopsetta nadeshnyi*, starry flounder *Platichthys stellatus*, toothed smelt *Osmerus mordax dentex*. By the method of incomplete helminthological dissection [2], 3585 specimens of the aforementioned fish species were studied. The study of helminth larvae was carried out both in a live and in a fixed state on total preparations. A total of 268 specimens of nematode larvae of 2 species were studied. The highest rates are observed in herring (97.4%) and spiny flounder (66.4%), with the intensity of invasion - 1-49 (5.0) and 1-24 (4.0), respectively. Toothed smelt and

spiny flounder are infested by two species of anisakids (*Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens*), while herring and navaga are infested only by *Anisakis simplex*. In herring and navaga, the larvae of anisakids are localized exclusively in the body cavity and on the internal organs of the fish, and in flounder and smelt additionally in the muscles of the fish body.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буторина Т.Е. Определитель наиболее распространённых паразитов рыб дальневосточных морей, Владивосток, 1997, 115 с.
2. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб: Руководство по изучению, Л.: 1985, 121 с.
3. Витомскова Е.А. Гельминты промысловых рыб северного Приохотья, опасные для человека и животных: автореф. дис. ... кандидата ветеринарных наук: 03.00.19/ Е.А. Витомскова; Моск. Госуд. академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина. - Москва, 2000. - 17 с.
4. Витомскова Е.А. Гельминты промысловых рыб северной части бассейна Охотского моря, опасные для человека и животных. - Монография.- Магадан: МНИ-ИСХ РАСХН. - 2003. - 132 с.
5. Горохов В.В. Анизакидоз как нарастающая экологическая и социальная проблема / В.В. Горохов, В.П. Сергиев, Н.А. Романенко // Мед. паразитол. -1998. - с. 50-54.
6. Мусселиус В.А., Ванятинский В.Ф., Вихман А.А. Лабораторный практикум по болезням рыб. - М.: Лёгкая и пищевая промышленность - 1983. - 296 с.
7. Сердюков А.М. Проблема анизакидоза/ А.М. Сердюков//Мед. паразитол. - 1993. - №2. - С.50-54.
8. Сердюков А.М. Эпизоотологическое состояние болезней лососёвых рыб рода *Oncorhynchus* северной части Охотского моря/ А.М. Сердюков, Е.А. Витомскова Е.А. Зайкова, Г.Р. Исламгалеева//В сборнике: Сельское хозяйство Севера на рубеже тысячелетий/под ред. Н.Г. Михайлова [и др.]. - Магадан, 2004 - С. 242-247.
9. Система прикладных статистико-математических методов обработки экспериментальных данных в сельском хозяйстве [в 2 ч.] / А.М. Гатаулин. - Москва: Изд-во МСХА, 1992. - с. 192.
10. Соловьёва Г.Ф. Нематоды семейства *Anisakidae* у рыб Дальневосточных морей / Г.Ф. Соловьёва // Материалы 9-го Всесоюз. совещ. паразитологов по паразитам и болезням рыб. - Петрозаводск, 1991. - С. 119-120.
11. Foti C. Risk factors for sensitization to *Anisakis simplex*: a multivariate statistical evaluation / C. Foti, M. Fanelli, V. Mastrandrea, R. Buquicchio, N. Cassano, A. Conserva, E. Nettis // J. Immunopathol. Pharmacol. 2006. - №4. - P. 847-851.

УДК:619:[612.1:579.873:616.08:578.245]:636.4

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.60

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У БОЛЬНЫХ АКТИНОБАЦИЛЛЕЗНОЙ ПЛЕВРОПНЕВМОНИЕЙ ПОРОСЯТ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ЦИПРОПИГОМ

Шахов А.Г.- д.вет.н., проф.(ORCID ID 0000-0002-6177-8858), Сашнина Л.Ю.- д.вет. н., гл. науч. сотр.(ORCID ID 000-0001-6477-6156) , Владимирова Ю.Ю.- мл. науч. сотр.(ORCID ID 0000-0001-8888-7264), Адолина М.И.- ст. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0002-1791-0866).

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ключевые слова: поросята, актинобациллезная плевропневмония, ципропиг, энроксил 10%, цитокины. **Keywords:** piglets, actinobacillus pleuropneumonia, tsipropig, enroxil 10%, cytokines.



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты изучения цитокинового профиля у поросят при актинобациллезной плевропневмонии и его коррекция при лечении интерферонсодержащим препаратом. Актинобациллезная плевропневмония наносит значительный экономический ущерб, складывающийся из высокой заболеваемости и смертности поросят, снижения производственных показателей и качества продукции, а также затрат на профилактику и борьбу с инфекцией. Изучение цитокинового профиля, соотношения про- и противовоспалительных цитокинов позволяет получить информацию о тяжести патологического процесса, его переходе на системный уровень, прогнозе, исходе инфекции и оценки эффективности проводимой терапии. Применение иммуномодулирующей терапии оказывает неспецифическое защитное действие от широкого спектра патогенов, основанное на активации иммунной системы. Иммуномодуляторы, избирательно действующие на соответствующий компонент клеточного или гуморального неспецифического иммунитета в той или иной степени изменяют активность всех звеньев иммунной системы. К наиболее перспективным иммунотропным средствам относят иммуномодуляторы интерферонового ряда, применение которых повышает эффективность терапии бактериальных инфекций. Для опыта было сформировано 2 группы больных поросят. Животным первой группы применяли ципропиг в дозе 0,1 мл/кг, второй – энроксил 10% - 0,5 мл/кг. Терапия больных животных ципропигом, содержащим антибиотик ципрофлоксацин, смесь альфа и гамма-интерферонов свиных рекомбинантных, витамины А и Е, сопровождалась снижением концентрации провоспалительных цитокинов-1 β , интерлейкина-2, фактора некроза опухоли- α , γ -интерферона, и их отношения к противовоспалительным медиаторам - интерлейкина-4, интерлейкина-10, свидетельствующие об уменьшении острого воспалительного процесса. Отмеченное снижение соотношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2- лимфоцитами, указывало на активацию гуморального звена иммунной системы за счёт иммуномодулирующего действия интерферонов и антиоксидантной активности витаминов.

ВВЕДЕНИЕ

Актинобациллезная плевропневмония свиней относится к наиболее значимым в экономическом и эпизоотическом отно-

шении бактериальным инфекциям для промышленных комплексов [15].

Ведущая роль в патогенезе бактериальных инфекций, сопровождающихся пора-

жением органов дыхания и пищеварения, принадлежит цитокинам, концентрация и соотношение которых в сыворотке крови являются отражением иммунных реакций и могут использоваться для проведения дифференциальной диагностики ряда инфекционных болезней, прогноза тяжести иммунопатологических процессов, исхода инфекции и оценки эффективности проводимой терапии [1, 2, 13, 16].

Ответ системы цитокинов при актинобациллезной плевропневмонии у поросят мало изучен, что делает актуальными его дальнейшие исследования

Известно, что развитие многих патологических процессов, в том числе инфекционно-воспалительных сопровождается нарушениями функционирования иммунной системы организма [9, 12], поэтому в лечении инфекционных болезней необходимо комплексное применение этиотропных и иммунокорректирующих средств [14].

Среди иммуностимулирующих препаратов наиболее перспективными являются интерфероны, которые обладают широким спектром биологической активности, включая иммуномодулирующий, противовирусный и антибактериальный эффекты, и являются важнейшими факторами врожденного и адаптивного иммунитета, регулирующими взаимодействие главных интегративных систем организма – нервной, иммунной и эндокринной [4, 11, 16].

Включение интерферонов в состав комплексных лекарственных средств наряду с антимикробными составляющими обеспечивает усиление антибактериального эффекта и нейтрализует негативное воздействие на иммунную систему [6].

Одним из таких препаратов является ципропиг (производитель ООО «Научно-производственный Центр» ПроБиоТех, республика Беларусь), содержащий в своём составе антибиотик группы фторхинолонов - цiproфлоксацин, обладающий широким спектром антимикробного действия; смесь альфа- и гамма- интерферонов свиных рекомбинантных, оказывающих иммуномодулирующее, противовоспалительное и противовирусное дей-

ствие; витамины А и Е, повышающие антиоксидантный статус организма.

Цель исследований - изучить цитокиновый профиль у больных актинобациллезной плевропневмонией поросят до и после лечения их ципропигом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в условиях промышленного свиноводческого комплекса Тамбовской области, неблагополучного по актинобациллезной плевропневмонии.

Для опыта по принципу аналогов были сформированы 2 группы больных поросят в возрасте 50-55 дней. Животных содержали в одной секции в условиях, общепринятых на свиноводческом комплексе.

Респираторную патологию у поросят диагностировали в соответствии с «Методическим пособием по диагностике, профилактике и терапии респираторных болезней поросят» [10].

Этиологию респираторных инфекций устанавливали на основании результатов бактериологических и молекулярно-биологических (ПЦР) исследований патологического материала (лёгкие, бронхиальные лимфатические узлы).

Животным первой опытной группы (n=16) применяли ципропиг в дозе 0,1мл/кг, второй (n=15) - энроксил 10% - 0,5 мл/10 кг. Препараты вводили один раз в сутки внутримышечно до клинического выздоровления. От 5 животных каждой группы до применения препаратов и спустя 15 дней после их выздоровления брали кровь для проведения иммунологических исследований.

Бактериологические исследования проводили общепринятыми методами [7], молекулярно-биологические - методом ПЦР с применением соответствующих утвержденных тест-систем.

В сыворотке крови поросят определяли содержание интерлейкина - 1 β (IL-1 β), интерлейкина - 2 (IL-2), интерлейкина - 4 (IL-4), интерлейкина - 10 (IL-10), фактора некроза опухоли- α (TFN- α), γ - интерферона (IFN- γ) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с последующим учётом результатов на спектрофотометре «Униплан - ТМ» в соответствии с утвер-

Таблица

Цитокиновый профиль у поросят

Показатели	Фон	Группы животных	
		опытная	контрольная
IL-1 β (пг/мл)	8,2 \pm 0,55	6,4 \pm 0,39*	7,5 \pm 0,48
IL-2 (пг/мл)	7,5 \pm 0,24	5,5 \pm 0,27***++	6,8 \pm 0,04*
IL-4 (пг/мл)	12,6 \pm 0,79	14,3 \pm 1,09 ⁺	12,1 \pm 0,39
IL-10 (пг/мл)	8,9 \pm 0,25	7,7 \pm 0,45*	8,0 \pm 0,36*
TNF- α (пг/мл)	3,0 \pm 0,08	2,8 \pm 0,14	2,7 \pm 0,07*
IFN- γ (пг/мл)	118,3 \pm 1,09	95,9 \pm 3,6***	99,9 \pm 3,40***
IL-1 β / IL-4	0,65 \pm 0,044	0,47 \pm 0,040**+	0,62 \pm 0,052
IL-1 β / IL-10	0,91 \pm 0,039	0,85 \pm 0,054	0,94 \pm 0,083
IL-2/ IL-4	0,60 \pm 0,024	0,38 \pm 0,021***++	0,56 \pm 0,032
IL-2/ IL-10	0,84 \pm 0,034	0,71 \pm 0,038*	0,85 \pm 0,067
IFN- γ / IL-4	9,5 \pm 0,69	6,95 \pm 0,79*	8,29 \pm 0,28
IFN- γ / IL-10	13,5 \pm 0,75	12,6 \pm 0,64	12,4 \pm 0,58
TFN- α / IL-4	0,24 \pm 0,013	0,20 \pm 0,017	0,22 \pm 0,009
TFN- α / IL-10	0,37 \pm 0,015	0,35 \pm 0,019	0,33 \pm 0,012*
ОЦИ	3,18 \pm 0,18	1,26 \pm 0,05***+	1,45 \pm 0,07***
ЦИ Th1/Th2	6,0 \pm 0,2	4,7 \pm 0,07***++	5,4 \pm 0,09**

Примечание: *P < 0,05; **P < 0,001; ***P < 0,0001 относительно показателей фона; +P < 0,05; ++P < 0,001; +++P < 0,0001 относительно показателей контрольной группы

женными наставлениями к диагностическим наборам. Для оценки баланса про- и противовоспалительных цитокинов были подсчитаны цитокиновые индексы: отношения провоспалительных цитокинов к противовоспалительным медиаторам IL-1 β / IL-4, IL-1 β / IL-10, IL-2/ IL-4, IL-2/ IL-10, IFN- γ / IL-4, IFN- γ / IL-10, TFN- α / IL-4 и TFN- α / IL-10, общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов (ОЦИ), и отношение медиаторов, продуцируемых Th-1 и Th-2 клетками (ЦИ Th-1/Th-2) [2].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica v6.1, оценку достоверности отличий по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У поросят в острой фазе болезни регистрировали лихорадку, учащенное поверхностное дыхание, одышку, болезненный кашель, снижение аппетита, повышение температуры тела до 40,5-41,0 $^{\circ}$ C.

При бактериологическом исследовании патологического материала от убитых с диагностической целью больных

пневмонией поросят была выделена *Actinobacillus pleuropneumoniae*, а молекулярно-биологическом – обнаружен геном возбудителя инфекции.

При изучении цитокинового профиля у больных актинобациллезной плевропневмонией поросят установлено высокое содержание в крови провоспалительных цитокинов - IL-1 β , IL-2, TFN- α и IFN- γ , стимулирующих клеточный иммунитет, противовоспалительного интерлейкина IL-10, характерное для инфекционно-воспалительных заболеваний, а также относительно низкое количество IL-4, индуцирующего гуморальный иммунитет [2].

Отношения провоспалительных цитокинов к противовоспалительным медиаторам IL-1 β / IL-4, IL-1 β / IL-10, IL-2/ IL-4, IL-2/ IL-10, IFN- γ / IL-4, IFN- γ / IL-10, TFN- α / IL-4 и TFN- α / IL-10 были высокими. Общий цитокиновый индекс, как и отношение про- и противовоспалительных медиаторов, продуцируемых Th-1 и Th-2 клетками, также были высокими, что указывало на наличие у животных остро-

го воспалительного процесса (табл.). Терапия больных животных ципропигом сопровождалась достоверным повышением количества IL-4 на 13,5%, стимулирующего гуморальный иммунитет, снижением содержания провоспалительного цитокина IL-1 β на 22,0% и его отношения к противовоспалительным интерлейкинам IL-4 на 38,3% и IL-10 на 7,1%, уровень которого уменьшился на 15,6%. У них же регистрировали снижение концентрации IL-2 на 26,7% и отношения к указанному противовоспалительному цитокину на 57,9 и 18,3% соответственно.

Аналогичная динамика отмечена и в изменении уровня других провоспалительных цитокинов. Содержание TNF- α снизилось на 7,1% и его отношение к IL-4 и IL-10 на 20,0% и 5,4%, а количество IFN- γ на 23,4; 36,7% и 6,7% соответственно. Под влиянием препарата общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов у поросят достоверно снизилось в 2,5 раза, что свидетельствует об эффективном этиотропном и иммуномодулирующем действии ципропида.

Снижение у животных опытной группы отношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2 лимфоцитами, на 27,7% связано с активацией гуморального звена иммунной системы.

Терапия поросят энроксилем-10 также сказалась на их цитокиновом профиле. У животных после лечения регистрировали снижение уровня провоспалительного цитокина IL-1 β на 9,3% и его отношения к противовоспалительному медиатору IL-4 на 4,8%, которое к IL-10 имело тенденцию к повышению на 3,3%, при этом содержание противовоспалительных цитокинов у них уменьшилось на 4,1 и 11,3% соответственно.

Количество IL-2 и его отношение к противовоспалительному цитокину IL-4 снизились на 10,3 и 7,1%, а к IL-10 практически не изменилось.

Концентрации провоспалительных цитокинов TNF- α и IFN- γ уменьшились на 11,0 и 18,4%, как и их отношения к IL-4 и IL-10 на 9,1 и 12,1% и на 14,6 и 8,9% соответственно.

Под влиянием энроксила-10 общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов снизилось в 2,2 раза, что свидетельствует об этиотропном действии препарата и оптимизации иммунного статуса у животных вследствие их выздоровления.

Снижение у животных контрольной группы отношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2 клетками на 11,1%, указывает на активацию гуморального звена иммунной системы.

Сравнивая цитокиновый профиль у поросят опытной и контрольной групп после лечения, следует отметить, что ципропиг оказал более выраженное корригирующее действие, чем энроксил-10.

Применение интерферонсодержащего препарата сопровождалось более существенным снижением количества провоспалительных цитокинов IL-1 β на 17,2%, IL-2 на 23,6, отношения их к противовоспалительным медиаторам IL-4 на 31,9 и 47,4% и к IL-10 на 10,6 и 19,7% соответственно, а также отношений IFN- γ и TNF- α к IL-4 на 16,2 и 10,0%. Снижение общего отношения провоспалительных цитокинов к противовоспалительным медиаторам у животных опытной группы было более существенным (на 15,1%), также как и отношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2 лимфоцитами на 14,9%, свидетельствующего о выраженной активации у них гуморального звена иммунной системы.

Преимущественное положительное влияние ципропида на иммунный статус больных актинобациллезной плевропневмонией поросят обусловлено наличием в его составе рекомбинантных альфа- и гамма интерферонов и витаминов А и Е.

Интерферон- α повышает активность естественных киллеров, Т-хелперов, фагоцитов, интенсивность дифференцировки В-лимфоцитов [8,14].

Интерферон- γ , являющийся регулятором иммунных реакций, активирует макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, натуральные киллеры, простогландиновую и кортикостероидные системы [8, 12].

Витамины А и Е оказывают антиоксидантное действие на клетки иммунной системы, положительно влияют на неспецифические и специфические звенья иммунитета, регулируют экспрессию генов рецепторов плазматической мембраны и ядерных рецепторов, активацию лимфоцитов и прохождение клеточного цикла [3].

ВЫВОДЫ

Проведенными исследованиями у поросят при актинобациллезной плевропневмонии установлены высокие концентрации провоспалительных цитокинов и отношения их к противовоспалительным медиаторам, а также соотношение цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2-лимфоцитами, свидетельствующие о развитии острого воспалительного процесса, которые снижаются под влиянием лечебных препаратов до уровня таковых у клинически здоровых животных, особенно после применения ципропига, обладающего выраженной антимикробной и иммуномодулирующей активностью и повышающего антиоксидантный статус организма.

CYTOKINE PROFILE IN PIGLETS WITH ACTINOBACILLUS PLEURO-PNEUMONIA AND ITS CORRECTION WITH TSIPROPIG

Shakhov A.G., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Sashnina L.Yu., Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate, Vladimirova Yu.Yu., Junior Scientific Associate, Adodina M.I., Senior Scientific Associate.

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy"

ABSTRACT

The article presents the results of studying the cytokine profile in piglets with actinobacillus pleuropneumonia and its correction with an interferon-containing drug during treatment. Actinobacillus pleuropneumoniae causes significant economic damage, resulting from high morbidity and mortality of piglets, reduced production indicators and product quality, as well as the cost of prevention and control of infection. The study of the cytokine profile, the ratio of pro- and

anti-inflammatory cytokines provides information on the severity of the pathological process, its transition to the systemic level, prognosis, outcome of infection and assessment of the efficacy of therapy. The use of immunomodulatory therapy has a nonspecific protective effect against a wide range of pathogens, based on the activation of the immune system. Immunomodulators, selectively affecting the corresponding component of cellular or humoral nonspecific immunity, to varying degrees, change the activity of all links of the immune system. The most promising immunotropic drugs include interferon immunomodulators, the use of which increases the efficacy of therapy for bacterial infections. For the experiment, 2 groups of sick piglets were formed. The animals of the first group were administered tsipropropig at a dose of 0.1 ml/kg, the animals of the second group were administered enroxil 10% at a dose of 0.5 ml/kg. Therapy of sick animals with tsipropropig, containing the antibiotic ciprofloxacin, a mixture of recombinant porcine interferons -alpha and -gamma, vitamins A and E, was accompanied by a decrease in the concentration of pro-inflammatory cytokines- 1β , interleukin-2, tumor necrosis factor- α , interferon- γ , and their ratio to anti-inflammatory mediators - interleukin-4, interleukin-10, indicating a decrease in the acute inflammatory process. The registered decrease in the ratio of cytokines produced by Th-1 and Th-2 lymphocytes indicated the activation of the humoral link of the immune system due to the immunomodulatory effect of interferons and the antioxidant activity of vitamins.

ЛИТЕРАТУРА

1. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций / Г.Ф. Железникова // Цитокины и воспаление.-2009.-Т.8.-№ 1.- С.10-17.
2. Маркелова Е.В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях/ Е.В. Маркелова, А. В. Костюшко, В.Е. Красников//Тихоокеанский медицинский журнал.- 2008.-№3.-С.24-29
3. Мартынова Е.А. Роль питания в поддержании функциональной активности им-

- мунной системы и развитии полноценного иммунного ответа/ Е.А. Мартынова, И.А. Морозов // Мат. XVI сессии академ. школы-семинара им. А. М. Уголева «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения».-2001.-Т. XI.-№4.-С.28-38.
- 4.Наровлянский А.Н. Интерфероны: Перспективные направления исследований/ А.Н. Наровлянский, Ф.И. Ершов, А.Л. Гинцбург// Иммунология.-2013.- №4.-С.168-172.
- 5.Притулина Ю.Г. Анализ цитокинового статуса при ряде инфекционных заболеваний/ Ю.Г. Притулина, И.В. Криворучко, В.В. Шенцова [и др.]// Успехи современного естествознания.-2014.-№2.-С.16-20.
- 6.Прокулевич В. А. Ветеринарные препараты на основе интерферона/В.А. Прокулевич, М. И. Потапович// Вестник БГУ сер. 2.- 2011.- №3.- с. 51-55.
- 7.Сидоров М. А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов/М. А. Сидоров, Д.И. Скородумов, В.Б. Федотов//М.: Колос.- 1995.-318 с.
- 8.Сологуб Т.В. Интерферон гамма-цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью/ Т.В.Сологуб, В.В.Цветков, Э.Г.Деева//Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова.-2014.-Т. 22.-№ 3.-С.56-60.
- 9.Федоров Ю.Н. Стратегия и принципы иммунокоррекции и иммуномодулирующей терапии/ Ю.Н. Федоров, В.И. Клюкина, М.Н. Романенко [и др.]// Вестник Новгородского государственного университета.- 2015.-№86.-С. 84-87
- 10.Шахов А.Г. Методическое пособие по диагностике, профилактике и терапии респираторных болезней поросят/ А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Д.В. Федосов [и др.]// Воронеж.-2010.-62 с.
- 11.Шахов А.Г. Применение цитокинов и их индукторов молодняку сельскохозяйственных животных/ А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Ю.Ю. Владимирова [и др.]// Ветеринарная патология.-2019.-№2.-С.70-78.
- 12.Шахов А.Г. Цитокиновый профиль у поросят в норме и при респираторной вирусной инфекции / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова, М. И. Адодина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2021. – № 1(14). – С. 88-95. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2021.1.88.
- 13.Abdulhafedh A. The role of streptococcus and cytokines in the diagnosis of inflammatory diseases of the upper respiratory tract/ A. Abdulhafed., A. Kuzniatsou// «Актуальные научные исследования в современном мире» ISCIENCE.IN.UA.-2011-B.5(61).-Ч.9.-С.18-24
- 14.Harrison, G. Type I interferon genes from the egg-laying mammal, *Tachyglossus aculeatus* (short-beaked echidna)/ G. Harrison, K.A. McNicol, E.M. Deane//Immunology and Cell Biology.-2004.-Vol.82.-P.112-118.
- 15.Martelli P. Respiratory diseases of pigs/ P.Martelli, H.Segalis// Saragosa.Spain. SER-VET.-2019.-130 с.



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК:636.087.8+619:616.33/.34]:636.22/.28.053.2
DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.66

ОБЩАЯ ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОГО СИНБИОТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТЕЛЯТ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Самойленко В.С. – асп. каф. эпизоотологии и микробиологии, Ожередова Н.А. – доц., д.вет.н., зав каф. эпизоотологии и микробиологии, Симонов А.Н. – доц., к.вет.н., Светлакова Е.В – доц., к.б.н. ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ»

Ключевые слова: желудочно-кишечные заболевания, синбиотики, пробиотики, динамика роста, экономическая эффективность, предотвращённый ущерб. **Key words:** gastrointestinal diseases, synbiotics, probiotics, growth dynamics, cost-effectiveness, damage prevented.



РЕФЕРАТ

Сегодня можно с уверенностью считать доказанным необходимость использования средств на основе пробиотических микроорганизмов в технологии выращивания молодняка сельскохозяйственных животных. Назначенные в целях профилактики, они должны быть не только безопасными и эффективными, но и экономически выгодными для потребителя. Представленные нами исследования были осуществлены с целью расчёта общей экономической эффективности применения разработанного синбиотического средства для профилактики желудочно-кишечных заболеваний телят в производственных условиях. Реализацию поставленной цели мы выполняли согласно официальной методике по определению экономической эффективности ветеринарных мероприятий, утверждённой от 21 февраля 1997 г., начальником Департамента ветеринарии МСХ РФ В. М. Авиловым. В осуществлении опыта было задействовано 86 новорождённых телят (СПК племзавод «Вторая Пятилетка» – 63 и ООО «ХЛЕБОРОБ» – 23 особи), из них в СПК племзавод «Вторая Пятилетка» 31 были в опытной группе и 32 в контрольной, а в условиях ООО «ХЛЕБОРОБ» 12 в опытной группе и 11 в контрольной. Телятам опытных групп с третьего по десятый день жизни перорально вводили суточную дозу синбиотического средства за два часа до утреннего кормления с интервалом в 24 часа, в количестве 2-х доз на 10 кг живой массы тела (1 доза ~ 109 КОЕ), растворённых из расчёта 1 доза / 0,5 мл молочной сыворотки. По итогу проведённых опытов была зафиксирована максимальная прибыль в опытной группе – 30925 руб., которая в 3 раза превышала значения контрольной, где данный показатель был равен 9900 руб., соответственно.

ВВЕДЕНИЕ

Используемые в современном животноводстве схемы кормления включают в себя передовое кормопроизводство и высокоинформативные программные комплексы по оптимизации рационов, способные идентифицировать их по ряду показателей питательности с последующей оптимизацией их стоимости. Ежегодно в разработке кормовых смесей применяются компоненты химического, микробиологического, гормонального и растительного происхождения, что способствует ускорению обменных процессов в организме животного, улучшая конверсию и перевариваемость кормов [1, 2].

В результате применения кормовых средств стремительно растут показатели продуктивности животных, увеличивается количество продукции и как следствие доходность сельскохозяйственных компаний с последующим привлечением инвестиционных средств в развитие аграрного бизнеса [3]. В мировой животноводческой отрасли наиболее актуально использование антибактериальных средств [4]. Однако многочисленными исследованиями учёных было доказано, что они влекут за собой серьёзную опасность для здоровья человечества из-за обнаружения антибиотиков в продуктах питания, изменения антигенных свойств условно-патогенных бактерий и, как следствие, нарушение микробиоценоза желудочно-кишечного тракта [5, 6].

Российский рынок в последние десятилетия прошёл ряд стадий по развитию и корректировке тесно связанных между собой отраслей животноводческой и кормовой промышленности. Сегодня самым быстрорастущим сегментом на мировом рынке, как альтернатива кормовой антибиотикопрофилактике, являются средства на основе пробиотических бактерий, показывающих высокие результаты купирования желудочно-кишечных заболеваний, с помощью стимуляции роста нормофлоры и подавления развития условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Понижается кислотность в пищеварительной системе, что способствует

угнетению болезнетворных микроорганизмов, предпочитающих среду (рН) для культивирования от 6.0 [7, 8]. В стрессовых условиях микробиота прямого кормления могут использоваться для снижения риска или тяжести повреждений, вызванных нарушением нормальной кишечной среды [9, 10, 11].

Нами было разработано синбиотическое средство на основе пробиотических штаммов бактерий *Lactobacillus acidophilus* (B-4107) K-1-T и *Enterococcus faecium* УДС 86 с включением пребиотика [RU 2020 140 502]. В этой связи, большой научный и практический интерес имеет изучение эффективности использования средства в условиях сельскохозяйственного производства.

Цель исследования – расчёт общей экономической эффективности применения разработанного синбиотического средства для профилактики желудочно-кишечных заболеваний телят в производственных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценку общей экономической эффективности использования в профилактических целях разработанного синбиотического средства, осуществляли в Ставропольском крае в сельскохозяйственных предприятиях СПК племзавод «Вторая Пятилетка» Ипатовского городского округа и в ООО «ХЛЕБОРОБ» Петровского городского округа. Система содержания и кормления в этих хозяйствах идентичны. Мероприятия по профилактике желудочно-кишечных заболеваний бактериальной этиологии (сальмонеллёз, эшерихиоз) основаны на высоком уровне создания ветеринарной санитарной культуры.

Изучение общей экономической эффективности осуществляли в марте – апреле 2021 года. Всего в производственном опыте было задействовано 86 телят (СПК племзавод «Вторая Пятилетка» – 63 и ООО «ХЛЕБОРОБ» – 23 особи), из них в СПК племзавод «Вторая Пятилетка» 31 были в опытной группе и 32 в контрольной, а в условиях ООО «ХЛЕБОРОБ» 12 в опытной группе и 11 в контрольной. Телятам опытных групп с третьего по

Таблица 1

Схема производственного опыта

Группа животных	Количество животных	Характеристика кормления
СПК племзавод «Вторая Пятилетка»		
Опытная	n=31	Общепринятый рацион + Синбиотическое средство 2 дозы / 10 кг (с 3-х до 10 суточного возраста)
Контрольная	n=32	Общепринятый рацион
ООО «ХЛЕБОРОБ»		
Опытная	n=12	Общепринятый рацион + Синбиотическое средство 2 дозы / 10 кг (с 3-х до 10 суточного возраста)
Контрольная	n=11	Общепринятый рацион

десятый день жизни перорально вводили суточную дозу синбиотического средства за два часа до утреннего кормления с интервалом в 24 часа, в количестве 2-х доз на 10 кг живой массы тела (1 доза ~ 109 КОЕ), растворённых из расчёта 1 доза / 0,5 мл молочной сыворотки. При этом телята, находящиеся в контрольной группе, содержались на принятом в хозяйстве кормлении. Наблюдение за животными всех групп осуществлялось по достижении ими 20-ти суточного возраста (Таблица 1).

Общую экономическую эффективность по использованию разработанного синбиотического средства рассчитывали согласно официальной методике по определению экономической эффективности ветеринарных мероприятий, утверждённой от 21 февраля 1997г., начальником Департамента ветеринарии МСХ РФ В. М. Авиловым.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Научно-производственный опыт по определению общей экономической эффективности использования синбиотического средства в профилактических целях осуществляли при помощи сравнения показателей сохранности и продуктивности новорождённых телят опытной группы с контрольной, в ходе проделанной работы была установлена средняя стоимость одного новорождённого телёнка, стоимость одного двадцатидневного телёнка и установлено количество дополнительно сохранённых телят в опытных группах. На основании расчётов, исходя из хозяйственных затрат, было установле-

но, что средняя стоимость новорождённого телёнка составляет 10594, двадцатидневного – 12168 руб.

За весь период производственного опыта процент сохранности новорождённых телят в условиях СПК племзавод «Вторая Пятилетка» составил 90,6% в контрольной группе, а в опытной – 100% соответственно. На базе сельскохозяйственного предприятия ООО «ХЛЕБОРОБ» данный показатель в контрольной группе был равен 81,8%, а в опытной – 91,7%, что свидетельствует о высокой эффективности разработанного синбиотического средства, а именно количество дополнительно сохранённых телят составило 4 головы. По результатам исследований было установлено, что зарегистрированный отход молодняка был преимущественно из-за сбоя физиологической адаптации посредством изменения нормофлоры желудочно-кишечного тракта в сторону условно-патогенных бактерий и как следствие это привело к неблагоприятным изменениям белково-углеводного, минерального обмена веществ, а также к уменьшению активности ферментов.

Результаты по предотвращённому ущербу (1), экономическому эффекту (2) и экономическому эффекту на 1 рубль затрат (3), в сельскохозяйственных предприятиях составили:

$$\text{Пу} = 12168 \times 4 = 48672 \text{ руб.}$$

$$\text{Эв} = 48672 - 7133,3 = 41538,7 \text{ руб.}$$

$$\text{Эр} = 41538,7 : 7133,3 = 5,8 \text{ руб.}$$

Исходя из полученных данных видно, что применение разработанного синбио-

Таблица 2

Экономическая эффективность применения синбиотического средства

Показатель		Группы	
		Контрольная (n=43)	Опытная (n=43)
Стоимость синбиотического средства 1 доза, руб.		-	3,5
Стоимость израсходованного средства на плановый цикл обработки (7 дней), руб.		-	8428
Оплата труда ветеринарному работнику за 1 чел.-час, руб.		150	150
Дополнительные затраты на оплату труда (7 дней), руб.		-	2833,3
Дополнительные затраты на ветеринарные мероприятия, руб.		-	150
Падёж молодняка, шт.		5	1
Живая масса, кг:	в начале опыта (1 день жизни)	1728,6	1758,7
	в конце опыта (20 день жизни)	1926,6	2377,2
Абсолютный прирост, кг.		198	618,5
Себестоимость абсолютного прироста, руб.		29700	92775
Стоимость абсолютного прироста (в рыночных ценах), руб.		39600	123700
Прибыль, руб.		9900	30925

тического средства с целью предупреждения возникновения желудочно-кишечных заболеваний бактериальной этиологии в расчёте на 43 головы позволяет предотвратить экономический ущерб в размере 48672 рублей, при этом получен экономический эффект в размере 41538,7 рублей за счёт предотвращения падежа животных, в результате чего экономический эффект на 1 рубль затрат равен 5,8 рублям.

В ходе научно-производственных опытов нами было установлено, что разработанное синбиотическое средство не несёт вреда для животного и обладает высокими антагонистическими свойствами к условно-патогенным бактериям рода *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *E. coli* –lac. (-), *E. coli* –lac. (+) и способствует росту представителей пробиотических микроорганизмов, что в целом интенсифицирует прирост массы тела. На основании данных из расчёта ценовых характеристик

рационов в контрольной и опытной группах была рассчитана экономическая эффективность включения в кормление молодняка крупного рогатого скота в раннем постнатальном онтогенезе, разработанного синбиотического средства (Таблица 2).

На основании проведённых расчётов по экономической эффективности установлено, что максимальная прибыль была зафиксирована в опытной группе – 30925 руб., которая в 3 раза выше, чем в контрольной группе, где данный показатель был равен 9900 руб., соответственно.

ВЫВОДЫ

Применение в условиях сельскохозяйственного производства разработанного синбиотического средства с целью профилактики желудочно-кишечных заболеваний бактериальной этиологии, а также поддержания иммунного статуса новорождённых телят, позволяет получить наилучшие показатели по приростам жи-

вой массы, экономической эффективности с предотвращением ущерба от падежа молодняка за счёт снижения риска развития заболеваний, вызываемых патогенными и условно-патогенными бактериями, что в свою очередь способствует увеличению сохранности и продуктивности поголовья.

The overall economic efficiency of using synbiotic for the prevention of gastrointestinal diseases in calves in the production environment. Samoilenko V.S. - post-graduate of the department of epizootology and microbiology, Ozheredova N.A - associate professor, doctor of veterinary sciences, head of the department of epizootology and microbiology, Simonov A.N. - associate professor, candidate of veterinary sciences, Svetlakova E.V. - associate professor, candidate of biological sciences FSBEI HE "Stavropol State Agrarian University"

ABSTRACT

Today, we can consider the need to use remedies based on probiotic microorganisms in the technology of growing young farm animals as proven. Prescribed for prevention purposes, they must be not only safe and effective, but also cost-effective for the consumer. The studies presented by us were carried out in order to calculate the overall economic efficiency of the use of the developed synbiotic agent for the prevention of gastrointestinal diseases in calves in a production environment. We carried out our work in accordance with the official methodology for determining the economic efficiency of veterinary measures, approved on February 21, 1997 by the head of the Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation V.M. Avilov. At the assay, 86 newborn calves were involved (SPK husbandary farm "Vtoraya Pyatiletka") - 63 calves from LLC "HLEBOROB" - 23 individuals). 31 were in the experimental group and 32 in the control group in the SPK breeding plant "Vtoraya Pyatiletka". And at the "HLEBOROB" farm 12 in the experimental group and 11 in the control group. From the third to the tenth day of life, the calves of the experimental groups were orally administered a daily dose of the synbiotic mixture two hours before morning feeding

with an interval of 24 hours, in the amount of 2 doses per 10 kg of live body weight (1 dose ~ 109 CFU), dissolved at the rate of 1 dose / 0.5 ml of milk serum. According to the results of the experiments, the maximum profit in the experimental group was recorded - 30,925 rubles, which was 3 times higher than the value of the control, where this indicator was equal to 9,900 rubles, respectively.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Евглевский, Д. А. Научно-биотехнологическое обоснования повышения эффективности и снижения токсичности антибиотиков / Д. А. Евглевский, А. А. Евглевский // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – № 2. – С. 69-71.
- 2.Максимович, В. В. Эпизоотическая ситуация по инфекционным болезням молодняка крупного рогатого скота в республике Беларусь / В.В. Максимович, С. Л. Гайсенюк, Ю. А. Шашкова // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины». – 2013. – Т. 49. – № 1-1. – С. 37-41.
- 3.Абрамкова Н. В., Червонова И. В. Эффективность применения пробиотического препарата «Субтилис» для поросят-отъёмшей // Вестник аграрной науки. – 2017. – № 6 (69). – С. 12-16.
- 4.Duse, A. Risk factors for antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from preweaned dairy calves / A. Duse, K.P. Waller, U. Emanuelson, H.E. Unnerstad, Y. Persson, B. Bengtsson // J Dairy Sci. – 2015. – Vol. 98. – №1. – P. 500-516.
- 5.Scaria, J. Comparison of phenotypic and genotypic antimicrobial profiles in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* from the same dairy cattle farms / Scaria J., Warnic L. D. // Kaneene J. B., May K., Teng C. H., Chang Y. F. // Molecular And Cellular Probes. – 2010. – Dec; Vol. 24 (6). – P. 325-45.
- 6.Питание и метаболизм патогенных микроорганизмов / Л. Я. Теляшевская, Н. К. Букова, А. А. Комаров, В. Т. Ночевный. – М.: Издательский дом «Научная библиотека». – 2016. – 156 с.
- 7.Didari, T. A systematic review of the safety of probiotics / T. Didari, S. Solki, S.

Mozaffari, S. Nikfar, M. Abdollahi // Expert Opin Drug Saf. – 2014. – Vol. 13. – № 2. – P. 227-239.

8.Kaur, I. P. Probiotics: potential pharmaceutical applications / I. P. Kaur, K. Chopra, A. Saini // Eur J Pharm Sci. – 2002. – Vol. 15. – № 1. – P. 1-9.

9.Aflatoxin, fumonisin and shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in calves and the effectiveness of Celmanax® / Dairyman's Choice™ applications to eliminate morbidity and mortality losses / D. Baines, M. Sumarah, G. Kuldau, J. Juba, A. Mazza, L. Masson // Toxins. – 2013. – Vol. 5. – P. 1872-1895.

10. Соколенко, Г. Г. Пробиотики в рациональном кормлении животных / Г. Г. Соколенко, Б. П. Лазарев, С. В. Миньченко // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2015. – № 1 (5). – С. 72-78.

11. The influence of a complex of probiotic cultures on intensity of development the animals N. A. Ozheredova, E. V. Svetlakova, M. N. Verevkina, A. N. Simonov, N. V. Vasiliev // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. March. – April. – 2016. – №7 (2). – P. 1638-1642.

УДК: 619:615.9:636.5

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.71

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПРИ СМЕШАННОМ МИКОТОКСИКОЗЕ

Тарасова Е.Ю. – к. б. н., ст. науч.сотр., Хаммадов Н.И. – к. б. н., вед.науч.сотр., Матросова Л.Е. – д.б.н., зав. лаб. микотоксинов, Танасева С.А. – к.б. н., вед. науч. сотр., Ермолаева О.К. – к. б.н., ст. науч. сотр., Семёнов Э.И. – д.вет. н., глав.науч. сотр. ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

Ключевые слова: смешанный микотоксикоз, липидный профиль, повреждение ДНК, электрофорез, белые крысы. **Keywords:** combined mycotoxicosis, lipid profile, DNA damage, electrophoresis, white rats.



РЕФЕРАТ

Микотоксины - это вторичные метаболиты, продуцируемые грибами, загрязняющими пищевые продукты в полевых условиях или во время хранения. Эти метаболиты снижают продуктивность животных, повышают восприимчивость к инфекционным и паразитарным заболеваниям и вызывают репродуктивные патологии, ведущие к огромным экономическим потерям. Настоящий эксперимент проводился с целью определения влияния микотоксинов (Т-2 токсина, афлатоксина В1, зеараленона) на ростовые показатели, состояние минерального обмена, липидного профиля сыворотки, массу органов белых крыс и наличие повреждений ДНК, а также потенциальной возможности использования при смешанном микотоксикозе профилактической смеси (ПС), в состав которой входит галлуазит, метионин, β-глюканы, шрот расторопши.

Белых крыс (n=40) массой 150-170 г разделили на четыре группы по 10 крыс в каждой и использовали для исследования воздействия микотоксинов в течение трех недель. Первая группа крыс служила биологическим контролем. Второй и четвертой группам с кормом задавали афлатоксин В1, Т-2 токсин, зеараленон. Крысы 4 группы дополнительно к токсичному рациону получали ПС в

дозе 0,25 % от рациона; третья группа - 0,25 % ПС дополнительно к основному рациону.

Результаты показали, что воздействие микотоксинов вызывает падеж, снижает прирост массы тела, увеличивает абсолютный вес печени, почек и селезенки, содержание фосфата неорганического, триглицеридов, холестерина, а также липопротеинов низкой плотности, уменьшает количество общего кальция и липопротеинов высокой плотности. Методом горизонтального электрофореза выявлено генотоксическое действие изучаемых микотоксинов. Показано, что включение ПС в рацион снижало степень повреждения ДНК, а также уменьшало или устраняло неблагоприятные эффекты афлатоксина В1, зеараленона и Т-2 токсина.

ВВЕДЕНИЕ

Микотоксины являются ядовитыми, повсеместно встречающимися в природе соединениями, продуцируемыми различными видами грибов, появление которых в пищевой цепи неизбежно и представляет серьезную проблему в глобальном масштабе [4, 9]. Многочисленные исследования, посвященные токсическому действию микотоксинов, показали, что попадание грибковых токсинов в организм может привести к различным последствиям. Сообщалось, что микотоксины токсичны для нервной, иммунной и репродуктивной систем. Помимо угрозы здоровью человека и животных загрязнение сельскохозяйственных культур микотоксинами способствует значительным экономическим потерям. Считается, что наиболее токсичными для сельского хозяйства, животноводства и здравоохранения являются трихотецены, охратоксины, афлатоксины, зеараленон [5].

Т-2 токсин является одним из наиболее токсичных трихотеценовых микотоксинов. Всемирная организация здравоохранения классифицировала Т-2 токсин, как неизбежный загрязнитель сельскохозяйственных продуктов и кормов для животных, подавляющий синтез белка и впоследствии нарушающий синтез ДНК и РНК. Воздействие этого токсина связано с лейкопенией в лимфоидных органах, угнетением эритропоэза в костном мозге и селезенке. Генотоксический механизм Т-2 токсина, обладающего иммунодепрессивным свойством, нарушающим процесс созревания дендритных клеток за счет снижения пролиферативного ответа лимфоцитов, полностью не изучен [18].

Эстрогеноподобная природа зеараленона позволяет ему связываться с рецеп-

торами эстрогена и вызывать биологическое накопление. Биоаккумуляция зеараленона и его метаболитов может привести к нарушению гормонального баланса в организме и, как следствие, вызвать многочисленные заболевания репродуктивной системы. Мутагенная активность зеараленона, вызывающая генотоксическую активность (абберации микроядер и хромосом, разрывы цепей ДНК), все еще остается предметом дискуссий [22].

Афлатоксин В1 является кластогенным и гипертоксичным агентом, участвует во внепеченочном цикле, что приводит к хромосомным аномалиям, образованию микроядер, обмену сестринскими хроматидами, незапланированному синтезу ДНК и разрывам цепей ДНК [25]. Самым важным органом-мишенью афлатоксина В1 является печень, где токсин метаболизируется и вызывает многочисленные мутации.

Нарушение регуляции экспрессии липидов и генов, метаболизирующих липопротеины, вызванное микотоксинами, может быть одним из механизмов, связывающих микотоксины с измененным метаболизмом липидов и, в конечном итоге, с риском ишемической болезни сердца [23].

В целом, комбинированные эффекты микотоксинов *in vitro* и *in vivo*, в том числе на липидный статус животных, изучены недостаточно. Так как на практике корм чаще всего заражен не одним, а комплексом микотоксинов, особенно актуально изучение влияния на организм лабораторных и продуктивных животных комбинации наиболее часто встречаемых и наносящих огромный экономический ущерб микотоксинов (Т-2 токсина, зеараленона и афлатоксина В1).

На основании вышеизложенного важным вопросом остается создание эффективной стратегии профилактики и лече-

ния микотоксикозов. Целью настоящего исследования являлось определение влияния микотоксинов (Т-2 токсина, афлатоксина В₁, зеараленона) на ростовые показатели, состояние минерального обмена, липидного профиля сыворотки, массу органов белых крыс и наличие повреждений ДНК. Также оценивали потенциальную возможность использования при ассоциированном микотоксикозе, разработанной в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» профилактической смеси (ПС), в состав которой входит галлуазит, метионин, β-глюканы, шрот расторопши. Входящие в состав ПС компоненты отобраны благодаря их сорбционным, антиоксидантным и гепатопротекторным свойствам.

Общепризнанной мерой вмешательства в смягчение действия микотоксинов в кормовой промышленности сегодня является включение сорбирующих материалов. Наша стратегия заключалась в связывании афлатоксина В₁, зеараленона и Т-2 токсина, ингибировании всасывания в желудочно-кишечном тракте и выводе комплекса с экскрементами природным наноматериалом галлуазитом отечественного месторождения (ООО «Галлуазит-Урал»), ранее не применявшимся в России в качестве средства профилактики микотоксикозов.

В работах [6, 7, 8] показано, что галлуазит эффективно сорбирует Т-2 токсин, афлатоксины В₁ и В₂, зеараленон, а также охратоксин А *in vitro* и представляет собой двухслойный алюмосиликат с уникальной полой трубчатой структурой и высоким аспектным отношением. Размер нанотрубок галлуазита колеблется в пределах 15-30 нм и 50-70 нм внутреннего и внешнего диаметра. Такие характеристики, как уникальная трубчатая структура, высокое соотношение сторон, наноразмерные люмены, дешевизна и широкая доступность делают этот наноматериал очень перспективным для использования его в качестве потенциального адсорбента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

40 белых крыс массой 150-170 г были получены из вивария ФГБНУ «ФЦТРБ-

ВНИВИ». Крыс случайным образом распределяли на 4 группы по 10 крыс в каждой со свободным доступом к корму и воде. Экспериментальный период длился на протяжении трех недель. Животных акклиматизировали к лабораторным условиям в течение двух недель до начала эксперимента.

Биологическим контролем служила первая группа крыс (базальная диета), второй и четвертой группам с кормом задавали микотоксины: афлатоксин В₁ – 2,5 мг/кг; Т-2 токсин – 5 мг/кг; зеараленон – 2,0 мг/кг корма. Крысы 4 группы дополнительно к токсичному рациону получали ПС в дозе 0,25% от рациона. Третья группа получала 0,25 % профилактической смеси дополнительно к основному рациону. Крыс взвешивали в начале и конце опыта. Гибель и клинический ответ регистрировали ежедневно.

В конце экспериментального периода крысы голодали в течение ночи, затем их умерщвляли методом декапитации. Органы крыс (печень, почки, селезенку, тимус) вырезали и взвешивали. Для получения сыворотки кровь брали в пробирки без антикоагулянта. Образцы крови инкубировали (37 °С, 2 ч), центрифугировали при 1500 об / мин в течение 10 мин и отделяли сыворотку. Пробы сыворотки крови анализировали на содержание общего кальция и фосфата неорганического, а также липазы, общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Определение показателей проводили на биохимическом анализаторе АРД-200 (производство ООО «ВИТАКО», Россия) с использованием специальных наборов реагентов «Chronolab Systems S.L.» (Испания).

Генотоксичность оценивали на основе качественного анализа повреждений ДНК путем постановки горизонтального электрофореза тотальной ДНК в агарозном геле. В качестве красителя применяли бромистый этидий. Для выделения ДНК из крови крыс, взятых в пробирки с ЭДТА, использовали метод фенольно-хлороформной экстракции [12].

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась в соответствии с требованиями, приведенными в нормативных документах [2, 3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В этом исследовании оценивалась эффективность ПС для частичного или полного устранения токсического воздействия Т-2 токсина, афлатоксина В1 и зеараленона на показатели липидного и минерального обмена, вес органов, прирост массы тела и степень повреждения ДНК у белых крыс.

В группе крыс, получавших только микотоксины, клинические признаки отравления проявились в более ранние сроки и включали слабость, вялость, замедление роста, отказ от корма и снижение движения, в ротовой полости и углах рта имелись участки некроза. Диарея была наиболее постоянным симптомом, наблюдаемым с четвертых суток внесения афлатоксина В1, Т-2 токсина и зеараленона в корм. Клинические изменения у крыс четвертой группы были выражены очень слабо и проявлялись у отдельных крыс вялостью. У трех крыс четвертой группы отмечалась диарея. Клиническое состояние крыс третьей группы полностью соответствовало состоянию крыс группы биологического контроля. За весь период эксперимента в группе токсического контроля пало три крысы, падежа в других группах не наблюдалось.

Прирост массы тела на 21 сутки у крыс второй группы снижался на 32,9 % ($p < 0,001$) относительно контрольных значений. Профилактическая смесь, вводимая в рацион 4 группы крыс, смягчала отрицательное влияние микотоксинов на прирост живой массы. Масса тела в третьей группе снижалась на 11,7 %. В группе крыс, получавших дополнительно к рациону профилактическую смесь, отмечалось повышение массы тела на 7,7 % относительно группы биологического контроля, однако, повышение не было статистически достоверным.

После трехнедельного периода добавления в рацион смеси токсинов абсолют-

ный вес печени, почек и селезенки увеличивался на 38,1 % ($p < 0,001$); 30,8 % ($p < 0,01$); 44,8 % ($p < 0,001$), а тимуса уменьшался на 27,9 % ($p < 0,01$). Изменения в массе органов при добавлении в токсичный рацион ПС были менее выражены и превышали показатели массы органов крыс биологического контроля на 10,2; 8,9; 10,4 % соответственно, вес тимуса снижался на 11,6 %. Масса органов в группе с включением в рацион ПС также достоверно не отличалась от массы органов в группе биологического контроля.

Печень является органом-мишенью для биопреобразования афлатоксина В1 в эпоксид, который может связываться с ДНК, РНК и белками. Это связывание не только увеличивает относительный вес печени, но также накапливает пероксиды из-за инактивации антиоксидантных ферментов [24]. В соответствии с результатами [10] сообщается, что афлатоксин В1 увеличивает относительный вес печени вследствие накопления липидов в печени, что приводит к гепатомегалии. Сообщают [17] об увеличении относительного веса печени, связанного с тем, что афлатоксин и его метаболиты присутствуют в ткани печени в 10 раз выше, чем в мышечной ткани.

Включение микотоксинов также увеличивает относительный вес почек, что является показателем токсичности, связанной с приемом микотоксинов. Об увеличении относительной массы почек у кур-несушек, получавших афлатоксин, что также наблюдалось в нашем исследовании, сообщалось ранее [15].

Изменение относительной массы иммунных органов - одно из основных трансформаций, связанных с микотоксинами. Селезенка является главным иммунным органом тела животного, она тесно связана с гуморальным и клеточным иммунитетом. Воздействие зеараленона приводило к увеличению относительной массы селезенки, набуханию спленоцитов, снижению веса тимуса [13, 27].

Экспериментальная диета, загрязненная микотоксинами, снижала количество

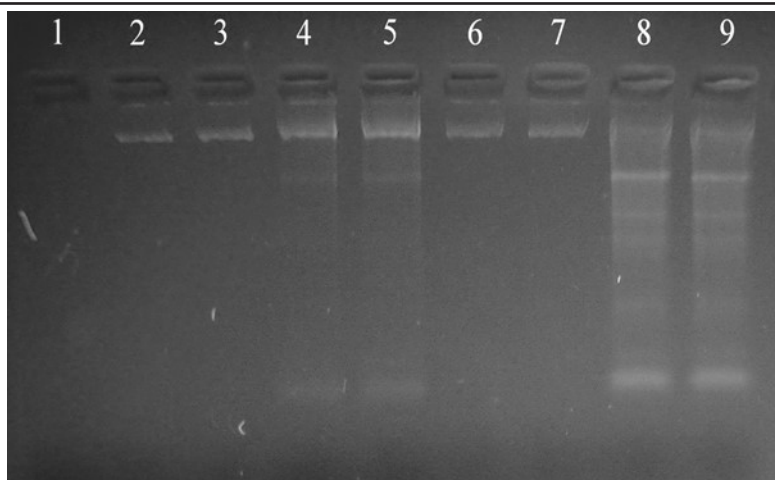


Рис. 1 – Электрофоретический анализ целостности ДНК (1 - контроль выделения ДНК (представляет собой результат прохождения всех стадий выделения ДНК, отличием в данном случае является использование деионизованной воды вместо анализируемой пробы); 2, 3- ДНК, выделенные из образцов крови крыс биологического контроля; 4, 5 - ДНК из образцов крови крыс, которые получали токсический рацион и ПС; 6, 7 - ДНК, выделенные из образцов крови крыс, которым к основному рациону задавалась ПС (контроль безвредности); 8, 9 - ДНК, выделенные из образцов крови крыс, которым задавали токсичный рацион).

общего кальция на 18,5 % ($p < 0,05$) и повышала содержание фосфата неорганического на 16,7 % ($p < 0,05$). В третьей и четвертой группах наблюдалась такая же тенденция, но статистически достоверных отклонений зафиксировано не было.

Потребление микотоксинов вызывает гистологические поражения почечных структур, в конечном итоге модифицируя функцию почек, либо вызывая поражение, либо изменяя транспорт ионов, что приводит к увеличению экскреции Са, Na [21], снижению экскреции неорганического фосфата и скорости клубочковой фильтрации [14].

При изучении влияния зеараленона, Т-2 токсина и афлатоксина В1 на липидный профиль на фоне и без включения ПС показано значительное повышение уровней триглицеридов, холестерина, а также липопротеинов низкой плотности во второй группе на 30,8 % ($p < 0,01$); 26,3 % ($p < 0,01$); 17,1 % ($p < 0,05$) соответственно. В отношении липопротеинов высокой плотности отмечалось снижение на 22,2

% ($p < 0,01$), выраженное слабее на фоне введения ПС (11,1 %). Введение ПС снижало уровни триглицеридов, холестерина и липопротеинов низкой плотности по сравнению с токсической группой. Повышение относительно группы биологического контроля составило 10,8; 7,3; 9,8 % в четвертой группе соответственно. В третьей группе триглицериды и липопротеины низкой плотности снижались на 6,2 и 4,9 %, холестерин повышался на 2,9 %.

Липиды - это молекулы, которые играют ключевую роль в метаболических путях. К липидам, имеющим клиническое и физиологическое значение, относятся жирные кислоты, триглицериды, холестерин и фосфолипиды. Эти липиды транспортируются в крови в виде липопротеинов, состоящих из гидрофобного ядра, окруженного гидрофильным слоем. Нарушение гомеостаза этих липидов и липопротеинов, приводящее к дислипидемии, характеризующейся гипертриглицеридемией, низким уровнем холестерина ЛПВП и повышенным холестерином ЛПНП, связано с

различными заболеваниями, включая сердечно-сосудистые заболевания [26].

Глюконеогенез и нарушения липидного обмена являются основными метаболическими эффектами после воздействия афлатоксина В1 [19]. Однако дозы, при которых возникают эти эффекты, и механизмы, лежащие в основе этих изменений, требуют дальнейшего изучения.

Результаты нашего эксперимента демонстрируют, что микотоксины индуцировали повреждение печени с сопутствующей дислипидемией. Плазменная дислипидемия характеризовалась повышенными концентрациями холестерина, триглицеридов и пониженными концентрациями ЛПВП.

Вызванное микотоксинами увеличение триглицеридов в плазме, наблюдаемое в нашем исследовании, согласуется с результатами [11].

На протяжении многих лет сообщалось, что гипертриглицеридемия увеличивает риск ишемической болезни сердца. Одним из ферментов, участвующим в регуляции триглицеридов плазмы, является липаза печени. Печеночная липаза – это липолитический фермент, синтезируемый гепатоцитами и обнаруживаемый в печени, надпочечниках и яичниках. Печеночная липаза играет многофункциональную роль в метаболизме липопротеинов, она регулирует содержание фосфолипидов, триглицеридов и холестерина в липопротеинах из-за своей роли в качестве фосфолипазы и триглицерид липазы [20].

Липаза в сыворотке крови крыс второй группы повышалась на 19,4 % ($p < 0,05$), тогда как в третьей группе на 4,4 %, четвертой группе – 6,0 % соответственно.

Далее провели оценку генотоксичности комплекса микотоксинов на фоне и без применения ПС (рисунок 1).

Многочисленные исследования показали, что микотоксины являются генотоксическими агентами и вызывают образование ДНК-аддуктов и фрагментацию ДНК [1].

При воздействии микотоксинов в течение трех недель выявлено свечение в широком диапазоне пробега ДНК, начинаю-

щееся от основания лунки и заканчивающееся в непосредственной близости от краски буфера для внесения образца для электрофореза, включая свечение, характерное для неповрежденной ДНК. Интенсивность свечения и разнообразие пройденного пути (массы фрагментов ДНК) указывают на значительные повреждения ДНК в исследуемых образцах группы токсического контроля.

Свечение в треках с образцами ДНК, выделенных из крови крыс группы биологического контроля, выявлено в основании лунки (место введения образца) и в непосредственной близости от неё, данные свечения вызваны как хромосомальной ДНК (свечение в основании лунок) так и ядерной ДНК различных структурных компонентов клетки (свечение вблизи от лунки).

В образцах от четвертой группы крыс наблюдается свечение, аналогичное образцам группы биологического контроля (неповрежденная ДНК), кроме того отмечается слабое свечение более низкой молекулярной массы, что свидетельствует о повреждении ДНК в малой степени. Характер свечения образцов ДНК из третьей группы крыс аналогичен трекам группы биологического контроля (неповрежденная ДНК) и свидетельствует о безопасности ПС.

В нашем исследовании включение ПС в токсический рацион уменьшало вызванное Т-2 токсином, афлатоксином В1 и зеараленоном повреждение ДНК у крыс.

ВЫВОДЫ

Текущее исследование показало, что ассоциированное воздействие микотоксинов на крыс вызывает повреждения ДНК, изменения массы отдельных органов, параметров минерального обмена, липидного профиля, а также значительно снижает привесы. Показано, что ПС была безопасной и эффективной в снижении токсического действия Т-2 токсина, зеараленона и афлатоксина В1. Защитный эффект, разработанной нами профилактической смеси, можно объяснить сорбционными, антиоксидантными, гепатопротекторными свойствами, входящими в ее

состав компонентов. Полученные данные свидетельствуют о том, что изучаемая профилактическая смесь смягчает некоторые токсические эффекты микотоксинов, является перспективной и требует дальнейшего изучения в качестве средства профилактики смешанных микотоксикозов у продуктивных животных.

Study of the complex preventive agent effectiveness against combined mycotoxicosis. Tarasova E.Yu. - Candidate of biological Sciences, senior researcher; Khammadox N.I. - Candidate of biological Sciences, senior researcher; Matrosova L.E. - Doctor of Biological Sciences, head of the Laboratory of Mycotoxins; Tanaseva S.A. - Candidate of biological Sciences, senior researcher; Ermolaeva O.K. - Candidate of biological Sciences, senior researcher; Semenov E.I. - Doctor of Veterinary Sciences, chief research. "Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety"

ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi that contaminate food at the field or during storage. These metabolites reduce the productivity of animals, increase the susceptibility to infectious and parasitic diseases and cause reproductive pathologies, leading to huge economic losses. The present experiment was conducted to determine the effect of mycotoxins (T-2 toxin, aflatoxin B1, zearalenone) on growth indicators, the state of mineral metabolism, serum lipid profile, the mass of organs of white rats and the presence of DNA damage, as well as the potential use of a prophylactic mixture (PS), which includes galloisite, methionine, beta-glucans, milk thistle meal. White rats (n = 40) weighing 150-170 g were divided into four groups of 10 rats each and used to study the effects of mycotoxins for three weeks. The first group of rats served as a biological control. The second and fourth food groups were given aflatoxin B1, T-2 toxin, and zearalenone. The rats of the 4th group, in addition to the toxic diet, received PS in a dose of 0.25% of the diet; the third group - 0.25% PS in addition to the main diet. The results showed that exposure to mycotoxins causes mortality, reduces body weight gain, increases the absolute weight of the liver, kidneys and spleen, the content of inorganic phosphate, triglycerides, cholesterol, and low density lipoproteins, reduces the amount of total calcium and high density lipoproteins. The genotoxic effect of the

studied mycotoxins was revealed by the method of horizontal electrophoresis. It was shown that the inclusion of PS in the diet reduced the degree of DNA damage, and also reduced or eliminated the adverse effects of aflatoxin B1, zearalenone and T-2 toxin.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян, Т.А. Оценка генотоксических эффектов группы микотоксинов *in vivo* методом ДНК-комет / Т.А. Арутюнян, Р.М. Арутюнян, Г.Г. Оганесян [и др.] // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. - 2013. - № 2. - С. 63-66.
2. ГОСТ 34100.1-2017/ ISO/ IEC Guide 98-1:2009. Неопределенность измерения. Введение в руководства по выражению неопределенности измерения. М.: Стандартинформ. - 2018. - 28 с.
3. ГОСТ Р 8.736-2011. Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. М.: Стандартинформ. - 2013. - 24 с.
4. Макаева, А.Р. Мониторинг питательной ценности и химической безопасности основных кормов республики Татарстан по результатам исследований, выполненных в 2019 году / А.Р. Макаева, О.В. Шлямина, И.М. Фишев // Булларовские сообщения. - 2020. - Т.62. - №4. - С. 123-128.
5. Танасева, С.А. Эффективность адсорбентов при сочетанном микотоксикозе цыплят-бройлеров / С.А. Танасева, Е.Ю. Тарасова, Л.Е. Матросова [и др.] // Международный вестник ветеринарии. - 2020. - №4. - С. 50-56.
6. Тарасова, Е.Ю. Изучение сорбционной активности потенциальных средств профилактики микотоксинов в отношении афлатоксинов / Е.Ю. Тарасова, Э.И. Семенов, Л.Е. Матросова [и др.] // Ветеринарный врач. - 2020. - №2. - С. 51-58.
7. Тарасова, Е.Ю. Нанотрубки галлуазита - новое эффективное средство для борьбы с микотоксикозами / Тарасова Е.Ю., Семенов Э.И., Матросова Л.Е., М.И. Канин // Научная жизнь. - 2020. - Т.15. - №4(104). - С. 561-571.
8. Тарасова, Е.Ю. Изучение сорбционной активности нанотрубок галлуазита по отношению к зearаленону и охратоксину А / Е.Ю. Тарасова // Вестник Марийского государственного университета. Серия

- «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». - 2021. - Т. 7. - № 1. - С. 71–76.
- 9.Тремасов, М.Я. Микотоксины - реальная угроза продовольственной безопасности / М.Я. Тремасов, А.В. Иванов, Е.Ю. Тарасова // Вестник ветеринарии. - 2013. - № 2 (65). - С. 78-80.
- 10.Ali Rajput, S. Ameliorative effects of grape seed proanthocyanidin extract on growth performance, immune function, antioxidant capacity, biochemical constituents, liver histopathology and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B1 / S. Ali Rajput, L. Sun, N. Zhang [et al.] // *Toxins*. - 2017. - № 9. - P. 371.
- 11.Assumaidae, A.A.M. Synbiotic (poultrystar® sol) protects rat liver from oxidoreductive stress induced by T2-mycotoxicity / A.A.M. Assumaidae, N.M. Ali, Z.O. Ibraheem // *Systematic Reviews in Pharmacy*. - 2020. - №11(4). - P. 456-467.
- 12.Buffone, G.J. Isolation of DNA from biological specimens without extraction with phenol / G.J.Buffone, G.J.Darlington // *Clinical chemistry*. - 1985. - № 31(1). - 164-165.
- 13.Chen, X.X. Zearalenone altered the serum hormones, morphologic and apoptotic measurements of genital organs in post-weaning gilts / X.X. Chen, C.W. Yang, L.B. Huang [et al.] // *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* - 2015. - №28(2). - P. 171.
- 14.Dazuk, V. Laying hens fed mycotoxin-contaminated feed produced by *Fusarium* fungi (T-2 toxin and fumonisin B1) and *Saccharomyces cerevisiae* lysate: Impacts on poultry health, productive efficiency, and egg quality / V. Dazuk, M.M. Boiago, G. Rolim [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. - 2020. - №149. - 104517.
- 15.Fernandez, A. Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed aflatoxin containing feed / A. Fernandez, M.T. Verde, M. Gascon [et al.] // *Avian Pathol.* - 1994. - №23. - P. 37-47.
- 16.Lee, J.T. Mycotoxin-contaminated diets and deactivating compound in laying hens: Effects on performance characteristics and relative organ weight / J.T. Lee, K.A. Jessen, R. Beltran [et al.] // *Poultry Science*. - 2012. - №91(9). - P. 2089-2095.
- 17.Lee, J.T. Mycotoxin-contaminated diets and deactivating compound in laying hens: Effects on performance characteristics and relative organ weight / J.T. Lee, K.A. Jessen, R. Beltran [et al.] // *Poultry Science*. - 2012. - №91(9). - P. 2089-2095.
- 18.Ling, A. Individual and combined cytotoxic effects of T-2 toxin and its four metabolites on porcine Leydig cells / A. Ling, L.Sun, W.Guo [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* - 2020. - V.139. - 111277.
- 19.Lu, X. Integrated analysis of transcriptomics and metabonomics profiles in aflatoxin b1-induced hepatotoxicity in rat / X. Lu, B. Hu, L. Shao [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* - 2013. - №55. - P. 444-455.
- 20.Perret, B. Hepatic lipase structure/function relationship, synthesis, and regulation / B. Perret, L. Mabile, L. Martinez [et al.] // *Lipid Res.* - 2002. - №43. - P. 1163-1169.
- 21.Rashidi, N. Effects of licorice extract, probiotic, toxin binder and poultry litter biochar on performance, immune function, blood indices and liver histopathology of broilers exposed to aflatoxin-B1 / N. Rashidi, A. Khatibjoo, K. Taherpour [et al.] // *Poultry Science*. - 2020. - №99(11). - P. 5896-5906.
- 22.Rogowska, A. A study of zearalenone biosorption and metabolisation by prokaryotic and eukaryotic cells / A. Rogowska, P. Pomastowski, K. Rafińska [et al.] // *Toxicon*. - 2019. - V. 169. - P. 81-90.
- 23.Rotimi, O.A. Acute aflatoxin B1 - induced hepatotoxicity alters gene expression and disrupts lipid and lipoprotein metabolism in rats / O.A. Rotimi, S.O. Rotimi, C.U. Duru // *Toxicology Reports*. - 2017. - №4. - P. 408-414.
- 24.Shannon, T. The efficacy of raw and concentrated bentonite clay in reducing the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks / T. Shannon, D. Ledoux, G. Rottinghaus [et al.] // *Poult. Sci.* - 2017. - №96. - P. 1651-1658.
- 25.Theumera, M.G. Subchronic mycotoxicoses in Wistar rats: Assessment of the in vivo and in vitro genotoxicity induced by fumonisins and aflatoxin B1, and oxidative stress biomarkers status / M.G. Theumera // *Toxicology*. - 2018. - V. 268. P. 104-110.
- 26.Ungurianu, A. Lipoprotein redox status evaluation as a marker of cardiovascular disease risk in patients with inflammatory disease / A. Ungurianu, D. Margină, D. Grădinaru // *Mol. Med. Rep.* - 2017. - №15. - P. 256-262.
- 27.Virk, P. Protective effect of resveratrol against toxicity induced by the mycotoxin,

УДК 619:576.89:636.22/.28

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ГАЛОКУР И ПАРОФОР 70 ДЛЯ ТЕРАПИИ ТЕЛЯТ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ

Колесников В.И. - д.в.н., профессор, Четвертнов В.И. – к.в. н.
ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ»

Ключевые слова: телята, криптоспоридии, Галокур, Парофор 70, эффективность.
Keywords: calves, cryptosporidium, Halokur, Parofor 70, effectiveness



РЕФЕРАТ

В ходе проведения мониторинга зараженности крупного рогатого скота инвазионными болезнями в СПА «колхоз им. Ворошилова» Ставропольского края и в ООО «Кубанский молочно-товарный комплекс» Краснодарского края, нами установлена высокая зараженность телят возбудителем *Cryptosporidium parvum*. Целью работы было провести сравнительный анализ эффективности применяемых в этих хозяйствах препаратов Галокур и Парофор 70 для профилактики и лечения телят при криптоспоридиозе.

Исследование проб фекалий проводили с двукратным центрифугированием, применяя раствор молочной кислоты и диэтиловый эфир, с последующим окрашиванием по Цилло-Нильсену. Степень заражения животных криптоспоридиями определяли согласно методике, по которой при увеличении в 600 раз просматриваются 20 полей зрения. Обнаружение нескольких ооцист (до 5) во всех полях оценивали знаком + (слабая инвазия), 1-3 ооцисты в одном поле зрения ++ (средняя), а 4 и более +++ (сильная инвазия). Установлено, что Галокур в дозе 2мл/10кг живой массы, примененный однократно и индивидуально, оказывает постепенное действие. Снижение интенсивности инвазии (с высокой до средней) наступает лишь на 7-ой день, примерно в это время проходит и диарея. Однако, полное избавление от криптоспоридий наступает только на 20-21 день с начала лечения. При применении препарата Парофор 70 в дозе 25г/гол (1 раз/сутки в течение 5 дней) - снижение интенсивности инвазии (с высокой до средней) наблюдается уже в первые 2-3 дня с момента лечения. Продолжительность диареи составляла, как и в случае с применением Галокура, - 7 дней. Полное избавление животных от криптоспоридий наступило на 10-12 день с момента применения препарата.

ВВЕДЕНИЕ

Совершенствование молочного животноводства как важнейшей отрасли сельского хозяйства подразумевает не только повышения генетического потенциала поголовья, уровня его содержания и кормления, но и поддержания здоровья, начиная уже с момента получения телят [10]. Известно, что с момента рождения, телята в значительной степени подвергаются проникновениям агентов заразной этиологии, в том числе и инвазионной, которые характеризуются поражениями в

первую очередь желудочно-кишечного тракта. Так, по заверению многих ученых [2,3,4,7,9] молодняк, в первые дни жизни, сталкивается с паразитированием криптоспоридий (*Cryptosporidium parvum*), сопровождающимся резким ухудшением здоровья, выражающимся серьезным поражением кишечника, профузной диареей, обезвоживанием организма, и как следствие, в большинстве случаев, падежом. Переболевший молодняк, получивший несвоевременное или недостаточно эффективное лечение, в дальнейшем отстает в росте, подвергается заражением

другими болезнями, в основном бактериальной и вирусной этиологии [4].

О повсеместном распространении криптоспоридий во внешней среде и заражением человека, диких и сельскохозяйственных животных указывают многие исследователи [2, 3, 4, 13].

Для борьбы с криптоспоридиозной инвазией в ветеринарной практике предложено множество препаратов – это кокцидиостатики, антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны [4].

В исследовании Петровича Е.В. [8] эффективность Байкокса 2,5% в дозе 0,3мл/кг при двукратном применении 2 дня подряд с интервалом 5 суток составила 100%. Однако, выздоравливали такие телята не ранее 10-11 суток после применения препарата.

Нами [11] был проведен сравнительный анализ эффективности препаратов Азитронит и Галокур и установлено, что более эффективен Галокур, применение которого, согласно инструкции, обеспечило прекращение диареи на 6-7 день, а выделение ооцист криптоспоридий на 19-й день с начала терапии. В другом опыте, лечение телят препаратом Галокур в сочетании с настоем зверобоя и лактулозы показало более высокую эффективность, чем применение только Галокура. Уже на 10-й день наблюдений сочетание препаратов обеспечило полное избавление 80% животных, в то время как применение Галокура лишь снизило зараженность животных. Стоит отметить, что продолжительность диареи в обоих вариантах терапии оказалась одинаковой и составила 8 дней. Диарея в случае применения сочетанных препаратов, как полагают авторы, обуславливается послабляющим эффектом лактулозы. Применение настоя зверобоя и лактулозы снизило продолжительность выделения скрытой крови с калом и составило в среднем 3-4 дня, в то время как при применении Галокура выделение скрытой крови продолжалось до 5 дней.

Целью наших исследований являлось определение сравнительной эффективности препаратов Галокур и Парофор 70 при криптоспоридиозе телят, применяемой ветеринарными специалистами в двух

молочно-товарных комплексах Ставропольского и Краснодарского краев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На основании ранее проведенного опыта по определению эффективности препаратов Азитронит и Галокур [11], мы проводили постоянный мониторинг зараженности телят криптоспоридиями, путем отбора проб фекалий от телят (n=10) в возрасте 5- 20 дней (с февраля по май 2021 года), с целью определения эффективности применяемого Галокура в производственных условиях. Работу проводили в СПА «колхоз им. Ворошилова» Новоалександровского района Ставропольского края, неблагополучного по криптоспоридиозу крупного рогатого скота (поголовье составляло 2,5 тыс.).

В этот же период проводили обследование поголовья молочного скота всех возрастных групп в ООО «Кубанский молочно-товарный комплекс» расположенный в Калининском районе Краснодарского края для определения эффективности ветеринарных мероприятий по профилактике и лечению животных при паразитарных болезнях (поголовье составляло 13,5 тыс.).

Данное хозяйство также на протяжении нескольких лет является неблагополучным по криптоспоридиозу телят, в борьбе с которым применялся Галокур. Ветеринарными специалистами хозяйства, в поисках препарата с лучшей эффективностью было принято решение применить Парофор 70. Препарат применяли согласно инструкции: 25г/гол. 1 раз/сутки в течение 5 дней.

Отбор проб фекалий (n=10) проводили, начиная с 4-5 дня жизни теленка, уже с момента проявления клинических признаков криптоспоридиоза (диарея, повышенная температура тела, угнетенное состояние) в 1, 2, 3, 5, 7, 9, 12, 15 день наблюдений.

Исследование проб фекалий проводили методом предложенным Кирилловым Е.Г. [5], с двукратным центрифугированием, применяя раствор молочной кислоты и диэтиловый эфир с последующим окрашиванием по Цилю-Нильсену. Сте-

пень заражения животных криптоспоридиями определяли согласно предложенной Никитиным В.Ф. методике [7], где при увеличении в 600 раз просматриваются 20 полей зрения. Обнаружение нескольких ооцист (до 5) во всех полях оцениваются знаком + (слабая инвазия); 1-3 ооцисты в одном поле зрения - ++ (средняя); а 4 и более - +++ (сильная инвазия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований установили, что Галокур оказывает постепенное действие, снижение зараженности с высокой интенсивностью инвазии (+++) до средней (++) наступает только на 7-ой день, примерно в это время проходит и диарея, но полное избавление от криптоспоридий наступало лишь на 20-21 день с начала лечения.

При применении препарата Парофор 70 высокая интенсивность инвазии (+++) наблюдается только в первые 2-3 дня (у 9 из 10 телят) с момента лечения, но продолжительность диареи составляла, как и в случае с применением Галокура 7 дней. Среднюю степень зараженности (++) в большинстве случаев (у 8 из 10 телят) наблюдали с 3 по 9 день исследований, а затем лишь низкую (+) зараженность. Полное избавление животных от криптоспоридий наступило уже на 10-12 день с момента лечения.

Кириллов и др. [5], проведя сравнительный анализ эффективности Амоксицилина, Ампролиума, Дитрима, Азитронита в дозах, согласно инструкции, установили, что высокой эффективностью обладает препарат Азитронит (содержащий азитромицин), экстенсивность (ЭЭ) которого составила 85,7 %, диарея телят длилась в среднем чуть более трёх суток, интенсивность инвазии (ИИ) паразитами снизилась до $0,29 \pm 0,31$ экз., интенсификтивность (ИЭ) препарат показал 97,4%, а ЭЭ - 95,3%.

Несколько другие результаты получились у нас [11] при терапии телят препаратом Азитронит при криптоспоридиозе. Продолжительность диареи составляла 9-10 дней. Полное избавление от паразитов

через 21 день наблюдалось лишь у половины животных. Остальные животные по-прежнему имели слабую зараженность. Результаты наших исследований совпадают с данными, полученные Гавриловой Н.А. с коллегами [1], когда препарат содержащий, в том числе и Азитромицин (Азифлумин) в дозе 1 мл/20 кг массы животного, применяемый ежедневно, однократно, курсом 5 дней недостаточно эффективен при криптоспоридиозе телят. И более того, увеличение курса лечения до 7 дней приводило к повышению эффективности лечения, но не избавляло животных полностью от криптоспоридий.

В дальнейшем, Кириллов Е.Г. с соавторами [5] сообщает, что при криптоспоридиозе телят более эффективным является сочетание препарата Азитронит с Миксофероном (ЭЭ составила 85,7 %, а ИЭ – 97,4 %), диарея при этом продолжалась не более 2-4 дней. В производственных условиях ЭЭ испытуемого препарата показала 77,1 %.

При применении Галокура и пробиотика Споровит нормализация общего состояния телят регистрируется уже на 3-5 сутки и продолжительность комплексной терапии сокращается на 2 дня сообщает Иванюк В.П. с соавторами [4].

Зарубежные ученые [10] проводили опыты по применению дрожжевой культуры, обогащенной маннан-олигосахаридом (пребиотик) и *Vacillus subtilis* (пробиотик) и их комбинации (синбиотик) при криптоспоридиозе телят, влиянию их на продолжительность диареи, возраста возникновения диареи, выделения из фекалий ооцист *Cryptosporidium*, кишечных патогенов и вероятности возникновения этой болезни и пневмонии у телят до отправки на товарную (молочную) ферму. В ходе опыта было установлено, что телята, получавшие пробиотики, через 14 дней в 100 раз выделяли меньше ооцист *Cryptosporidium*, а у телят, получавших пребиотики, было меньше *Escherichia coli* через 42 дня по сравнению с контрольными телятами, хотя не было никакого влияния на продолжительность диареи или заболеваемо-

сти пневмонией у телят. Авторы полагают, что более высокий прирост живой массы может отражать воздействие лечения на кишечные патогены в процессе выращивания.

ВЫВОДЫ

Анализ полученных результатов опытов показал, что из предлагаемых ветеринарной практике препаратов наиболее высокую эффективность при криптоспориidioзе телят показал Парофор 70 в дозе 25г/гол, 1 раз/сутки в течение 5 дней. При его применении снижение ИИ (с высокой до средней) наблюдается уже в первые 2-3 дня с момента лечения, продолжительность диареи составляла 7 дней, а полное избавление животных от ооцист криптоспоридий наступило на 10-12 день с момента применения препарата. При применении Галокура в дозе 2мл/10кг живой массы, однократно, индивидуально, снижение ИИ (с высокой до средней) наступает только на 7-ой день и полное избавление от ооцист криптоспоридий наступает на 20-21 день с начала лечения.

Comparative efficiency of halocur and parofor 70 preparations for therapy of calves in cryptosporidiosis. V.I. Kolesnikov, Doctor in Veterinary Science, Professor, V.I. Chetvertnov, PhD of Veterinary Sciences

ABSTRACT

During the monitoring of the infection of cattle with infectious diseases in the "collective farm of Voroshilov" of the Stavropol Territory and in the LLC "Kuban dairy-commodity complex" of the Krasnodar Territory, we established a high infection of calves with the causative agent *Cryptosporidium parvum*. The aim of the work was to carry out a comparative analysis of the effectiveness of the Halocur and Parofor-70 preparations used in these farms for the prevention and treatment of calves with cryptosporidiosis. The study of faecal samples was carried out with double centrifugation using a solution of lactic acid and diethyl ether, followed by staining according to Ziehl-Nielsen. The degree of infection of animals with cryptosporidium was determined according to the method to which with a magnification of 600 times 20

fields of vision are viewed. The detection of several oocysts (up to 5) in all fields was assessed by the + sign (low invasion), 1-3 oocysts in one field of view ++ (medium invasion), and 4 or more +++ (strong invasion). It has been established that Halocur at a dose of 2ml/10kg of live weight, applied once and individually, - has a gradual effect. A decrease in the intensity of invasion (from high to medium) occurs only on the 7th day, around this time the diarrhoea also disappears. However, complete elimination of cryptosporidium occurs only 20-21 days after the start of treatment. When using the preparation Parofor-70 at a dose of 25 g / head (1 time/day for 5 days) - a decrease in the intensity of invasion (from high to medium) is observed already in the first 2-3 days from the moment of treatment. And the duration of diarrhoea was, as in the case with the use of Halocur - only 7 days. The animals were completely rid of Cryptosporidia 10-12 days after the preparation was used.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилова, Н.А. Применение препарата «Азифлумин» при криптоспориidioзе телят /Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, Ю.А.Щербина // Материалы Международной научно-практической конференции «Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК», посвященной 100-летию кафедры фармакологии и токсикологии СПбГУВМ. - 2021.- С. 49-52.
2. Дмитриева, Е. Л. Обсемененность объектов окружающей среды ооцистами криптоспоридий в Курской области/Е.Л. Дмитриева //Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. Матер. науч. конф. - Москва, 2007 - С. 118-120.
3. Дмитриева, Е.Л. Зараженность водных млекопитающих естественных экосистем криптоспоридиями/Е.Л. Дмитриева, Н.С. Мальшева// Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - М. - 2007 - № 1. С.51-52.
4. Иванюк, В.П. Эпизоотология, патогенез и меры борьбы с криптоспориidioзом телят/В.П. Иванюк, Г.Н. Бобкова, Е.А. Кривопушкина//Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2019. № 6 (80). С. 219-223.

5. Кириллов, Е.Г. Оценка терапевтической эффективности различных препаратов при криптоспориidioзе телят/ Е.Г. Кириллов, Д.Г. Латыпов, И.Н. Залялов [и др.] // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. - Казань. - 2016. - Т. 225. - С. 39-42.
6. Кулясов, П.А. Патоморфологическая оценка действия ципрофлоксацина и ампролиума на лимфоидные органы при криптоспориidioзе /П.А. Кулясов// автореф. на соиск. ученой степ. канд. вет. наук. - Саранск, 2011. -19 с.
7. Никитин, В.Ф. Криптоспориidioз домашних животных. - М.: ВИГИС, 2007. 36с.
8. Петрович, Е.В. Эффективность пробиотиков и Байкокса при спонтанном криптоспориidioзе телят/Е.В. Петрович // Ветеринария. 2010.- №9.-С.32.
9. Печура, Е.В. Распространение кокцидиозов крупного рогатого скота в животноводческих помещениях Свердловской области/Е.В. Печура, А.П. Порываева, И.М. Сажаяев, Н.А. Куткина// Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2020.- № 83. С. 187-194.
10. Сульга, Н.В. Состояние и перспективы развития отрасли молочного скотоводства в Ставропольском крае/ Н.В. Сульга, Г.П. Ковалева, М.Н. Лапина, В.А. Витол//Генетика и разведение животных. 2020. № 4. С. 11-16.
11. Четвертнов, В.И. Терапия телят при криптоспориidioзе /В.И. Четвертнов, Е.А. Киц, О.Э. Грига // Международный вестник ветеринарии. - 2020, №4. - С.19-24.
12. Lucey P.M., Aly S.S., Rossow H.A., Lean I.J., Golder H.M., Block E., Thompson J.S. Effects of mannan-oligosaccharide and bacillus subtilis supplementation to preweaning Holstein dairy heifers on body weight gain, diarrhea, and shedding fecal pathogens//Journal of dairy science// 2021, T. 104, № 4, S.4290-4302.
13. Walter E.M., Charles M., Elick O., Manfred M., Domitila K. Prevalence of zoonotic cryptosporidium ssp. Isolates in Njoro subcounty, Nacuru county, Kenya// African Journal of Infectious Diseases. -2021, T. 15, № 2, S. 3-9.

УДК: 615.244:636.2.034

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.84

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ-ПРОТЕКТОРОВ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТАГОНИСТОВ CGPR-РЕЦЕПТОРОВ

Понамарёв В.С.- асс. (ORCID: 0000-0002-6852-3110), Попова О.С.- к.вет.н., доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837).

Ключевые слова: гепатопротекторы, гепатобилиарная система, «Гепатон», антагонисты CGPR-рецепторов. **Key words:** hepatoprotectors, hepatobiliary system, Hepaton, CGPR receptor antagonists



РЕФЕРАТ

В настоящее время считается, что пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP), играет одну из ключевых ролей не только в патофизиологии ноцицепционно-опосредованных патологий, но и в механизмах развития воспалительно-дистрофических явлений в местах локализации наибольшего числа CGRP-рецепторов, одним из которых является гепатобилиарная система.

Для нацеливания на лиганды CGRP и рецепторы CGRP были разработаны два типа лекарственных веществ, блокирующих функцию CGRP: моноклональные антитела (содержащие антитела либо против самого CGRP, либо против его рецептора) и малые молекулы (гепанты)[3,5]. Решающим преимуществом использования препаратов моноклональных антител является их не связанный с печенью метаболизм, а так же отсутствие влияния на фармакокинетику и фармакодинамику на другие низкомолекулярные лекарственные средства при одновременном применении.

Основная цель данного исследования- оценить перспективность потенцирования препаратов-протекторов гепатобилиарной системы с использованием антагонистов CGPR-рецепторов.

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что гепатопротекторный препарат «Гепатон» в сочетании с моноклональными антителами класса G2 (IgG2), с высокой аффинностью связывающееся с рецептором кальцитонин-ген-родственного пептида достоверно уменьшает продолжительность гексеналового сна, что свидетельствует об активации детоксицирующей функции печени при воздействии комбинации подобных препаратов, что свидетельствует о потенцировании препаратов-протекторов гепатобилиарной системы с использованием антагонистов CGPR-рецепторов.

Основываясь как на экспериментальных, так и на данных из научной литературы, можно сделать вывод, что препараты-антагонисты CGPR-рецепторов имеют в перспективе крайне широкий спектр своего применения, в том числе и для потенцирования других лекарственных веществ, применяемых для фармакокоррекции различных патологий.

Рациональное влияние на CGPR-рецепторы достоверно позволяет влиять на поддержание гомеостаза и ноцицепции гепатобилиарной системы.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время считается, что пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP), играет одну из ключевых ролей не только в патофизиологии ноцицепционно-опосредованных патологий, но и в механизмах развития воспалительно-дистрофических явлений в местах локализации наибольшего числа CGRP-рецепторов[9], одним из которых является гепатобилиарная система.

Рецептор CGRP находится в миелинизированном аксоне, который необходим для специфичности лиганда и функции рецептора[7]. Рецептор CGRP состоит из трех субъединиц: белка, модифицирующего активность рецептора (RAMP), кальцитониноподобного рецептора (CLR) и белка рецепторного компонента (RCP) [10]. Предполагается, что данный может модулировать количество различных физиологических функций во всех основных системах жизнедеятельности организма посредством влияния на вегетативную нервную систему[8].

Для нацеливания на лиганды CGRP и рецепторы CGRP были разработаны два типа лекарственных веществ, блокирующих функцию CGRP: моноклональные антитела (содержащие антитела либо против самого CGRP, либо против его рецептора) и малые молекулы (гепанты)[3,5]. Решающим преимуществом использования препаратов моноклональных антител является их не связанный с печенью метаболизм, а так же отсутствие влияния на фармакокинетику и фармакодинамику на другие низкомолекулярные лекарственные средства при одновременном применении.

Многочисленные клинические испытания моноклональных антител и гепантов CGRP, а теперь и некоторые данные о долгосрочном продлении с открытой маркировкой, установили их эффективность, безопасность и переносимость[6].

Основная цель данного исследования- оценить перспективность потенцирования препаратов-протекторов гепатобилиарной системы с использованием антагонистов CGPR-рецепторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данная научно-исследовательская работа была выполнена в виварии ФГБОУ ВО «СПбГУВМ».

Для исследований использовались белые нелинейные крысы из питомника РМН «Рапполово» Ленинградской области. Возраст крыс - от 3 до 5 месяцев, масса тела 180–220 г.

Перед исследованием все животные были подвергнуты профилактическому карантинированию. Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла 7 дней. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках (заболеваемость и смертность). Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены в группы по принципу аналогов.

В комнате содержания животных поддерживались следующие условия окружающей среды: температура окружающей среды 18-24 градусов Цельсия; относительная влажность 50-60%; автоматическая смена 12-ти часового светового периода (06.00-18.00 – день, 18.00-06.00 – ночь); 100% вентиляция без рециркуляции со сменой воздуха 7-12 объемов комнаты в час.

Крыс содержали в поликарбонатных клетках на подстилке площадью 2150 см² по 3 животных на клетку. В качестве подстилки использовались опилки деревьев хвойных пород, стерилизованные в сухожаровом шкафу. Для кормления животных использовался комбикорм полнорационный для лабораторных животных ЛБК-120 (Госненский комбикормовый завод), соответствующий ГОСТ 34566-2019. Профильтрованная водопроводная вода давалась в стандартных автоклавированных питьевых бутылочках.

Для оценки перспективности потенцирования препаратов-протекторов гепатобилиарной системы с использованием антагонистов CGPR-рецепторов использовались препарат с гепатопротекторной

Таблица 1
Оценка влияния препарата «Гепатон-вет» в комбинации с препаратом «Иринэкс» на продолжительность гексеналового сна у белых крыс

Срок исследования	Продолжительность гексеналового сна (мин, М ±m)							
	Интактные		Контроль		Препарат «Гепатон-вет» в дозировке 0.5 мл/кг		Препарат «Гепатон-вет» в дозировке 0.5 мл/кг в сочетании с препаратом «Иринэкс» в дозировке 0,75 мл/кг	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
22 день эксперимента	27,2± 2,1	30,3± 4,2	27,8± 1,5	28,3± 2,1	20,4± 1,8*	19,0± 1,1*	17,6± 1,2*	17,8± 1,4

* достоверное отличие от контроля (p< 0.05)

активность «Гепатон» (разработчик-ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», терапевтическая дозировка для крыс- 0,5 мг/кг, продолжительность фармакокоррекции- 21 день)[4] в комбинации с моноклональными антителами класса G2 (IgG2), с высокой аффинностью связывающиеся с рецептором кальцитонин-ген-родственного пептида (эренумаб, «Иринэкс», дозировка для крыс- 0,75 мл/кг, используется однократно с периодичностью 1 раз в 30 дней) и их влияние на длительность гексеналового сна, что позволяло оценить их влияние на детоксицирующую функцию печени.

Методология полностью соответствовала предыдущей серии подобного эксперимента[1,2], за исключением второй подопытной группы, которой совместно с препаратом «Гепатон» задавался препарат «Иринэкс» в терапевтической дозировке.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по продолжительности гексеналового сна представлены в таблице 1.

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что гепатопротекторный препарат «Гепатон» в сочетании с моноклональными антителами класса G2 (IgG2), с высокой аффинностью связывающиеся с рецептором кальцитонин-ген-родственного пептида достоверно уменьшает продолжительность гексеналового сна, что свидетельствует об активации

детоксицирующей функции печени при воздействии комбинации подобных препаратов, что свидетельствует о потенцировании препаратов-протекторов гепатобилиарной системы с использованием антагонистов CGPR-рецепторов.

ВЫВОДЫ

Основываясь как на экспериментальных, так и на данных из научной литературы, можно сделать вывод, что препараты-антагонисты CGPR-рецепторов имеют в перспективе крайне широкий спектр своего применения, в том числе и для потенцирования других лекарственных веществ, применяемых для фармакокоррекции различных патологий.

Рациональное влияние на CGPR-рецепторы достоверно позволяет влиять на поддержание гомеостаза и ноцицепции гепатобилиарной системы.
Prospects for potentiation of hepatobiliary protector drugs using CGPR receptor antagonists.
Ponamarev V.S., Assistant, Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID: 0000-0002-6852-3110), Popova O. S.-Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Toxicology Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "SPbSUVN", ORCID: 0000-0002-6852-3110

ABSTRACT

Currently, it is believed that the calcitonin gene-associated peptide (CGRP) plays one of the key roles not only in the pathophysiology of nocyper-

ception-mediated pathologies, but also in the mechanisms of development of inflammatory-dystrophic phenomena in the sites of localization of the greatest number of CGRP receptors, one of the which is the hepatobiliary system.

To target CGRP ligands and CGRP receptors, two types of drugs have been developed that block CGRP function: monoclonal antibodies (containing antibodies either against CGRP itself or against its receptor) and small molecules (hepatics). The decisive advantage of the use of monoclonal antibody preparations is their non-liver-related metabolism, as well as the absence of an effect on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of other low-molecular-weight drugs when used simultaneously.

The main goal of this study is to assess the potential for potentiation of hepatobiliary protector drugs using CGPR receptor antagonists.

Analyzing the data obtained, it can be concluded that the hepatoprotective drug "Hepaton" in combination with monoclonal antibodies of class G2 (IgG2), which binds with high affinity to the receptor of calcitonin-gene-related peptide, significantly reduces the duration of hexenal sleep, which indicates the activation of the detoxifying function of the liver. when exposed to a combination of such drugs, which indicates the potentiation of drugs-protectors of the hepatobiliary system using antagonists of CGPR receptors.

Based on both experimental and scientific literature data, it can be concluded that drugs antagonists of CGPR receptors have an extremely wide range of applications in the future, including for potentiating other drugs used for pharmacological correction of various pathologies.

Rational influence on CGPR receptors can reliably influence the maintenance of homeostasis and nociception of the hepatobiliary system.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева, Н. Л. Влияние Гепатона на ректальную температуру и длительность гексеналового сна / Н.Л. Андреева, В. С. Понамарев, М. С. Голодяева // Международный вестник ветеринарии. – 2019. – № 3. – С. 44-47.
2. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств//Ведомости Фармакологического комитета. -1999. -№ 2. - С. 9-12.
3. Патент № 2672056 С2 Российская Федерация, МПК С07D 471/20, С07D 213/61, С07D 213/62. Способ получения антагонистов рецепторов CGRP : № 2014141158 : заявл. 13.03.2013 : опубл. 09.11.2018 / К. М. Бельк, Э. Клитор, Ш. Ч. Ко [и др.] ; заявитель МЕРК ШАРП И ДОУМ КОРП.
4. Патент № 2742414 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/198, А61К 31/355, А61К 31/575. Препарат комплексный с гепатопротекторной активностью для крупного рогатого скота : № 2020120624 : заявл. 16.06.2020 : опубл. 05.02.2021 / В. С. Понамарев, Н. Л. Андреева, О. С. Попова, В. А. Барышев.
5. Патент № 2742826 С2 Российская Федерация, МПК С07К 14/585, А61К 38/22, А61Р 25/06. Пептидные антагонисты пептидных гормонов из семейства кальцитонина (CGRP) и их применение : № 2017119773 : заявл. 06.06.2017 : опубл. 11.02.2021 / К. Д. Соарес ; заявитель СОАРЕС Кристофер Дж.
6. Толочко, З. С. Влияние холецистокинина-8 (ССК-8) на артериальное давление и содержание кальцитонин-ген-связанного пептида (CGRP) в крови крыс при гипертензии, вызванной фруктозой или блокадой синтеза оксида азота / З. С. Толочко, В. К. Спиридонов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 171. – № 5. – С. 608-612. – DOI 10.47056/0365-9615-2021-171-5-608-612.
7. CGRP signalling inhibits NO production through pannexin-1 channel activation in endothelial cells / P. S. Gaete, M. A. Lillo, M. Puebla [et al.] // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9. – No 1. – P. 7932. – DOI 10.1038/s41598-019-44333-w.
8. Dietary capsaicin normalizes CGRP peptidergic DRG neurons in experimental diabetic peripheral neuropathy / X. Y. Zhang, Z. Guo, T. P. Li, T. Sun // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – No 1. – P. 1704. – DOI 10.1038/s41598-021-81427-w.
9. Structure and dynamics of the CGRP receptor in apo and peptide-bound forms / T. M. Josephs, M. J. Belousoff, Y. L. Liang [et al.] // Science. – 2021. – Vol. 372. – No 6538. – P. eabf7258. – DOI 10.1126/science.abf7258originally.
10. TLR4 signaling selectively and directly promotes CGRP release from Vagal afferents in the mouse / L. Jia, S. Lee, J. K. Elmquist [et al.] // eNeuro. – 2021. – Vol. 8. – No 1. – P. 1-16. – DOI 10.1523/ENEURO.0254-20.2020.

УДК:61:576:612.017:578.245:636.4
DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.88

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ИНТЕРФЕРОНОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ ПОРОСЯТ

Шахов А.Г. - д. вет. н., проф. (ORCID ID 0000-0002-6177-8858), Сашнина Л.Ю. - д. вет. н., гл. науч. сотр. (ORCID ID 000-0001-6477-6156), Владимирова Ю.Ю.-млад. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0001-8888-7264), Тараканова К.В.-старший лаборант, ORCID ID 0000-0001-5093-5590
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ключевые слова: поросята, биферон-С, простимул, интерфероны, витамины, лейкоциты, лимфоциты, фагоцитоз. **Keywords:** piglets, biferon-S, prostimul, interferons, vitamins, leukocytes, lymphocytes, phagocytosis.



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты изучения корригирующего влияния на клеточный иммунитет новорожденных поросят препаратов на основе интерферонов в условиях промышленного свиноводческого хозяйства. В неонатальный период у животных развитие иммунной системы не достигает функциональной зрелости и иммунокомпетентные клетки имеют низкую функциональную активность. В регулировании деятельности иммунной системы значительную роль играют интерфероны, участвующие в формировании иммунного ответа, пролиферации и дифференциации лимфоцитов, а также активации мононуклеарных фагоцитов. С целью повышения иммунного статуса организма разработаны видоспецифические препараты на основе рекомбинантных интерферонов, обладающие иммуномодулирующими свойствами. Для опыта подобраны 3 группы новорожденных поросят. Поросятам первой опытной группы в возрасте 3-5 дней применяли внутримышечно биферон-С в дозе 0,1 мл/кг двукратно с интервалом 24 часа, второй - простимул в дозе 0,1 мл/кг однократно. Поросят третьей (контрольной) группы препаратами не обрабатывали. Установлено, что применение в первые дни жизни поросятам биферона-С, содержащего альфа- и гаммаинтерфероны свиные рекомбинантные, и простимула, имеющего в своем составе рекомбинантный цитокин I типа и витамины А, Е и С, способствует повышению клеточного иммунитета, проявляющемуся увеличением содержания лейкоцитов, абсолютного и относительного количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Т-супрессоров и Т-хелперов, содержания активных фагоцитов, их поглотительной и метаболической активности, обусловленному наличием в препаратах интерферонов свиных рекомбинантных, осуществляющих быструю индукцию системы эндогенных интерферонов, клеточного и гуморального иммунитета, а в простимуле кроме того витаминов А, Е и С, обладающих антиоксидантными свойствами. Более существенное корригирующее влияние на клеточный иммунитет оказал биферон-С, содержащий не только альфа-, но и гамма-интерферон, являющиеся цитокином - регулятором иммунных реакций, индуктором клеточного иммунитета.

ВВЕДЕНИЕ

Ранний постнатальный период является наиболее ответственным этапом выращивания поросят, сопровождающимся адаптацией их к новым условиям окружающей среды, интенсивным развитием,

функциональным созреванием органов и систем [1, 7].

У новорожденных животных в промышленных свиноводческих хозяйствах регистрируют низкую естественную резистентность, высокую чувствительность

к действию биотических и абиотических факторов [5]. К моменту рождения у поросят развитие иммунной системы не достигает полной функциональной зрелости и поэтому иммунный ответ у них недостаточно совершенный, так как в организме количество иммунокомпетентных клеток и их функциональная активность намного меньше, чем у взрослых, в результате чего восприимчивость к инфекционным патогенам более высокая [10, 17].

Важную роль в регулировании функционирования иммунной системы играют интерфероны [8, 11], которые являются ключевыми компонентами врожденного и адаптивного иммунитета, обеспечивающими первую линию защиты организма от различных инфекционных агентов [18].

В настоящее время в медицине для повышения иммунного статуса организма, профилактики и терапии вирусных и бактериальных инфекций применяются препараты на основе рекомбинантных интерферонов: виферон, реаферон-ЕС, кипферон, инфагель, гриппферон, герпферон, ингарон и др. [3,8,11], а так же препараты на основе рекомбинантных белков цитокинов для совершенствования специфической профилактики гепатита А и В, бешенства, клещевого энцефалита у животных «Беталейкин», «Ронколейкин», «Альнорин», «Аффинолейкин» и др. [4].

Для животноводства и ветеринарной медицины разработаны видоспецифические препараты на основе рекомбинантных интерферонов, обладающие иммуномодулирующими, профилактическими и лечебными свойствами при многих заболеваниях животных [6].

Цель исследований - изучение влияния препаратов на основе интерферонов свиных рекомбинантных на формирование клеточного иммунитета у новорожденных поросят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на свино-комплексе ООО «Золотая Нива» Знаменского района Тамбовской области. Для опыта подобраны 3 группы новорожденных поросят.

Поросятам первой опытной группы

(n=40) в возрасте 3-5 дней применяли внутримышечно биферон-С в дозе 0,1 мл/кг двукратно с интервалом 24 часа, второй (n=39) - простимул в дозе 0,1 мл/кг однократно. Поросят третьей (контрольной) группы (n=38) - препаратами не обрабатывали.

Биферон-С (производитель ООО Научно-производственный центр «ПроБиоТех», Республика Беларусь) содержит смесь белков альфа и гамма-интерферонов свиных рекомбинантных с суммарной антивирусной активностью не менее $1,0 \cdot 10^6$ ТЦД₅₀/см³. Препарат наряду с антивирусной активностью повышает иммунный статус животных, проявляет антистрессовый эффект.

Простимул (производитель ООО Научно-производственный центр «ПроБиоТех», Республика Беларусь) в качестве действующего вещества содержит рекомбинантный цитокин I типа активностью не менее 4 Lg ТЦД₅₀/см³ и витамины А, Е и С. Препарат обладает антивирусным и антистрессовым действием, модулирует иммунный и воспалительный ответы.

От поросят (n=6) каждой группы до применения препаратов и в возрасте 21 день брали кровь для исследований, которые проводили на базе лабораторий ФГБНУ «ВНИВИПФиТ».

В крови определяли количество лейкоцитов, относительное (%) и абсолютное (10⁹/л) содержание Т- и В-лимфоцитов, Т-теофилинчувствительных - (Ттфч), Т-теофилинрезистентных (Ттфр) лимфоцитов, иммунорегуляторный индекс - соотношение Ттфр/тфч, показатели фагоцитоза полиморфноядерных нейтрофилов: фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [13]. Оценку метаболической (функциональной) активности фагоцитов проводили по реакции восстановления нитросинего тетразолия *in vitro* (НСТ-тест), в основе которого лежит бесцветное восстановление бесцветного

красителя нитросинего тетразолия в темно-синий формазан при взаимодействии с интактными (спНСТ) и стимулированными (стНСТ) пирогеалом нейтрофилами периферической крови. Показатель резерва активации нейтрофилов (ПР) рассчитывали по формуле: $ПР = \text{стНСТ} / \text{спНСТ}$ [12].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica v6.1, оценку достоверности - по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Фоновыми иммунологическими исследованиями в показателях неспецифического клеточного иммунитета и характеризующих формирование иммунного ответа у поросят всех групп существенных различий не установлено.

У подопытных животных с возрастом увеличилось содержание лейкоцитов, при этом наиболее существенное их повышение (на 41,3%) отмечено у поросят, обработанных бифероном-С (табл.1). Абсолютное и относительное содержание лимфоцитов, участвующих во всех специфических иммунных реакциях, у животных всех групп с возрастом по сравнению с фоном также увеличилось, особенно их абсолютное количество у поросят, обработанных бифероном - С, которое было выше, чем в контроле на 18,9%.

У всех подопытных поросят с возрастом абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов, являющихся эффекторами иммунного ответа на воздействие различных инфекционных патогенов, увеличилось, при этом превышение их абсолютного содержания у животных, обработанных бифероном - С, по сравнению с контролем составило 23,8%, что свидетельствует об активации клеточной защиты.

В субпопуляциях Т-лимфоцитов у подопытных поросят так же отмечены отличия. Абсолютное количество Ттфч лимфоцитов, подавляющих иммунный ответ и отвечающих за иммуносупрессию, обусловленную инфекционными патогенами, у животных всех групп увеличилось, при этом повышение их содержания у поросят, обработанных бифероном-С и

простимулом, было более существенным, у них этот показатель был выше контрольных значений на 25,6 и 7,7% соответственно. Относительное количество Ттфч у всех подопытных животных с возрастом снизилось, однако их содержание у поросят, обработанных бифероном-С и простимулом, было выше, чем в контроле на 4,2 и 5,6%.

Абсолютное и относительное количество Ттфр-клеток, обеспечивающих формирование клеточного и гуморального иммунитета, активацию макрофагов, у животных опытных групп было выше контрольных значений, особенно абсолютное их значение у поросят, обработанных бифероном-С, на 29,3%. В результате соотношение Ттфр/Ттфч у поросят, обработанных бифероном-С, по сравнению с контролем было выше на 2,9%.

Абсолютное и относительное количество В-лимфоцитов, являющихся предшественниками плазматических клеток, эффекторами гуморального иммунитета, у поросят первой и второй опытной групп было выше, чем в контроле на 27,7 и 7,6% и на 7,9 и 5,9% соответственно.

При изучении клеточного звена неспецифической защиты установлено (табл.2), что у поросят всех групп с возрастом повысилось количество активных фагоцитов, при этом у животных, обработанных бифероном-С и простимулом, оно было выше, чем в контроле. У них же показатели поглотительной функции фагоцитов - ФИ и ФЧ по сравнению с фоном повысились на 26,8 и 6,6% и на 34,2 и 13,2%, а в контроле снизились на 8,0 и 5,6% соответственно. В результате чего фагоцитарный индекс и фагоцитарное число у животных первой и второй опытных групп превышали контрольные показатели на 37,0 и 15,2% и на 46,7 и 19,4%.

О положительном влиянии препаратов, содержащих интерфероны, на систему фагоцитоза свидетельствуют показатели, характеризующие переваривающую функцию клеток. При общей тенденции увеличения с возрастом у поросят всех групп показатели спонтанного и стимулированного НСТ-теста, характеризующие

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета у поросят

Показатели	Фон	Группы животных		
		1 опытная биферон-С	2 опытная простимул	контроль
лейкоциты $10^9/\text{л}$	8,0±0,25	11,3±1,07	9,2±0,72	9,7±0,73
Лимфоциты, %	28,25±1,93	61,8±1,07	64,6±1,44	60,6±2,25
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	2,46±0,05	6,98±0,24*	5,96±0,53	5,87±0,52
Т-лимфоциты, %	70,0±1,83	47,0±1,3	46,0±1,55	45,1±0,45
Т-лимфоциты, $10^9/\text{л}$	1,59±0,14	3,28±0,15*	2,74±0,27	2,65±0,18
Ттфч, %	16,3±0,25	14,8±0,49	15,0±0,7	14,2±0,74
Ттфч, $10^9/\text{л}$	0,26±0,02	0,49±0,02**	0,42±0,06	0,39±0,011
Ттфр, %	53,8±1,65	32,2±1,02	31,0±1,0	30,8±0,37
Ттфр, $10^9/\text{л}$	0,86±0,09	1,06±0,05**	0,85±0,1	0,82±0,06
Ттфр/тфч	3,33±0,09	2,16±0,09	2,05±0,07	2,1±0,12
В-лимфоциты, %	22,8±0,48	21,8±0,74	21,4±0,64	20,2±1,02
В-лимфоциты, $10^9/\text{л}$	0,52±0,05	1,52±0,04**	1,28±0,5	1,19±0,09

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ относительно показателей контрольной группы

функциональное состояние нейтрофилов и степень активности их внутриклеточных антибактериальных систем, у животных, обработанных бифероном-С и простимулом, были выше контрольных значений на 10,4 и 22,5% и на 4,9 и 11,9% соответственно. При общей тенденции повышения у всех подопытных поросят с возрастом функционального резерва клеток (ПР), представляющего собой отношение между числом стимулированных диформазанпозитивных фагоцитов и количеством спонтанных диформазанпозитивных клеток, у животных, обработанных бифероном-С и простимулом, он был выше контрольного значения на 10,6 и 6,4% соответственно. Полученные данные свидетельствуют об увеличении метаболического резерва фагоцитов и их переваривающей функции под влиянием интерферонов, содержащихся в препаратах.

Таким образом, применение биферона-С и простимула новорожденным поросятам в период адаптации к новым условиям содержания сопровождается повышением клеточного иммунитета, обусловленным наличием в их составе интерферонов свиных рекомбинантных, а в простимуле кроме того витаминов А, Е и С.

Входящий в состав препаратов альфа-интерферон проявляет иммуномодулиру-

ющие свойства, повышая активность естественных киллеров, Т-хелперов, фагоцитов, интенсивность дифференцировки В-лимфоцитов [8, 14, 16].

Бета-интерферон, входящий в состав простимула, повышает клеточную цитотоксичность Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, ингибирует пролиферативную активность лимфоцитов, Т-клеточную супрессию и способствует преимущественной дифференцировке Т-хелперов в Th-1 лимфоциты [2].

Витамины А, Е и С, входящие в состав простимула проявляют иммуностимулирующее действие, повышая фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов, и оказывают протективный эффект в отношении кислородзависимых механизмов, снижая окислительный стресс, развитие которого связано с активацией кислородзависимого метаболизма нейтрофилов (стНСТ). Выявленные изменения, по мнению Лусс Л.В., Стрельченко Е.А. [3, 9] обусловлены антиоксидантным действием витаминов, оказывающих антиокислительное действие на клетки иммунной системы и предохраняющих от кислородзависимых типов апоптоза.

Более выраженное корригирующее влияние на клеточный иммунитет у ново-

Таблица 2

Показатели клеточного звена неспецифического иммунитета у поросят

Показатели	Фон	Группы животных		
		Биферон С	Простимул	контроль
ФАН, %	75,5±0,96	80,4±1,17	80,0±1,41	78,0±0,89
ФИ	4,97±0,10	6,3±0,20***	5,3±0,10***	4,6±0,09
ФЧ	3,8±0,07	5,1±0,19***	4,3±0,06***	3,6±0,08
сп-НСТ	25,7±0,96	31,8±1,32*	30,2±1,47	28,8±0,89
ст-НСТ	35,7±0,96	49,6±1,32***	45,3±1,27**	40,5±0,75
ПР	1,39±0,004	1,56±0,01**	1,5±0,01**	1,41±0,03

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ относительно показателей контрольной группы

рожденных поросят биферона-С обусловлено наличием в его составе не только α -интерферона, но γ -интерферона, являющегося одним из ключевых звеньев, связывающих факторы врожденного и адаптивного иммунитета, поскольку вырабатывается НК-клетками и дифференцированными Т-клетками адаптивного иммунного ответа CD4+ и CD8+, что согласуется с данными ряда исследователей [14, 15]. Ранее проведенными исследованиями установлено, что ИФН- γ обладает выраженным иммуномодулирующим действием, является индуктором клеточного звена иммунитета, относится к основным провоспалительным цитокинам, усиливает фагоцитарные и цитотоксические реакции в зоне очага воспаления и способствует эффективной элиминации инфекционного агента [8, 11].

ВЫВОДЫ

Проведенными исследованиями установлено, что применение биферона-С и простимула новорожденным пороссятам способствует повышению клеточного иммунитета, проявляющемуся увеличением содержания лейкоцитов, абсолютного и относительного количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов, Т-супрессоров и Т-хелперов, содержания активных фагоцитов, их поглотительной и метаболической активности, обусловленному наличием в препаратах интерферонов свинных рекомбинантных, осуществляющих быструю индукцию системы эндогенных цитокинов, клеточного и гуморального иммунитета, а в простимуле кроме того витами-

нов А, Е и С, обладающих антиоксидантными свойствами. Более выраженное корригирующее влияние на клеточный иммунитет оказал биферон-С, содержащий не только альфа-, но и гамма-интерферон, являющийся цитокином-регулятором иммунных реакций, индуктором клеточного иммунитета.

EFFECT OF THE DRUGS BASED ON INTERFERONS ON THE FORMATION OF CELL IMMUNITY IN NEWBORN PIGLETS. Shakhov A.G., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Sashnina L.Yu., Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate, Vladimirova Yu.Yu., Junior Scientific Associate, Taranova K.V., Senior Laboratory Assistant. FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy"

ABSTRACT

The article presents the results of a study of the corrective effect of drugs based on interferons on the cellular immunity of newborn piglets on an industrial pig breeding farm. In neonatal period, the immune system development in animals doesn't reach functional maturity, and immunocompetent cells have low functional activity. In regulation of the immune system, interferons play a significant role in formation of the immune response, proliferation and differentiation of lymphocytes, as well as the activation of mononuclear phagocytes. In order to improve the body immune status, there've been designed species-specific drugs based on rIFNs with immunomodulatory properties.

For the experiment, 3 groups of newborn piglets were selected. Piglets of experimental group I at the age of 3-5 days were injected intramuscularly with biferon-S at a dose of 0.1 ml/kg twice, with an interval of 24 hours, piglets of group II – once with prostimul at a dose of 0.1 ml/kg. Piglets of group III (control) were not treated with drugs. It has been established that the application of biferon-S, containing rpIFN–alpha and -gamma, and prostimul, containing recombinant type I cytokine and vitamins A, E and C, in the first days of piglets' life, promotes an increase in cellular immunity, the absolute and relative number of lymphocytes, T-lymphocytes, T-suppressors and T-helpers, the content of active phagocytes, their absorptive and metabolic activity, due to the presence of rpIFN in the drugs that rapidly induce the system of endogenous interferons, cellular and humoral immunity, and in prostimul –vitamins A, E and C, possessing anti-oxidant properties. A more significant corrective effect on cellular immunity has been exerted by biferon-S, containing not only interferon alpha, but also gamma, which is cytokine - a regulator of immune responses, an inducer of cellular immunity.

ЛИТЕРАТУРА

1.Агарков А.В. Особенности иммунологического статуса у новорожденных поросят в неонатальном периоде/ А.В. Агарков //Ветеринария Кубани.-2015.-№ 1.-С. 7-8.
2.Кетлинский С. А. Цитокины/ С. А.Кетлинский, А. С.Симбирцев //- СПб: ООО «Издательство Фолиант».-2008.–552 с.
3.Луус Л.В. Интерфероны в комплексной терапии профилактики гриппа и респираторных инфекций/ Луус Л.В., Малиновская В.В., Выжлова Е.Н.// Эффективная фармакотерапия.-2014.-№ 5.-С.14-19.
4.Омельченко Н.Д. Иммуномодуляторы и специфическая профилактика инфекционных болезней/Н.Д. Омельченко, И.А. Иванова, И.А. Беспалова, [и др.]// Проблемы особо опасных инфекций.-2017.-№ 3.-С.21-26.
5.Полозюк О.Н. Естественная резистентность подсосных поросят и отъемышей/ О.Н. По-

лозюк //Свиноводство.-2010.-№ 5.-С.44-45.
6.Потапович М.И. "Белковая ветеринария" как альтернатива антибиотикам. Лечебно-профилактические ветеринарные препараты на основе рекомбинантных белков/ М.И. Потапович, В.А. Прокулевич// Вестник БГУ. Серия 2: Химия. Биология. География.-2016.-№ 3.- С.68-72.
7.Семенов В.Г. К проблеме адаптогенеза организма свиней к факторам среды обитания/ В.Г. Семенов, Д.А. Никитин, Л.П. Гладких/ В сб.: Экология родного края: проблемы и пути их решения.-2017.-С.237-242.
8.Сологуб Т.В. Интерферон гамма-цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью/ Т.В. Сологуб, В.В. Цветков, Э.Г. Деева//Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова.-2014.-Т.22.-№ 3.-С.56-60.
9.Стрельченко Е.А. Исследование влияния витамина С на физиологические системы человека/ Е.А. Стрельченко // Научные труды КубГТУ.-2019.-№1.-С.319-327
10.Хлопицкий В.П. Интерферон - эффективное иммунологическое средство защиты свиней от вирусов/ В.П. Хлопицкий, Ю.Н. Бригадиров, В.Н. Коцарев [и др.]// Ветеринария.-2018.-№ 8.-С. 15-20.
11.Хрянин А.А. Интерферон-гамма: горизонты терапии/ А.А. Хрянин, О.В.Решетников//Антибиотики и химиотерапия.-2016.-Т.61.-№3-4.-С.35-40.
12.Шабунин С.В., Шахов А.Г., Востроилова Г.А., Паршин П.А., Ермолова Т.Г., Хохлова Н.А., Близначева Г.Н. Влияние аминокислот на состояние прооксидантной и антиоксидантной систем крови у свиноматок // Достижения науки и техники АПК. -2019. -№7. С.71-74.
13.Шахов А.Г. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных/А.Г. Шахов, Ю.Н. Масьянов, М.И. Рецкий [и др.]// Воронеж.-2005.-115 с.
14.Шахов А.Г. Цитокиновый профиль у поросят в норме и при респираторной вирусной инфекции / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова, М. И.

Адодина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2021. – № 1(14). – С. 88-95. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2021.1.88.

15. Avau A. Therapeutic potential of interferon- γ and its antagonists in autoinflammation: Lessons from murine models of systemic juvenile idiopathic arthritis and macrophage activation syndrome/A. Avau, P. Mathys// Pharmaceuticals.–2015.–Vol.25.–No.8 (4).–P.793-815.doi: 10.3390/ph8040793.

16. Harrison G. Type I interferon genes from

the egg-laying mammal, *Tachyglossus aculeatus* (short-beaked echidna)/ G. Harrison, K.A. McNicol, E.M. Deane// Immunology and Cell Biology.-2004.-Vol.82.-P.112-118. DOI: 10.1046/j.0818-9641.2004.01230.x

17. Salmon H. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine/ H. Salmon, M. Berri, V. Gerds, F. Meurens// Developmental & Comparative Immunology.- 2009.-V.33.-I.3.-P.384-393.

18. Shapira S.D. Systems biology approaches to dissect mammalian innate immunity/ S.D. Shapira, N. Hacohen // Curr. Opin. Immunol.

УДК: 631.528.1: 577.15.01

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.94

ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ПРОТЕАЗЫ МИКРОМИЦЕТА *ASPERGILLUS OCHRACEUS* ВКМ F-4104D

Шабунин С.В., академик РАН, д.вет.н., проф. (ORCID 0000-0002-2689-6998), Паршин П.А. д.вет.н., проф. (0000-0002-8790-0540), Востроилова Г.А., д. биол. н. (ORCID 0000-0002-2960-038X), Шабанов Д.И. – млад. науч. сотр.к лаборатории экспериментальной фармакологии (ORCID 0000-0002-1574-1317), Хохлова Н.А. – науч. сотр. лаб. экспериментальной фармакологии, (ORCID 0000-0001-6861-2554), Корчагина А.А.- млад. науч. сотр.лаб. экспериментальной фармакологии (ORCID 0000-0002-8561-417X)
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ключевые слова: рекомбинантная протеаза, мутагенность, микроядерный тест, полихроматофильные эритроциты, костный мозг, белые крысы. **Key words:** recombinant protease, mutagenicity, micronucleus test, polychromatophilic erythrocytes, bone marrow, white rats.



РЕФЕРАТ

В данном исследовании нами была оценена мутагенная активность препарата ПАО-1, содержащего в качестве действующего вещества обладающую фибринолитической активностью протеазу микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D, разработанный для терапии заболеваний молочной железы у крупного рогатого скота. Для этого нами было проведено изучение частоты полихроматических эритроцитов с микроядрами в костном мозге белых крыс породы Wistar (n=24). Исследовали цитогенетическую стабильность клеток костного мозга крыс после двух недель ежедневного подкожного введения ПАО-1 в дозах 460 мг/кг и 2300 мг/кг относительно показателей интактных животных и крыс, подвергнутых однократному внутрибрюшинному введению экспериментального мутагена – митомицина С. В результате проведенного исследования нами не было выявлено статистически значимого изменения частоты встречаемости полихроматических эритроцитов с микроядрами, а также доли полихроматических эритроцитов при введении ПАО-1 в обеих исследуемых

дозах. Таким образом, нами не было выявлено изменения цитогенетической стабильности в полихроматофильных эритроцитов в костном мозге крыс при двухнедельном подкожном введении рекомбинантной протеазы микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D в дозе 460 мг/кг и 2300 мг/кг, относительно показателей интактных животных. Представленные данные могут являться свидетельством отсутствия у исследуемой протеазы мутагенных свойств. Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 20-16-00085)

ВВЕДЕНИЕ

В современной ветеринарии и медицине сохраняется проблема эффективно-го разрушения некоторых фибриллярных и глобулярных белков [1]. Внеклеточные протеолитические ферменты способны расщеплять фибриллярные белки, такие как кератин, эластин, коллаген, фибрин [2]. Было показано, что протеиназы некоторых грибов обладают различной неспецифической протеолитической активностью и способны гидролизовать белки [3]. Поэтому в последние годы особое внимание уделяется производству и очистке фибринолитических ферментов, которые имеют высокий потенциал в разрушении фибрина – основного полимера в сгустке тромба в кровеносных сосудах или небольших полых медицинских устройствах (таких как катетеры) [4]. Также использование фибринолитических ферментов может повысить биодоступность лекарственных препаратов при терапии акушерско-гинекологических патологий благодаря разрушению фибринозного экссудата в полости матки и сгустков казеина в протоках молочной железы [5]. В качестве действующего вещества такого препарата с фибринолитическими свойствами может выступать рекомбинантная протеаза микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D, что было показано в ряде исследований [3, 5]. Однако новые лекарственные субстанции должны быть проверены на их безопасность по отношению к животным, в том числе должна быть проведена оценка возможного мутагенного действия нового лекарственного средства [6].

В связи с этим целью данной работы явилось исследование мутагенных свойств препарата на основе рекомбинантной протеазы микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D при ее воздействии на организм крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные. В качестве биологической тест-системы использовали белых крыс линии Wistar (n=24) массой тела 240±20,0 г разведения вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». Подопытные животные содержались в стандартных условиях вивария (температура воздуха +18-23°C, относительная влажность 45-60%). Доступ к воде и корму был свободным. Все процедуры с животными, предусмотренные в исследовании, были предварительно рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» до начала экспериментальной работы и соответствовали правилам, принятым в European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986.

Объектом исследования являлся препарат на основе протеазы микромицета *Aspergillus ochraceus* ВКМ F-4104D (рабочее название ПАО-1), разработанный во ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». В качестве препарата положительного контроля использовали Митомицин С Киова (Киова Хакко Когио Ко., Япония), содержащий в качестве действующего вещества митомицин.

Были сформированы следующие группы экспериментальных животных. Группой I (отрицательный контроль) являлись животные (n=6), которым вводили подкожно стерильный изотонический раствор натрия хлорида в объеме 0,5 мл ежедневно в течение 14 дней. Группа II – крысы получали ПАО-1 в дозе 460 мг/кг подкожно в объеме 0,5 мл ежедневно в течение 14 дней (n=6). Группа III – животным вводили ПАО-1 в дозе 2300 мг/кг аналогично группе II (n=6). В качестве положительного контроля использовали крыс (n=6), получивших однократную интраперитонеальную инъекцию митоми-

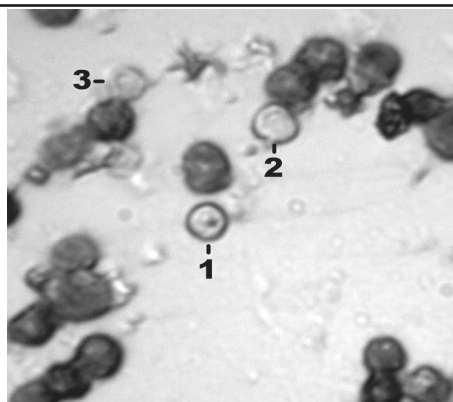


Рис. 1. Микрофотография клеток костного мозга крысы: 1 – полихроматофильный эритроцит с микроядром; 2 - полихроматофильный эритроцит; 3 – нормохромный эритроцит; увеличение $\times 1000$.

Таблица 1
Частота полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в костном мозге крыс ($M \pm SE\%$, $n=24$)

Группа	Доля ПХЭ с микроядрами на 1000 ПХЭ, %	Доля ПХЭ от (НЭ+ПХЭ), %
I (n=6)	0,42 \pm 0,15	44,98 \pm 0,42
II (n=6)	0,65 \pm 0,10	44,87 \pm 1,10
III (n=6)	0,55 \pm 0,15	45,41 \pm 0,41
IV (n=6)	2,52 \pm 0,25*	42,94 \pm 1,57

Примечание: * - статистически значимое отличие от негативного контроля при $p \leq 0,05$; $M \pm SE\%$ - среднее арифметическое \pm стандартная ошибка.

цина С (ММС) в дозе 2 мг/кг (группа IV). Выведение крыс из эксперимента проводили через 24 ч после последней инъекции препарата путем передозировки углекислым газом в специальной камере.

Для определения мутагенных свойств использовали метод изучения частоты микроядер (микроядерный тест) полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) в костном мозге крыс, который широко признан в качестве эффективного метода [7]. Исследование частоты микроядер проводили после получения суспензии клеток костного мозга в буферном растворе Хенкса (рН 7,4) с добавлением 1% бычьего сывороточного альбумина [8]. Суспензию наносили на предметные стекла, далее препараты высушивали, фиксировали метанолом и окрашивали по Романовско-

му-Гимзе [7]. Изучение препаратов костного мозга проводили при увеличении $\times 1000$. Исследовали частоту микроядер на 1000 ПХЭ, всего изучали 2000 ПХЭ на животное. Также учитывали долю ПХЭ на 500 ПХЭ и нормохромных эритроцитов (НЭ), которая может быть использована в качестве маркера токсичности исследуемых препаратов [6].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов программы STADIA 8.0. Сравнение выборок проводилось с использованием непараметрического рангового χ -критерия Ван дер Вардена при уровне значимости $p \leq 0,05$. Полученные результаты представляли как среднее арифметическое (M) \pm стандартная ошибка (SE).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Нами была проанализирована частота ПХЭ с микроядрами в костном мозге исследуемых животных (рис. 1). В результате проведенного исследования нами не было выявлено изменения частоты ПХЭ с микроядрами в группах II и III относительно данного значения у животных негативного контроля (группа I), которое составило $0,42 \pm 0,15\%$ (таблица 1). При этом частота ПХЭ с микроядрами в костном мозге крыс, получавших инъекции препарата ПАО-1 (группы II и III), была достоверно ниже этого показателя у крыс после инъекции митомицина С (группа IV), который был равен $2,52 \pm 0,25\%$. Также не обнаружено и изменение доли ПХЭ в костном мозге крыс всех исследуемых групп.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы нами не было выявлено изменения цитогенетической стабильности клеток костного мозга крыс после введения препарата ПАО-1 на основе рекомбинантной протеазы микромицета *Aspergillus ochraceus* VKM F-4104D. Представленные данные согласуются с результатами других исследований, демонстрирующих отсутствие мутагенного действия фибринолитических протеаз, оценка мутагенности которых была произведена с помощью микроядерного теста и методом ДНК комет [9] или протеаз, с фибринолитической активностью, получаемых из продуктов ферментации соевых бобов, мутагенное действие, которых оценивалось с помощью микроядерного теста, исследования частоты хромосомных aberrаций и теста Эймса [10].

ВЫВОДЫ

Данные, полученные в эксперименте по выявлению изменения частоты встречаемости полихроматофильных эритроцитов в костном мозге крыс при двухнедельном подкожном введении препарата ПАО-1 на основе рекомбинантной протеазы микромицета *Aspergillus ochraceus* VKM F-4104D в дозе 460 мг/кг и 2300 мг/кг, относительно показателей животных негативного контроля, могут являться свидетельством отсутствия у исследуемой протеазы мутагенных свойств.

STUDY OF THE MUTAGENIC ACTIVITY OF THE DRUG BASED ON RECOMBINANT PROTEASE OF MICROMYCETE *ASPERGILLUS OCHRACEUS* VKM F-4104D

Shabunin S.V., Academician of the RAS, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Parshin P.A., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Vostroilova G.A., Doctor of Biological Sciences, Shabanov D.I.- laboratory researcher, Khokhlova N.A.- laboratory researcher, Korchagina A.A.- laboratory researcher, FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy"

ABSTRACT

In this study, we assessed the mutagenic activity of the drug PAO-1, containing as an active ingredient the protease of the micro-mycete *Aspergillus ochraceus* VKM F-4104D, which possesses fibrinolytic activity, designed for the treatment of mammary gland diseases in cattle. Thus, we studied the frequency of polychromatic erythrocytes with micronuclei in the bone marrow of white Wistar rats ($n = 24$). We studied the cytogenetic stability of rat bone marrow cells after two weeks of daily subcutaneous administration of PAO-1 at doses of 460 mg/kg and 2300 mg/kg relative to the indicators of intact animals and rats subjected to a single intraperitoneal injection of an experimental mutagen mitomycin C. As a result of the study, we did not reveal a statistically significant change in the frequency of occurrence of polychromatic erythrocytes with micronuclei, as well as the proportion of polychromatic erythrocytes with the administration of PAO-1 at both studied doses. Thus, we did not reveal changes in the cytogenetic stability in polychromatophilic erythrocytes in the bone marrow of rats after a two-week subcutaneous injection of the recombinant protease of the micro-mycete *Aspergillus ochraceus* VKM F-4104D at a dose of 460 mg/kg and 2300 mg/kg, relative to the indicators of intact animals. The presented data may indicate the absence of mutagenic properties in the studied protease.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ramundo J. Enzymatic wound debridement / J. Ramundo, M. Gray. J.W. Ostomy //

- Continenca Nurs. – 2008. – №35(3). – P.273-280. DOI: 10.1097/01.WON.0000319125.21854.78.
2. Balami J.S. Thrombolytic agents for acute ischaemic stroke treatment: The past, present and future / J.S. Balami, R. Chen, B.A. Sutherland, A.M. Buchan // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. – 2013. – Vol. 12(2). – P. 145–154.
3. Osmolovskiy A. A. Secretion of Proteinases with Fibrinolytic Activity by Micromycetes of the Genus *Aspergillus*. // A. A. Osmolovskiy, E. S. Zvonareva, V. G. Kreyer, N. A. Baranova, and N. S. Egorov // *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. – 2018. – Vol. 73(1). – P. 39–42. DOI: 10.3103/S0096392518010066.
4. Choi J.H. Thrombolytic, anticoagulant and antiplatelet activities of codiase, a bifunctional fibrinolytic enzyme from *Codium fragile*. / J.H. Choi, K. Sapkota, S.E. Park, S. Kim, S.J. Kim // *Biochimie*. – 2013. – Vol. 95. – P. 1266–1277. DOI: 10.1016/j.biochi.2013.01.023.
5. Востроилова Г.А. Оценка противовоспалительной активности рекомбинантной протеазы микромицета *Aspergillus Ochraceus* на лабораторных животных / Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, Ю. А. Чаплыгина, А. А. Корчагина, Т. И. Ермакова, П. А. Паршин // *Ветеринарный фармакологический вестник*. – 2020. – № 4(13). – С. 68–72. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.4.68
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. / Под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012.
7. Hayashi M. The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test. / M. Hayashi // *Genes and Environ*. – 2016. – Vol. 38:18 – P. 1-9. DOI: 10.1186/s41021-016-0044-x.
8. Agarwal D.K. An improved chemical substitute for fetal calf serum for the micronucleus test. / D.K. Agarwal, L.K. Chauhan // *Biotech. Histochem*. – 1993. – №68(4). P. 187-188. DOI: 10.3109/10520299309104695.
9. da Silva M.M. Effect of acute exposure in swiss mice (*Mus musculus*) to a fibrinolytic protease produced by *Mucor subtilissimus* UCP 1262: An histomorphometric, genotoxic and cytological approach / M.M. da Silva, T.A. Rocha, D.F. de Moura, C.A. Chagas, F.C. de Aguiar, N.P. da Silva Santos, R.V. Da Silva Sobral, J.M. do Nascimento, A.C.L. Leite, L. Pastrana, R.M.P. Brandão Costa, T.P. Nascimento, A.L. Figueiredo Porto / *Regul Toxicol Pharmacol*. – 2019. – Vol.103. – P.282-291. DOI: 10.1016/j.yrtph.2019.02.009.
10. Wu H. Acute toxicity and genotoxicity evaluations of Nattokinase, a promising agent for cardiovascular diseases prevention / H. Wu, H. Wang, F. Xu, J. Chen, L. Duan, F. Zhang. // *Regul Toxicol Pharmacol*. – 2019. – Vol. 103. – P. 205-209. DOI: 10.1016/j.yrtph.2019.02.006.

УДК 57.573:636.5/.6:637.5

НОРМАЛИЗАЦИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ РАЗЛИЧНЫМИ АДСОРБЕНТАМИ ПРИ ПРОФИЛАКТИКЕ МИКОТОКСИКОЗОВ

Капитонова Е.А. – к.с.-х.н., доцент (УО ВГАВМ, Витебск, Беларусь)

Ключевые слова: цыплят а-бройлеры, микотоксикозы, адсорбенты, метаболизм, сыворотка крови, микробиота, желудочно-кишечный тракт. **Key words:** broiler chickens, mycotoxicoses, adsorbents, metabolism, blood serum, microbiota, gastrointestinal tract.



РЕФЕРАТ

Продовольственная безопасность страны в полной мере зависит от бесперебойного обеспечения населения разнообразными, высококачественными, доступными продуктами питания. Целью нашей работы явилось установление наиболее эффективного адсорбента микотоксинов для профилактики микотоксикозов путем мониторинга гематологических и микробиологических показателей подопытных цыплят-бройлеров кросса «Росс-308». Нами были разработаны и запатентованы новые органо-минеральные адсорбенты микотоксинов на основе трепела «Беласорб» и «МеКаСорб». В производственных условиях птицефабрики ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский», нами была доказана эффективность их применения в оптимальной норме 2 кг/т комбикорма. На основании проведенных производственных испытаний было установлено, что разработанные нами адсорбенты микотоксинов оптимизируют метаболические процессы в организме цыплят-бройлеров. Наблюдается восстановление белковых фракций, повышение эффективности азотсодержащих и безазотистых веществ, а также эффективность работы ферментов в сыворотке крови и уровень минеральных веществ при нормализации баланса Са / Р соотношения. Снижение токсической нагрузки на организм цыплят-бройлеров и повышение санитарного качества комбикорма способствовало увеличению в желудочно-кишечном тракте птицы фракций лакто- и бифидобактерий при снижении количества бактерий группы кишечной палочки, а также дрожжей и плесневых грибов. Таким образом, введение в рацион сельскохозяйственной птицы адсорбентов микотоксинов «Беласорб» и «МеКаСорб» имеет положительную динамику обменных процессов, нормализует гематологические и микробиологические показатели, что подтверждается высокими достижениями в опытных пичниках.

ВВЕДЕНИЕ

Погодные условия, которые установились в последнее время, оказывают негативное воздействие на качество выращиваемых зерновых и бобовых трав. Образование «полевых» микотоксинов усугубляет факторы хранения урожая, при которых зачастую, бурно происходит образование «амбарных» микотоксинов. Обсемененные микотоксинами ингредиенты,

входя в состав комбикорма, оказывают отрицательное воздействие не только на организм сельскохозяйственных животных, в том числе и птиц, но и на качество производимой продукции [2, 6].

Продовольственная безопасность страны в полной мере зависит от бесперебойного обеспечения населения разнообразными, высококачественными, доступными продуктами питания. В связи с этим,

Таблица 1

Схема производственного опыта

№ птичника	Особенности кормления птицы
№ 107 (контроль)	Основной рацион (ОР)
№ 110 (опыт)	ОР + 2 кг/т «Беласорб»
№ 113 (опыт)	ОР + 2 кг/т «МеКаСорб»

многие ученые занимаются разработкой новых способов получения экологически чистых кормов и продуктов питания животного происхождения [1, 3, 4, 5].

Новизна нашей работы заключается в научном поиске решения насущной проблемы, разработке новых кормовых добавок адсорбентов микотоксинов, их апробации на сельскохозяйственной птице и установлении положительного эффекта от применения. В связи с вышеизложенным считаем, что выбранная нами тема научных изысканий актуальна и имеет практическую значимость.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью научно-исследовательской работы являлась коррекция гематологических и микробиологических показателей цыплят-бройлеров, для профилактики микотоксикозов, при воздействии на организм птицы различными адсорбентами микотоксинов.

Производственные испытания проводили в условиях ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский» на производственной площадке «Дворище». Сорбционная эффективность кормовой добавки «Беласорб» составляет: по афлатоксину – не менее 92,0 %, охратоксину – не менее 77,0 %, к Т-2 токсину, ДОНу и зеараленону – 64,2-42,0 %. Сорбционная эффективность кормовой добавки «МеКаСорб» по отношению к Т-2 токсину, дезоксинивалену, охратоксину и зеараленону составляет – 58,26-32,7 %.

Разработанные и запатентованные нами кормовые добавки адсорбенты микотоксинов «Беласорб» и «МеКаСорб» задавались согласно схемы опыта, которая представлена в таблице 1. Комбикорма по питательности соответствовали требованиям ТУ ВУ 300073213.002-2010. Для приготовления кормосмеси использовался турбосмеси-

тель оттевангер лопастной РМ 02 тип 4000. Для раздачи корма птице система бункерных кормушек фирмы «Roxell». Изучение гематологических и микробиологических показателей подопытных птиц проводили по общепринятым гостированным методикам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кровь у цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» брали в утренние часы после 24-х часовой голодной выдержки. Результаты гематологических показателей подопытной птицы приведены в таблице 2. Из показателей, представленных в таблице 2 видно, что во 2-й и 3-й группах отмечается оптимизация уровня общего белка – на 4,2-11,4 %, соответственно. Также происходит нормализация уровня альбуминовой фракции белка до нормативных физиологических показателей.

Показатели азотосодержащих веществ в сыворотке крови подопытных птиц находились в пределах физиологической нормы. При этом снижение уровня мочевой кислоты в 1-й группе было – на 38,9 % (3-я группа) и 37,4 % (4-я группа), что негативно могло отражаться на транспортировке кислорода в крови и выведении продуктов распада из организма птиц. Уровень креатинина во 2-й и 3-й группах находился в пределах нормы, но был выше, чем в 1-й группе – на 79,6 % и 38,8 %, соответственно, что говорит о процессах высокого энергетического обмена.

Уровень холестерина в сыворотке крови бройлеров опытных группа был ниже, чем в контроле – на 1,8-2,2 раза. Уровень сахара в крови птицы 2-й и 3-й групп так же снизился – на 44,0% 18,5 %, соответственно, по сравнению с показателями 1-й группы.

Ферменты сыворотки крови (триглицериды, АсАТ, АлАТ, ЩФ) у

Таблица 2
Мониторинг гематологических показателей подопытных цыплят-бройлеров, (M+m)

Показатели	Птичники		
	№ 107	№ 110	№ 113
Общий белок, г/л	45,5+0,44	43,6**+0,31	40,3***+0,30
Альбумин, г/л	24,6+0,06	15,4***+0,02	17,5***+0,02
Мочевая кислота, мкмоль/л	245,7+1,48	356,4***+1,27	322,6***+1,24
Креатинин, мкмоль/л	14,7+4,46	26,4***+3,48	20,4***+3,87
Холестерин, ммоль/л	4,8+0,24	2,2***+0,37	2,7***+0,56
Глюкоза, ммоль/л	29,8+0,84	16,7***+0,75	24,3***+0,76
Триглицериды, ммоль/л	0,8+0,05	1,7***+0,03	1,7***+0,003
АсАТ, Ед/л	231,6+54,23	348,9***+64,14	276,1***+62,86
АлАТ, Ед/л	4,6+0,37	6,4***+0,27	6,3***+0,28
ЩФ, Ед/л	1438+787,6	2987***+456,6	2846***+645,2
Са, ммоль/л	2,9+0,45	3,7+0,41	3,5+0,38
Р, ммоль/л	2,1+0,32	1,7+0,27	1,7+0,25

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

Таблица 3
Мониторинг микрофлоры подопытных цыплят-бройлеров, (M+m)

Показатели, КОЕ/г	Птичники		
	№ 107	№ 110	№ 113
Лактобактерии	$4,2 \times 10^8 \pm 1,24 \times 10^8$	$4,7 \times 10^9$ *** $\pm 2,74 \times 10^9$	$4,6 \times 10^9$ *** $\pm 2,35 \times 10^9$
Бифидобактерии	$2,2 \times 10^9 \pm 2,53 \times 10^9$	$2,5 \times 10^{10}$ *** $\pm 3,67 \times 10^{10}$	$2,5 \times 10^{10}$ *** $\pm 3,21 \times 10^{10}$
<i>Enterobacteriaceae</i>	$3,7 \times 10^9 \pm 3,67 \times 10^9$	$2,8 \times 10^8$ *** $\pm 2,11 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$ *** $\pm 2,10 \times 10^8$
<i>E.colli</i>	$6,5 \times 10^7 \pm 3,56 \times 10^7$	$4,6 \times 10^6$ *** $\pm 2,03 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$ *** $\pm 2,10 \times 10^6$
Дрожжи и плесневые грибы	$8,4 \times 10^8 \pm 4,25 \times 10^8$	$6,7 \times 10^6$ *** $\pm 2,24 \times 10^6$	$6,6 \times 10^6$ *** $\pm 2,25 \times 10^6$

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

бройлеров подопытных групп хоть и находились в пределах физиологической нормы, все же в группах 2 и 3 имели наилучшие показатели.

Для мясных кроссов важным показателем является уровень минерального обмена и, соответственно, крепость костной и суставной тканей птицы. За счет введения органо-минеральных кормовых добавок на основе кальцитного трепела уровень Са в сыворотке крови опытных птиц увеличился – на 27,6-20,7 %, по сравнению с контрольными достижениями. Баланс Са/Р соотношения имел положительную динамику во 2-й (2:1) и 3-й (2:1) группах, по сравнению с 1-й контрольной группой

(2:1,4). Пометные массы для мониторинга кишечного содержимого у подопытных цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» брали из клоакального отверстия. Результаты баланса микрофлоры желудочно-кишечного тракта подопытной птицы представлены в таблице 3. Из таблицы 3 видно, что под действием сорбции микотоксинов уровень бактерий р. *Lactobacillus* в 1 г содержимого кишечника во 2-й и 3-й группах увеличился – на $0,5 \times 10^9 + 1,50 \times 10^9 - 0,4 \times 10^9 + 1,15 \times 10^9$ КОЕ/г, соответственно. Также отмечено возрастание ареала биомассы бактерий р. *Bifidumbacterinum* – на $0,3 \times 10^{10} + 1,25 \times 10^{10}$ КОЕ/г в опытных группах, по сравнению

с контролем. Рост положительной микрофлоры вызван снижением токсической нагрузки комбикорма на организм бройлеров адсорбентами микотоксинов «Беласорб» и «МеКаСорб» и вытеснения патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

Представители семейства Enterobacteriaceae в 1 г содержимого кишечника бройлеров сократилось – на $0,9 \times 10^4 + 1,54 \times 10^4$ КОЕ/г во 2-й группе и $1,1 \times 10^4 + 1,43 \times 10^4$ КОЕ/г в 3-й группе, по сравнению с 1-й группой.

Ареал бактерий группы кишечной палочки *E.colli*, под воздействием адсорбентов микотоксинов также уменьшился – на $1,9 \times 10^4 + 1,53 \times 10^4 - 2,0 \times 10^4 + 1,44 \times 10^4$ КОЕ/г, по сравнению с контролем.

Уровень дрожжей и плесневых грибов в 1 г содержимого кишечника начал мельчать и идти на убыль во 2-й группе («Беласорб») – на $1,7 \times 10^2 + 2,04 \times 10^2$ КОЕ/г, а в 3-й группе – на $1,8 \times 10^2 + 2,00 \times 10^2$ КОЕ/г, по сравнению с 1-й контрольной группой.

ВЫВОДЫ

Таким образом, на основании проведенных производственных испытаний нами было установлено, что применение разработанных нами и запатентованных новых кормовых добавок адсорбентов микотоксинов на основе трепела способствуют нормализации гематологических и микробиологических показателей цыплят-бройлеров, а также профилактируют развитие микотоксикозов. Наблюдается восстановление белковых фракций, повышение эффективности азотсодержащих и безазотистых вещества, а также эффективность работы ферментов в сыворотке крови и уровень минеральных веществ при нормализации баланса Ca / P соотношения. Снижение токсической нагрузки на организм цыплят-бройлеров и повышение санитарного качества комбикорма способствовало увеличению в желудочно-кишечном тракте птицы фракций лакто- и бифидобактерий при снижении количества бактерий группы кишечной палочки, а также дрожжей и плесневых грибов.

NORMALIZATION OF POULTRY HAEMATOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL INDICES BY VARIOUS ADSORBENTS IN THE MYCOTOXICOSES PREVENTION. E.A. Kapitonova

– PhD in Agricultural Sciences, Associate Professor (Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus).

ABSTRACT

The country's food safety fully depends on the uninterrupted supply of population with diverse, high-quality, available food products. The aim of our work was to establish the most effective mycotoxins adsorbent for mycotoxicoses prevention by monitoring the haematological and microbiological indices of experimental cross "Ross-308" broiler chickens. We have developed and patented new organo-mineral mycotoxin adsorbents "Belasorb" and "MeKaSorb" based on tripoli. In the production conditions of the poultry farm of OAO "Agrokombinat "Dzerzhinskiy" we have proven the effectiveness of their use at the optimal rate of 2 kg/t of mixed feed. Based on the conducted production tests it was found that the mycotoxin adsorbents developed by us optimize the metabolic processes in the body of broiler chickens. There is a recovery of protein fractions, an increase in the efficiency of nitrogen-containing and nitrogen-free substances as well as the efficiency of enzymes in the blood serum and the level of minerals with the normalization of the Ca/P ratio balance. Reducing the toxic load on the broiler chickens body and improving the sanitary quality of mixed feed contributed to an increase of lacto- and bifidobacteria fractions in the gastrointestinal tract of poultry while reducing the number of bacteria of the *Escherichia coli* group as well as yeast and mold fungi. Thus, the introduction of "Belasorb" and "MeKaSorb" mycotoxins adsorbents into the diet of poultry has a positive dynamics of metabolic processes, normalizes haematological and microbiological indices which is confirmed by high achievements in experienced poultry houses.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голушко, В.М. Сравнительный анализ применения биологически активных препаратов и их влияние на качество животноводческой продукции / В.М. Голушко, Е.А. Капитонова // Ученые Записки УО ВГАВМ, 2008. – Т. 44. – № 2-1. – С. 174-177.
2. Капитонова, Е.А. Профилактика забо-

леваний птиц путем введения в рацион цыплят-бройлеров биологически активных веществ / Е.А. Капитонова // Труды Всероссийского НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2009. – Т. 75. – С. 329-331.

3. Капитонова, Е.А. Продуктивность цыплят-бройлеров при введении в рацион адсорбента микотоксинов / Е.А. Капитонова, В.А. Медведский // Ученые Записки УО ВГАВМ, 2010. – Т. 46. - № 1-2. – С. 136-139.

4. Красочко, П.А. Микрофлора кишечника цыплят-бройлеров и ее коррекция биологически активными препаратами / П.А. Красочко [и др.]. – Труды Всероссийского

НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко, 2009. – Т. 75. – С. 393-398.

5. Опыт корректировки рационов цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик республики Беларусь / М.А. Гласкович, Л.Ю. Карпенко, А.Б. Балькина [и др.]. – Научно-производственный журнал «Международный вестник ветеринарии». – ФГБОУ ВПО СПбГАВМ, 2018. – № 1 – С. 33-40.

6. Санитарно-гигиеническое значение бактерий и плесневых грибов в изменении качества кормов : учебно-методическое пособие / С. В. Абрамова [и др.]. – Витебск, 2012. – 32 с.

УДК 579.253.2:579.861.2:615.281.9

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.103

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ STAPHYLOCOCCUS AUREUS, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ ЖИВОТНЫХ

Макавчик С.А. - к.вет.н., доцент - ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Кротова А.Л. - ФГБУ «Ленинградская Межобластная ветеринарная лаборатория»

Ключевые слова: микрофлора, чувствительность к антибиотикам, механизмы резистентности, антибиотикорезистентность, микробиологические методы. **Keywords:** microflora, sensitivity to antibiotics, resistance mechanisms, antibiotic resistance, microbiological methods.



РЕФЕРАТ

В последние годы чаще встречаются метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA), изолированные от животных. Стафилококки зоонозного происхождения (LA-MRSA) труднее поддаются лабораторному контролю. Лабораторные результаты исследований на чувствительность *in vitro* важны при выборе наиболее эффективного АМП при фармакотерапии. Лабораторный контроль за антибиотикочувствительностью микроорганизмов, ранжирование результатов и их выборочное репортирование позволяют профилактировать возникновение и распространение резистентности к антимикробным препаратам.

В работе представлены данные об устойчивости изолятов стафилококков, изолированных от животных, при интерпретации данных, полученных диско-диффузионным методом и методом серийных микроразведений в бульоне.

Изоляты были чувствительны к азитромицину и эритромицину (S=76,0%), цефотаксиму (S=100,0%), цефалексину (S=100,0%), неомицину (S=70,0%), тетрациклину (S =70,0%), клиндамицину (S=76,0%), индуцибельной резистентности к клиндамицину не выявлено.

Из исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* (24%) обладали устойчивостью к азитромицину по ДДМ и проявили рост 20 (60,6%) при МИК₃ 0,5 мг/л, а 4 изолятов (8,0%) при МИК₃ 1,0 мг/л.

Из исследуемых изолятов устойчивостью к тетрациклину обладали *Staphylococcus aureus* (30,0%). Если *Staphylococcus aureus* был резистентен к тетрациклину, определяли резистентность к доксициклину МИК₃ 0,5 мг/л у 7 изолятов, и у 8 изолятов отмечали МИК₃ 1,0 мг/л.

В зависимости от различных МИК гентамицина, азитромицина и доксициклина распределение изолятов *Staphylococcus aureus* носило бимодальный характер, что указывает на гетерогенность изолятов.

Устойчивости к оксациллину у всех исследованных нами изолятов мы не обнаружили, что позволяет отнести их к метициллин-чувствительным *S. aureus* MSSA. Установлено, что изоляты, выделенные из биоматериала, были восприимчивы к ванкомицину (S=100 %).

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы отмечается тенденция к возникновению и распространению микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. Постоянное использование антимикробных препаратов способствует появлению полирезистентных микроорганизмов, что показывает актуальность рациональной фармакотерапии животных [1, 2,3].

В последние годы чаще встречаются метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA), изолированные от животных. Стафилококки зоонозного происхождения (LA-MRSA) труднее поддаются лабораторному контролю. Лабораторные результаты исследований на чувствительность *in vitro* важны при выборе наиболее эффективного АМП при фармакотерапии [6,7,8].

Механизмы развития антибиотикорезистентности различны (продукция ферментов, антимикробная избирательность клеточной стенки, эффлюкс-система) [2]. Лабораторный контроль антибиотикочувствительности микроорганизмов, ранжирование результатов и их выборочное репортирование позволяют профилировать возникновение и распространение резистентности к антимикробным препаратам.

Цель работы: оценить фенотипическую устойчивость изолятов стафилококков, выделенных от телят с респираторной патологией и коров при маститах к основным антимикробным препаратам, используемых в Российской Федерации, и определить их минимальные ингибирующие концентрации (МИК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ранжирование АМП проводили с учетом их клинической эффективности, а также возбудителей, имеющих природную резистентность, определены маркерные АМП или предикторы чувствительности.

Чувствительность изолятов к пенициллину, оксациклину, гентамицину, эритромицину, линкомицину, рифампицину, ципрофлоксацину, ванкомицину, фузидину тестировали диско-диффузионным методом (ДДМ) на агаре Мюллера-Хинтона (Великобритания). Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) определяли методом серийных микроразведений на бульоне Мюллера-Хинтона (Великобритания). Для этого из агаровой культуры готовили инокулом исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* с плотностью 0,5 по стандарту мутности МакФарланда. Индикация резистентности к АМП методом серийных разведений с определением МПК проводили с применением планшетом GPALLIF (с левофлоксацином, моксифлоксацином и хлорамфениколом для грамположительных микроорганизмов), RUSTEF (с доксициклином и цефтаролином для стафилококков и энтерококков), GPN3F (с пенициллином ампицилином оксацилином, ванкомицином для грамположительных кокков).

Для рациональной фармакотерапии животных использовали критерии интерпретации ECOFF с учетом биологической активности микроорганизмов, «Экспертные правила определения к антибиотикам EUCAST» [4, 5].

Прогнозирование (экстраполирование)

наличия ассоциированной резистентности проводили по приоритетным препаратам. Выборочное репортирование АМП осуществляли, анализируя антибиотикограммы, с учетом результатов чувствительности антибиотиков, имеющих критическое значение в медицине согласно перечню ВОЗ. Биометрическую обработку проводили с использованием программ Microsoft Excel, и онлайн платформы AMRcloud.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изоляты культуры *Staphylococcus aureus* проявили высокую чувствительность только к антибиотикам цефалоспоринового ряда. *Staphylococcus aureus* обладает природной резистентностью к ряду антибиотиков, включая цефтазидиму, азтреонаму, полимиксину, колистину, налидиксовой кислоте.

Изоляты были чувствительны к азитромицину и эритромицину (S=76,0%), цефотаксиму (S=100,0%), цефалексину (S=100,0%), неомицину (S=70,0%), клиндамицину (S=76,0%), индуцибельной резистентности к клиндамицину не выявлено, тетрациклину (S=70,0%) (табл.1).

Из исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* (24%) обладали устойчивостью к азитромицину по диско-диффузионному методу и проявили рост 20 (60,6%) при МИК₃ 0,5 мг/л, а изолятов 4 (8,0 %) при МИК₃ 1,0 мг/л.

Из исследуемых изолятов *Staphylococcus aureus* (30,0%) обладали устойчивостью к тетрациклину. Если *Staphylococcus aureus* был резистентен к тетрациклину, определяли резистентность к доксициклину МИК₃ 0,5 мг/л у 7 изолятов, и у 8 изолятов отмечали МИК₃ 1,0 мг/л.

В зависимости от различных МИК гентамицина, азитромицина и доксициклина распределение изолятов *Staphylococcus aureus* носило бимодальный характер, что указывает на гетерогенность изолятов.

Оксациллин использовали для выявления резистентности ко всем бета-лактамным препаратам у стафилококков (MRSA). Устойчивости к оксациллину у всех исследованных изолятов мы не обнаружили, что позволяет отнести их к мети-

циллин-чувствительным *S.aureus* (MSSA), исследования чувствительности к цефокситину не проводили.

В ходе наших исследований мы выделили MSSA (метициллинчувствительные стафилококки) – *S.aureus*, чувствительные к оксациллину (метициллину), что согласуется с авторами других работ (О.А. Артемьева, Д.А. Никанова, Е.Н. Катковская и др., 2016) [1].

Согласно обновленной версии рекомендаций Европейского комитета по определению чувствительности к анти-микробным препаратам (EUCAST) рекомендует использовать цефокситин для скрининга mecA/mecC- опосредованной резистентности к бета-лактамам у *S. aureus*.

Оксациллин и цефокситин – индикаторные препараты, по результатам определения чувствительности к которому можно с высокой степенью вероятности судить о резистентности не только к данным препаратам, но и ко всем бета-лактамам. Установлено, что изоляты *S. aureus*, выделенные из биоматериала были восприимчивы к ванкомицину (S=100%). Собранные данные загружены в таблице Excel на платформу AMRcloud для последующего комплексного анализа и систематизации.

В зависимости от различных МИК гентамицина, азитромицина и доксициклина распределение изолятов *Staphylococcus aureus* носило бимодальный характер, что указывает на гетерогенность изолятов.

В заключение важно отметить, что значение МИК позволяет прогнозировать вероятность успеха и неудачи выбранной терапии.

Низкое значение МИК указывает на высокую чувствительность к АМП, а высокое значение прогнозирует низкую чувствительность и вероятную резистентность.

Значение МИК позволяет ветеринарному врачу:

выбрать наиболее подходящий анти-микробный препарат;

модифицировать дозирование АМП, принимая во внимание чувствительность патогенна (МИК) в комбинации с характеристиками животного и фармакокине-

Таблица 1

Устойчивость и чувствительность микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, выделенных от коров и телят в СЗ ФО РФ, к различным АМП (ЕСОФФ)

Название антимикробного препарата	Чувствительные	Резистентные	Количество исследуемых культур
Пенициллины			
Ампициллин	13/26,0	37/74,0	50
Бензилпенициллин	37 /74,0	13/26,0	50
Макролиды			
Эритромицин	26 /76,0	12/24,0	50
Азитромицин	26/76,0	12/24,0	50
Линкозамиды			
Клиндамицин	26 /76,0	12/24,0	50
Линкозамицин	45/90,0	5/10,0	50
Аминогликозиды			
Гентамицин	38/76,0	12/24,0	50
Неомицин	35/70,0	15/30,0	50
Тетрациклины			
Тетрациклин	35/70,0	15/30,0	50
Доксициклин	35/70,0	15/30,0	50
Цефалоспорины			
Цефалексин	50/100,0	0/0	50
Цефотаксим	50/100,0	0/0	50

Примечание: в числителе – абсолютное число культур, в знаменателе – процент от числа выделенных культур.

тическими параметрами лекарственного средства посредством использования терапевтического лекарственного мониторинга.

ВЫВОДЫ

Фенотипическая устойчивость изолятов в нашем исследовании подчеркивает важность рутинного скрининга для выявления резистентности фенотипов изолятов. Практическое применение фенотипических методов исследования позволяет выявить антибиотикочувствительность и механизмы резистентности у этиологически значимых возбудителей животных. Таким образом, изучение антибиотикорезистентности возбудителей болезней животных и правильно разработанные схемы лечения — меры, уменьшающие риск распространения полирезистентных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

ANTIBIOTIC RESISTANCE MICRO-

ORGANISMS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM ANIMALS. Makavchik S.A., Krotova A.L.

ABSTRACT

In recent years, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals have become more common. *Staphylococci* of zoonotic origin (LA-MRSA) are more difficult to control in the laboratory. Laboratory results of in vitro sensitivity studies are important when choosing the most effective AMP in pharmacotherapy. Laboratory monitoring of the antibiotic sensitivity of microorganisms, ranking of results and their selective reporting make it possible to prevent the occurrence and spread of antimicrobial resistance.

The paper presents data on the stability of staphylococcal isolates isolated from animals when interpreting the data obtained by the disco-diffusion method and the method

of serial micro-dilutions in broth.

The isolates were sensitive to azithromycin and erythromycin (S=76.0%), cefotaxime (S=100.0%), cephalixin (S=100.0%), neomycin (S=70.0%), tetracycline (S =70.0%), clindamycin (S=76.0%), inducible resistance to clindamycin was not detected.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Артемьева, О.А. Фенотипическая устойчивость к антибиотикам у штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных из молока коров / О.А. Артемьева, Д.А. Никанова, Е.Н. Колодина, В.В. Романова, Ф.А. Бровко, Н.А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология – 2019 - том 54- № 6 - С. 1257-1266
- 2.Макавчик, С.А. Механизмы резистентности к антимикробным препаратам у микроорганизмов, выделенных от крупного рогатого скота/ Макавчик С.А., Кротова А.Л., Баргман Ж.Е., Сухинин А.А., Приходько Е.И.// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.- 2020. -№ 4.- С. 41-46.
- 3.Макавчик, С.А. Этиологическая структура возбудителей мастита коров и их характеристика чувствительности к антибактериальным препаратам в Северо-Западном регионе / Макавчик С.А., Сухинин А.А., Кротова А.Л., Селиванова Л.В., Приходько Е.И.// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2020. -№ 1.- С. 66-71.
- 4.European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC distributions and ECOFFs <https://mic.eucast.org/search/>.
- 5.EUCAST. Экспертные правила определения чувствительности к антибиотикам EUCAST. Доступно по адресу: https://www.eucast.org/expert.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/
- 6.Talukder, A.A. Isolation, identification and resistance pattern of microorganisms associated with mastitis in Buffalo./ Talukder A.A., Rahman H.H., Jamil Mahmud S.M., Alam F., Dey S.K.//J. Microbiol.- 2013- 30 (1-2)- P. 1-5.
7. Tanzin, T. Antibiotic resistance profile of bacteria isolated from raw milk samples of cattle and buffaloes / Tanzin T., Nazir K.H.M.N.H., Zahan M.N., Parvej M.S., Zesmin K., Rahman M.T.// Journal of Advanced Veterinary and Animal Research- 2016- 3(1) -P. 62-67,doi: 10.5455/javar.2016.c133.
- 8.Thaker, H.C. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from milk and milk products and their drug resistance patterns in Anand, Gujarat / Thaker H.C., Brahmabhatt M.N., Nayak J.B.// Veterinary World- 2013- 6(1)-P. 10-13,doi: 10.5455/vetworld.2013.10-13.
- 9.Antibiotic resistance of staphylococcus aureus microorganisms, isolated from animals. Makavchik. S.A. – PhD of vet.science St. Petersburg state academy of veterinary medicine, St. Petersburg, Krotova A.L.- Leningrad interregional veterinary laboratory, Saint-Petersburg.

УДК 619:615.36:636.92:637.072

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.108

ОЦЕНКА ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ МЯСА КРОЛИКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МАРБОТРИМА

Григорьева Н.А.-к.в.н., с.н.с., (ORCID 0000-0002-7593-1198), Жуков М.С.- к.в.н., с.н.с., (ORCID 0000-0002-9317-7344), Шабанов Д.И.-м.н.с., (ORCID 0000-0002-1574-1317), Вели А.А.- м.н.с., (ORCID 0000-0002-9494-1148)

Богданова М.С.-асп., (ORCID 0000-0001-7216-6737)

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ключевые слова: кролики, мясо, марботрим, ветеринарно-санитарная оценка. **Key-words:** rabbits, meat, marbotrim, veterinary and sanitary examination.



РЕФЕРАТ

Одним из представителей фторхинолонов III-го поколения является марбофлоксацин. Также установлено, что совместное применение триметоприма и фторхинолонов обладает синергическим эффектом, который даёт хорошие результаты при терапии сочетанных инфекций респираторного и желудочно-кишечного тракта [6]. Поэтому сочетание марбофлоксацина и триметоприма в одном препарате является весьма привлекательным. Однако для внедрения препарата в ветеринарную практику, необходимым условием является проведение доклинических и клинических исследований. Исследование проведено в условиях вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». В качестве модели выбраны кролики породы советская шиншилла. Целью исследования являлось изучение влияния марботрима на качество мяса. В опыте задействованы 10 кроликов породы советская шиншилла с живой массой тела 2,7—3,0 кг, которых разделили на 2 группы. Группа 1 (n = 5) была контрольной и животным препарат не применяли, животным группы 2 (n = 5) – внутримышечно вводили препарат марботрима в терапевтической дозе (0,02 мл/кг) один раз в сутки в течении 3 дней согласно инструкции по применению. Через сутки после последнего введения препарата был проведён диагностический убой, с последующей ветеринарно-санитарной экспертизой мяса всех животных. Установлено, что внутримышечное введение марботрима в терапевтической дозе не оказывает негативного влияния на органолептические и физико-химические показатели качества мяса.

ВВЕДЕНИЕ

Антибиотики – группа веществ, являющихся продуктами жизнедеятельности бактерий, грибов, растений и животных (или их синтетические аналоги), которые обладают избирательной способностью подавлять функционирование микроорганизмов. На основании особенностей механизма их действия выделяют бактерицидные и бактериостатические антибиотики. В связи со спецификой их действия

они стали неотъемлемой частью терапии инфекционных и многих незаразных болезней животных. Так антибиотики широко используются ветеринарными практиками в лечении болезней респираторного и желудочно-кишечного тракта, а также при развитии маститов, эндометритов, раневых инфекций и других патологий. С момента первого открытия пенициллина, которого в последующем отнесли к соот-

ветствующей подгруппе антибиотиков, было открыто множество веществ с аналогичным действием. В связи с этим антибиотики классифицировали и разделили на группы по химической структуре. Так были выделены группы бета-лактамов, тетрациклинов, макролидов, аминогликозидов, фторхинолонов и др. Однако несмотря на широкий выбор антибиотиков, в последние годы всё большее значение приобретает проблема развития устойчивости микроорганизмов к антибактериальным средствам, как в гуманной, так и в ветеринарной медицине [3, 5]. В соответствии с этим, возрастает необходимость совершенствования подходов выбора антибактериальных средств и внедрения новых антибиотиков. Также исследования бактериальной чувствительности микроорганизмов показывают, что наибольшую эффективность в отношении выделяемых бактерий оказывают антибиотики из группы фторхинолов, что определяет к ним большой интерес [1, 2, 4]. Несмотря на некоторые нюансы, все фторхинолоны характеризуются принципиально общим механизмом действия, который заключается в ингибировании ферментов ДНК-гиразы и топоизомеразы IV, в результате чего достигается бактериостатический и бактерицидный эффект [8]. Это позволяет им быть активными в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микоплазм. При этом необходимо отметить, что на Российском ветеринарном рынке в основном распространены фторхинолоны II-го поколения (норфлоксацин, энрофлоксацин, цiproфлоксацин, офлоксацин и левофлоксацин) и менее распространены фторхинолоны III-го поколения, одним из важных свойств которых является усиление активности в отношении грамположительных бактерий и в частности пневмококков и микоплазм, а также появление активности в отношении анаэробов [7]. Одним из представителей фторхинолонов III-го поколения является марбофлоксацин. Также установлено, что современное применение триметоприма и фторхинолонов обладает синергическим

эффектом, который даёт хорошие результаты при терапии сочетанных инфекций респираторного и желудочно-кишечного тракта [6]. Поэтому сочетание марбофлоксацина и триметоприма в одном препарате является весьма привлекательным. Однако для внедрения препарата в ветеринарную практику, необходимым условием является проведение доклинических и клинических исследований [9]. Одним из этапов таких исследований является определение возможных негативных последствий применения препарата, которые могут отражаться, как на здоровье животных, так и на качестве полученной от них продукции. Поэтому целью данного исследования стало изучение влияния марботрима на качество мяса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в условиях вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ». В качестве модели выбраны кролики породы советская шиншилла. В опыте задействованы 10 животных с живой массой тела 2,7—3,0 кг, которых разделили на 2 группы. Группа 1 (n = 5) была контрольной и животным препарат не применяли, животным группы 2 (n = 5) – внутримышечно вводили препарат марботрим в терапевтической дозе (0,02 мл/кг) один раз в сутки в течение 3 дней согласно инструкции по применению. На протяжении всего исследования кролики получали сбалансированный рацион, содержались в помещении с оптимальными параметрами микроклимата. И находились под клиническим наблюдением. Через сутки после последнего введения препарата был проведён диагностический убой, с последующей ветеринарно-санитарной экспертизой мяса всех животных.

Материалом для исследования служили образцы длиннейшей мышцы спины. Органолептическое исследование проводили комиссионно, в том числе и внешнюю оценку туши после созревания, в соответствии с ГОСТ 9959-2015. Оно включало в себя оценку качества варёного мяса и полученного из него бульона по 9-ти бальной шкале. Характеристика мяса

Таблица 1
Органолептическая оценка мяса кроликов при использовании препарата марботрим M±SD

Показатель	Контроль	Опыт	P-уровень
мясо			
Внешний вид	8,5±0,26	8,8±0,16	0,077608
Цвет	8,6±0,35	8,8±0,18	0,421112
Аромат	8,3±0,31	8,2±0,33	0,543795
Вкус	8,0±0,22	8,1±0,37	0,618862
Консистенция	7,1±0,21	7,1±0,21	0,976636
Сочность	6,6±0,23	6,6±0,36	0,894794
Общ. оценка	7,9±0,12	7,9±0,11	0,894140
бульон			
Внешний вид	8,5±0,08	8,0±0,01	0,000001
Цвет	8,5±0,10	8,4±0,25	0,748554
Аромат	8,7±0,13	8,0±0,18	0,000318
Вкус	8,3±0,23	8,2±0,17	0,566074
Наваристость	8,1±0,15	7,9±0,14	0,110351
Общ. оценка	8,4±0,04	8,1±0,08	0,000105

Таблица 2
Физико-химические и химические показатели мяса кроликов при использовании препарата марботрим M±SD

Показатели	Контроль	Опыт
pH мяса после убоя	5,84±0,027	5,86±0,013
pH мяса после созревания	5,84±0,027	5,88±0,023
Реакция на аммиак и соли аммония	Отрицательная	Отрицательная
Реакция на пероксидазу	Положительная	Положительная
Продукты первичного распада белков в бульоне	Отрицательная	Отрицательная
Влага, %	74,8±0,87	74,0±0,60
Сырой протеин, %	20,5±0,38	20,7±0,58
Сырой жир, %	1,3±0,46	2,0±0,46*
Сырая зола, %	0,76±0,14	0,97±0,14*

*Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля.*

проводилась по следующим критериям: внешний вид, цвет, аромат, вкус, консистенция, сочность. А бульон оценивали по внешнему виду, цвету, аромату, вкусу и наваристости.

Физико-химическое исследование включало определение реакции на аммиак и соли аммония с реактивом Несслера; активности фермента пероксидазы (бензидиновая проба); продуктов первич-

ного распада белков в бульоне по реакции с 5% раствором сернокислой меди. Определение кислотности, измерение (pH) мяса потенциометрическим методом, проводили в образцах, забор которых проводился в два этапа: спустя 1 ч после убоя и после созревания тушек (24 ч) в соответствии с ГОСТ 20235.1—74.

Химический состав мяса кроликов изучали по таким показателям, как относи-

тельное содержание влаги (ГОСТ 33319—2015), жира (ГОСТ 23042—2015), белков (ГОСТ 25011—2017) и минеральных веществ (зола) (ГОСТ 31727—2012).

Все исследования проведены на базе отдела фармакологии и НИЦ ФГБНУ «ВНИВИПФиТ».

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью компьютерного пакета программ Statistica, версия 6.0. Рассчитывали среднее арифметическое значение (M) и среднеквадратическое отклонение (SD). Достоверность различия результатов оценивали по t-критерию Стьюдента. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведения ветеринарно-санитарной экспертизы тушек и внутренних органов кроликов было установлено, что во всех образцах отсутствовали видимые патологические изменения. Во время осмотра тушек отмечено наличие характерной корочки подсыхания, которая имела бледно-красный цвет. При пальпации мышц установлено, что они имели плотную консистенцию и были упругими. На разрезе их поверхность была слегка влажной и имела цвет от бледно-розового до бледно-красного, а запах соответствовал свежему мясу кроликов. Жир при осмотре был белого цвета, эластичный и мягкий по консистенции. Сухожилия упруги и блестящие.

Исследование мяса пробой варки показало, что применение марботрима достоверно не повлияло на качество варёного мяса. При оценке образцов из группы контроля и опыта было установлено, что они характеризовались очень хорошим цветом и внешним видом. Запах при этом был сильным и приятным. Дальнейшая органолептическая оценка показала, что мясо было вкусным и достаточно сочным, но недостаточно нежным. При этом общая оценка соответствовала хорошему качеству мяса. При оценке бульона, полученного из исследуемых образцов было отмечено, что в опытной группе баллы, полученные за внешний вид и аромат,

были достоверно ниже на 5,9 ($p = 0,000001$) и 8% ($p = 0,000318$) соответственно по сравнению с контролем, но средний показатель соответствовал значению очень хорошего внешнего вида и приятного сильного запаха. На вид бульон был прозрачным со слегка золотистым цветом и капельками жира на поверхности, а также имел хороший вкус. В целом общая оценка образцов из обеих групп соответствовала хорошему качеству (Табл. 1). Анализ результатов химического состава образцов длиннейшей мышцы спины кроликов показал, что в контрольной и опытной группе отсутствует достоверное отличие в показателях влаги и сырого протеина. Однако процент содержания сырого жира и золы в образцах опытной группы было выше уровня контроля на 53,8 и 27,6% соответственно, данные показатели не выходили за рамки нормативных значений для мяса кроликов.

Таким образом проведённые исследования показали, что после применения курса препарата марботрима в терапевтической дозе отсутствуют изменения химического состава мяса и его доброкачественности по результатам физико-химической и органолептической оценке. Вместе с этим выявлено отсутствие негативного влияния марботрима на сохранность мяса после убоя.

ВЫВОДЫ

В ходе проведённых исследований было показано, что внутримышечное введение марботрима в терапевтической дозе не оказывает негативного влияния на органолептические и физико-химические показатели качества мяса и тем самым соответствует стандартам, предусмотренным для доброкачественного мяса кроликов.

ASSESSMENT OF THE RABBIT MEAT QUALITY AND SAFETY WHEN USING MARBOTRIM. Grigoryeva N.A., PhD of Veterinary Sciences., Senior Scientific Associate (ORCID 0000-0002-7593-1198) Zhukov M.S., Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate, ORCID 0000-0002-9317-7344), Shabanov D.I., Junior Scientific Associate (ORCID 0000-0002-1574-1317), Veli A.A., Junior Scientific Associate (ORCID 0000-0002-9494-1148), Bogdanova M.S., Postgradu-

ate Student, (ORCID 0000-0001-7216-6737), FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy"

ABSTRACT

One of the representatives of the third generation fluoroquinolones is marbofloxacin. It was also found that the combined use of trimethoprim and fluoroquinolones has a synergistic effect, which gives good results in the treatment of concomitant infections of the respiratory and gastrointestinal tract [6]. Therefore, the combination of marbofloxacin and trimethoprim in one preparation is very attractive. However, for the introduction of the drug into veterinary practice, a prerequisite is the conduct of preclinical and clinical studies. The research was carried out in the conditions of the vivarium of the Federal State Budgetary Scientific Institution "VNIVIPFiT". The objective of the research was to study the effect of marbotrim on the meat quality. The experiment included 10 rabbits of the Soviet chinchilla breed with a live weight of 2.7-3.0 kg, which were divided into 2 groups. Group 1 (n = 5) was the control and the animals were not administered the drug, the animals of group 2 (n = 5) were injected intramuscularly with the drug marbotrim at a therapeutic dose (0.02 ml/kg) once a day for 3 days according to the instructions for application. A day after the last injection of the drug, a diagnostic slaughter was carried out, followed by a veterinary and sanitary examination of the meat of all animals. It has been found that intramuscular administration of marbotrim at a therapeutic dose does not have a negative effect on the organoleptic and physicochemical indicators of meat quality.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анализ эффективности антимикробных препаратов в отношении бактериальных возбудителей маститов коров / Пархоменко Ю.С. Манжурина О.А., Семенова Е.В. и др. // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2020. – №2 (11). – С. 133-142. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.2.133.
2. Жуков М.С. Рациональные подходы к стартовой антибактериальной терапии болезней органов дыхания у телят / М.С.

Жуков, О.А. Манжурина, Ю.С. Пархоменко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – №3. – С. 41-44. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2019.3.41.

3. Изучение уровня экспрессии генов ферментов рестрикции ДНК микроорганизмов при формировании антибиотикорезистентности / Г.А. Востроилова, Н.В. Пасько, А.О. Королькова и др. // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2018. – №3 (4). – С. 18-23. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2018.3.18

4. Изучение эффективности антибактериальных препаратов к бактериальным возбудителям воспалительных заболеваний репродуктивных органов свиноматок / О.А. Манжурина, Ю.С. Пархоменко, И.С. Перепёлкина, Е.В. Семенова // Материалы V-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов. Санкт-Петербург, 2019. – С. 120-122.

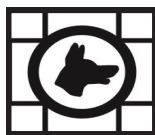
5. Исследования резистентности бактериальных возбудителей желудочно-кишечных и респираторных болезней поросят к антимикробным препаратам / А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, М.И. Лебедев, Е.В. Лебедева // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2011. – №2. – С. 53-55.

6. Одновременное определение триметоприма, энрофлоксацина и ципрофлоксацина в сыворотке крови птицы / А.С. Кубасов, П.П. Кочетков, А.В. Балышев, С.В. Абрамов, В.Е. Абрамов // Журнал аналитической химии. – 2016. – Т. 71. – №6. – С. 667-670.

7. Сидоренко С.В. Фторхинолоны: свойства и клиническое применение / С.В. Сидоренко // Трудный пациент. – 2011. – Т. 9. – № 5. – С. 21-27.

8. Fluoroquinolonemetal complexes: a route to counteract bacterial resistance? / M.J. Feio, I. Sousa, M. Ferreira et al. // J. Inorg. Biochem. – 2014. – Vol. 138. – P. 129-143.

9. Non-clinical studies in the process of new drug development - Part II: Good laboratory practice, metabolism, pharmacokinetics, safety and dose translation to clinical studies / E.L. Andrade, A.F. Bento, J. Cavalli et al // Braz J Med Biol Res. – 2016. – Vol. 49(12). – e5646.



УДК 577.213.3:637.54:637.52

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.113

ДИЗАЙН ДУПЛЕКСНОЙ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МЯСА УБОЯ КУРИЦЫ В СМЕШАННОЙ МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ

Гергель М.А.1, Зайцева Е.В.1, Солтынская И.В.1, Путинцева А.В.1, Крылова Е.В.1, Тимофеева И.А.1, Кирсанова Н.А.1, Акинина Т.Н.1, Василевич Ф.И.3, Богомазова А. Н.1, 2

1 – Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, 2 – Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины, 3 – Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина.

Ключевые слова: ПЦР в реальном времени, фальсификация пищевой продукции, Gallus gallus. **Keywords:** real-time PCR, food fraud, Gallus gallus



РЕФЕРАТ

Лабораторные ПЦР методики, которые используют при контроле качества мясных пищевых продуктов, как правило, выявляют митохондриальные последовательности ДНК (мтДНК). Множественность копий мтДНК в клетке обеспечивает высокую чувствительность таких методик. Высокая чувствительность ПЦР, выявляющих мтДНК курицы (*Gallus gallus*), может приводить к положительному результату при анализе продукции, содержащей куриные яйца. Однако ряд мясных изделий, в частности, некоторые вареные колбасы, не содержат мясо убоя курицы, при этом при их приготовлении используют куриные яйца или меланж. Методики, в основе которых лежит ПЦР, выявляющая мтДНК, не способны отличить добросовестное следование рецептуре от фальсификации мясного состава таких изделий более дешёвым куриным мясом. В данной работе мы осуществили дизайн ПЦР «в реальном времени», целевыми последовательностями которой являются ядерные последовательности. Отдельной задачей был подбор праймеров для ПЦР, служащей для внутреннего контроля, где целевыми последовательностями являются ядерные последовательности, консервативные для животных и птиц. Мы показали, что использование уникальных хромосомных последовательностей в качестве целевых последовательностей позволяет избавиться от положительных результатов в ПЦР, где в качестве матрицы используется ДНК, выделенная из куриных яиц или меланжа. Методика на основе разработанных ПЦР может быть использована для выявления фальсификации состава смешанных мясных изделий мясом убоя курицы.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время разработано множество качественных ПЦР методик для анализа состава мясной продукции [1-5]. Такие методики позволяют детектировать наличие в пище мяса, не заявленного в

составе или недопустимого по этическим и религиозным мотивам. Например, для многих европейцев неприемлемым является использование в пищу конины [6], также очевидным является использование ПЦР для сертификации халяльной пищи

[1, 3]. Во всех упомянутых выше качественных ПЦР методиках, применяемых для выявления недопустимых пищевых компонентов [1-6], целевыми последовательностями для ПЦР являются последовательности мтДНК. Это связано прежде всего с тем, что использование мтДНК для видовой генетической идентификации имеет давнюю историю, и мтДНК отсеквенирована у множества видов [7]. Кроме того, применение мтДНК в качестве целевых ПЦР последовательностей повышает чувствительность метода, так как в клетках содержатся от нескольких сотен до тысяч митохондрий [8].

Высокая чувствительность метода является несомненным преимуществом, когда необходимо убедиться, что незаявленного мяса в пищевой продукции действительно нет. Однако ПЦР, выявляющие митохондриальные последовательности курицы, могут давать продукт при использовании ДНК, выделенной из яиц или меланжа [2]. Это значит, что при помощи такой ПЦР невозможно достоверно выявить фальсификацию куриным мясом при анализе мясной продукции, в рецептуре которой заявлены яйца или меланж. К таким продуктам, например, относятся колбасы вареные фаршированные, изделия колбасные вареные мясные, колбасы ливерные, изготовленные по ГОСТам 20402, 23670, Р 54646, соответственно [9-11].

Как известно, яйца содержат лишь единичные клетки [12], при том, что количество митохондрий в каждой клетке может достигать нескольких сотен. Таким образом, яйца содержат единичные копии ядерного генома и сотни копий митохондриального генома. Соответственно, используя в ПЦР в качестве целевых последовательностей последовательности ядерного генома, можно создать методику, чувствительную к присутствию в продукции мяса убоя курицы и нечувствительную к использованию яиц.

Методики, выявляющие в мясной продукции ДНК животного или птицы, мясо которого не заявлено в рецептуре, помимо видоспецифичной ПЦР, как правило, используют дополнительную ПЦР, слу-

жащую внутренним контролем. Использование внутреннего контроля помогает подтвердить, что выделение ДНК проведено правильно, а качество выделенной ДНК позволяет получение ПЦР продукта. Использование внутреннего контроля необходимо для количественных ПЦР методик, в которых количество видоспецифичной ДНК соотносят с количеством ДНК внутреннего контроля. Целевыми последовательностями для внутреннего контроля обычно служит последовательность ДНК, консервативная внутри крупного таксона, например, класса Млекопитающие. Существует несколько опубликованных работ, где в ПЦР внутреннего контроля в качестве целевых последовательностей использовали ядерные последовательности генома. В ряде работ [13-15] использовали последовательность гена *Mstn*, кодирующего консервативный белок миостатин, с последовательностями праймеров, разработанными в 2007 году Laube et al. [16]. Возможно также использование в качестве внутреннего контроля многокопийных ядерных последовательностей таких, как последовательности ядерных генов, кодирующих рибосомную РНК (рРНК) [17].

В настоящей работе для выбора внутреннего контроля мы протестировали однокопийные и многокопийные ядерные последовательности в сравнении с митохондриальными. Мы показали, что ПЦР, использующая ядерные последовательности в качестве целевых, не даёт продукта при использовании ДНК, выделенной из яиц или меланжа. Мы показали также, что использование уникальных однокопийных последовательностей в качестве целевых последовательностей в ПЦР внутреннего контроля более надёжно для лабораторной методики в силу устойчивости к контаминации. В результате мы подобрали праймеры и зонд к уникальным однокопийным ядерным последовательностям ДНК для ПЦР, которая может использоваться в качественных и количественных методиках, нацеленных на выявление мяса убоя курицы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выбора и анализа целевых ПЦР последовательностей использовали референсные репрезентативные геномы (англ., RefSeq — representative genomes), опубликованные в базе данных Национального центра биотехнологической информации США (NCBI). Прежде всего, использовали геномы сельскохозяйственных животных и птицы, в панель также были добавлены геномы животных, мясо которых употребляется в пищу: геномы лошади, одногорбого верблюда. Также в панель были добавлены референсный геном человека и геномы тех животных, ДНК которых может попасть в анализируемые пробы за счет контаминации на производстве, при хранении продуктов, при отборе проб и выделении ДНК. Это геномы мыши, серой крысы и кошки.

Анализ полиморфизма в целевых последовательностях включал множественное выравнивание последовательностей при помощи алгоритма Clustal omega [18] и программы Ugene [19]. Подбор праймеров производили на онлайн-ресурсе «PCR Primer Design», расположенном на сайте компании Eurofins Genomics [20]. Специфичность праймеров оценивали при помощи онлайн-ресурса «Primer-Blast», расположенном на сайте NCBI [21]. Для выбора ультраконсервативных хромосомных последовательностей позвоночных использовали геномный браузер «Vista Enhancer Browser» [22]. Поиск гомологичных ультраконсервативных последовательностей в геномах животных и птиц проводили при помощи BLAST [23]. Последовательности выбранных нами праймеров и зондов указаны в таблице 1.

Для первичной оценки качества праймеров и зондов была создана панель образцов ДНК, выделенной из различных куриных продуктов. ДНК для этой панели выделяли из филе, бедра, кожи курицы, печени, сердца, желудка, фарша мехобвалки, а также яиц и меланжа.

Для испытания тест-систем на специфичность создали панель образцов ДНК из тканей млекопитающих, птиц, рептилий, рыбы, раков, головоногих, а именно:

курицы, утки, перепела, домашней индейки, быка домашнего, свиньи домашней, лошади, овцы, кролика, зайца-русака, лося, косули, дельфина, норки, кошки, собаки, мыши, серой крысы, золотистого хомяка, морской свинки, страуса, журавля-красавки, сизого голубь, крокодилового каймана, трески атлантической, северной креветки, кальмара. Видовая принадлежность образцов ДНК животных была верифицирована секвенированием фрагмента гена CytB по Сэнгеру [24]. Помимо образцов ДНК животных в панель добавили растительные образцы – сою и рис.

Для выделения ДНК образцы тканей измельчали отдельно, используя различные ножи и посуду. Для выделения ДНК использовали набор производства «Синтол» в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию и чистоту ДНК определяли с помощью спектрофотометра NanoDrop (Thermo Scientific).

ПЦР в реальном времени проводили при помощи амплификатора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research Pty Ltd). Программу термоциклирования состояла 35 двустадийных циклов: 15 с при 95°C и 45 с при 62°C. Кривые накопления флуоресцентного сигнала анализировали с помощью программного обеспечения амплификатора Rotor-Gene. В ПЦР использовали праймеры и флуоресцентно-меченные зонды в концентрации 250 нМ и 125 нМ, соответственно. Каждая ПЦР была поставлена минимум в двух независимых повторениях и в двух технических повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В 2004 году при сравнительном анализе полных геномов человека, крысы и мыши в некодирующих областях были выявлены около 500 участков длиной более 200 п.н. с идентичной последовательностью. Большинство из этих элементов обладали также высокой идентичностью с участками генома курицы и собаки [25]. Более того, сравнение с полным геномом рыбы фугу показало высокую консервативность этих элементов в целом среди позвоночных [26]. Позднее было показано, что многие из этих ультракон-

Таблица 1
Последовательности праймеров и зондов, использованных в работе

Название	Последовательность (5'→3')	Дли-на	Tm °C	Длина амплико-на, п.н.
VE1800-F	GCTGCTTGCCATTTTCATATC	22	62	89
VE1800-Z	TTATGACAGGGCTGCAGCCAAGAT	24	68	
VE1800-R	AACTTGCACACTAATTCCCTTTG	23	62	
16S-F	GGTTCGTTTGTTC AACGATTA	21	59	74 у млекопитающих 75 у птиц
16S-Z	TCCTACGTGATCTGAGTTCAGACCGGAG	28	69	
16S-R	AGATAGAAACCGACCTGGATT	21	61	
Rarres-F	GTGAATGAGATCCACGGAAAGA	22	62	106
Rarres-Z	CAGCAAAGGGTGAAGGAGGGATCA	24	68	
Rarres-R	CTGCCCTAACTCTGCTGAAA	20	62	

сервативных элементов являются тканеспецифичными энхансерами, функционирующими в раннем эмбриональном развитии [27].

Для подбора праймеров и зонда (табл. 1) был выбран ультраконсервативный элемент, который в этом геномном браузере обозначен как VE-1800. В геноме человека элемент VE-1800 находится в интроне гена ZFPM2 с координатами chr8:106602866-106607408 в сборке генома человека hg19. Поиск гомологичных последовательностей в геномах животных и птиц проводили при помощи BLAST [23].

Множественное выравнивание участка последовательности ультраконсервативного элемента VE-1800 млекопитающих и птиц показало, что на данном участке наблюдается 100% идентичность практически всех последовательностей (Рис. 1). Исключением являются домовая мышь и серая крыса, представляющие отряд Грызуны, в последовательностях которых есть однобуквенное несовпадение в области отжига обратного праймера ближе к 5'-концу. Такое несовпадение должно лишь незначительно снизить эффективность ПЦР.

Геномный элемент VE1800 относится к ультраконсервативным энхансерам позвоночных, поэтому мы проверили также, как будут работать ПЦР с выбранными

праймерами и зондом, если в качестве матрицы использовать ДНК рыб: стерляди, речного угря, сазана и судака. Хотя праймеры и зонд неидеально отжигаются на последовательностях VE-1800 рыб, однако количество несовпадений не настолько велико, чтобы полностью исключить получение детектируемого продукта в ПЦР, при этом эффективность реакции должна быть невысокой, а кривая накопления сигнала должна значительно отличаться по наклону от кривых ПЦР, в которых использована ДНК, выделенная из мясных продуктов.

В качестве многокопийного хромосомного гена был выбран ген, кодирующий предшественник рРНК 45S. В человеческом геноме порядка 400 копий этого гена, локализованных в коротких плечах 5 акроцентрических хромосом: 13, 14, 15, 21 и 22 [28]. Для выбора консервативного участка проведено множественное выравнивание последовательностей гена 45S рРНК человека, коровы, свиньи, овцы, козы, верблюда, лошади, кролика, кошки, собаки, утки, курицы и индейки. Затем вручную выбраны подходящие олигонуклеотидные последовательности праймеров и зонда, оценка которых была проведена при помощи онлайн-программ «PCR Primer Design» и «Primer-Blast».

Для сравнения ПЦР, в которых целе-

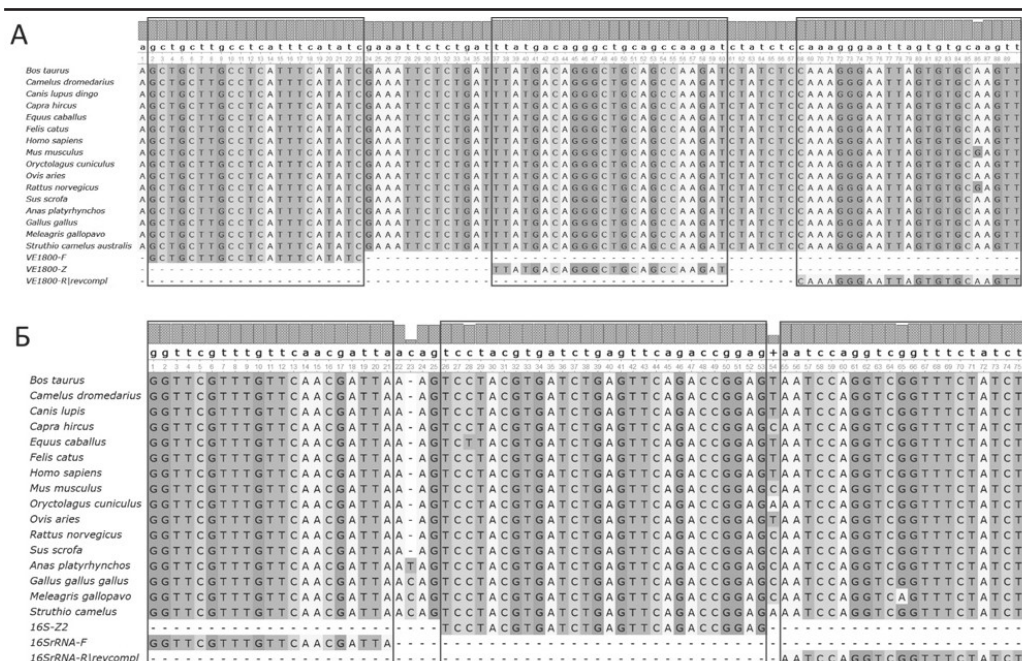


Рис. 1. Множественное выравнивание последовательностей млекопитающих и птиц вместе с последовательностями праймеров и зонда. Участки отжига праймеров и зонда выделены красными прямоугольниками. Обратный праймер приведен в виде перевёрнутой комплементарной последовательности.
 А. Геномный элемент VE-1800. Б. Ген 16S рРНК.

выми последовательностями является ядерный геном или мтДНК, мы выбрали также внутренний контроль на основе мтДНК. Для этого был выбран ген, локализованный в мтДНК и кодирующий митохондриальную 16S рРНК. Порядок подбора праймеров и зонда был аналогичен описанному для 45S рРНК (табл. 1). Ген 16S рРНК является недостаточно консервативным, поэтому есть однонуклеотидный полиморфизм в районе отжига зонда и обратного праймера, а именно: есть отличия от консенсусной последовательности у лошади и у индейки, соответственно (Рис. 1Б). В качестве специфичного для курицы участка геномной ДНК выбран ген *Rarges1*. Этот ген кодирует белок овокаликсин-32, необходимый для формирования яичной скорлупы. Праймеры и зонд отжигаются в первом интроне гена *Rarges1* (табл. 1).

Последовательность целевого участка гена *Rarges1* высокополиморфна даже среди птиц, причём у индейки и страуса – такой участок отсутствует (Рис. 2). Точками указаны совпадающие нуклеотиды, двойными и ординарными чёрточками указаны делеции разного генеза, оранжевые вертикальные чёрточки означают позиции инсерций. Красными прямоугольниками выделены позиции праймеров и зонда, использующихся в ПЦР. Праймеры и зонд для ПЦР внутреннего контроля были испытаны на панели образцов ДНК, выделенной из различных куриных продуктов: из филе, бедра, кожи, желудка, печени, фарша мехобвалки, а также яиц и меланжа. Основным критерием для выбора рабочих олигонуклеотидов было полное отсутствие флуоресцентного сигнала в ПЦР, в которой была использована ДНК, выделенная из яиц и

Немой перепел	GTGATGATGATCCACGGAAAGTCTGGCAGGGAATGCCAGAGGAGACGGGGACTTCAGCAAGGGGTGAGGGGGATCA	CCCTTTCAGCAGAGTTAGGCCAG
Индеек		
Беркут	TAA====G...TG...G...==...TG...==...CA...A...CA...AGT...AA...C...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Бадобан	TGA====G...A...CA...GG...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Крикливый зяблик	TGA...ACT...G...CA...G...G...A...ATG...==...GC...AG...GT...AGT...AA...CC...==...G...==...C...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Малая белая цапля	TGA====G...A...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Кряква	-----CT...C...CAT...GG...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Глушь	TGA...ACT...G...CA...G...G...A...ATG...==...GC...AG...GT...AGT...AA...CC...==...G...==...C...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Кукол	TGA====G...CA...G...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Орлан-белохвост	TGA====G...TG...G...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Красный фламинго	TGA...ACC...G...CA...G...G...A...ATG...==...GC...AG...GT...AGT...AA...CC...==...G...==...C...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Венценосный журавль	TGA====G...CA...G...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Ходул	TGA...ACT...G...CA...G...G...A...ATG...==...GC...AG...GT...AGT...AA...CC...==...G...==...C...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Обыкновенная сипуха	TGA...ACT...G...ST...G...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Обыкновенная кукушка	CG...ACT...G...CA...G...G...A...ATG...==...GC...AG...GT...AGT...AA...CC...==...G...==...C...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Сизый голубь	-----CAGC...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Дрофа-красотки	TGA====G...CA...G...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Солнечная цапля	TGA====G...CA...G...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Африканский страус	-----CT...G...TA...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Волнистый попугайчик	TGA====G...CAT...GG...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Полосатый трогон	-----CT...G...TA...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Американский ворон	====CA...GG...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Какаду	TGA-----CT...G...TA...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Серая ворона	-----CT...G...TA...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Домашняя канарейка	-----CT...G...TA...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Стрепок	T...A...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Белогорный перовей	-----CT...G...TA...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	
Зеленая амандина	-----CT...G...TA...==...TG...==...CA...A...GA...AGT...AA...TC...==...G...==...GA...==...C...==...T...TG...C...G...A...==...CA...C...==...A...CC	

Рис. 2. Полиморфность участка гена *Rarres1* среди птиц. Сверху – последовательность курицы; ниже – гомологичные последовательности ДНК различных птиц.

меланжа, т. е. из пищевой продукции, не относящейся к мясным продуктам. По этому критерию ожидаемо не прошли проверку праймеры и зонда для ПЦР, выявляющей участок мтДНК (16S рРНК), так как при использовании в ПЦР ДНК, выделенной из яиц или меланжа, флуоресцентный сигнал начинал увеличиваться, начиная с 30–32 цикла. Во всех остальных ПЦР, где целевыми последовательностями служили хромосомные участки генома, при использовании ДНК, выделенной из яиц и меланжа, амплификации не происходило.

ПЦР, где целевой последовательностью служил многокопийный хромосомный ген 45S рРНК, является высокочувствительной. Первые признаки роста флуоресцентного сигнала в этой ПЦР регистрировали примерно на 6 циклов раньше, чем в случае однокопийного хромосомного элемента – на 10–12 цикле. К сожалению, иногда на поздних циклах мы регистрировали небольшой сигнал в реакциях, служащей контролем выделения. Регистрация подобного сигнала может быть вызвана контаминацией реагентов для выделения ДНК следовыми количествами ДНК человека [29]. По этой причине мы отказались от использования в методике гена 45S рРНК в качестве целевой последовательности в ПЦР внутреннего контроля.

ПЦР для выявления VE1800 не давала продукта в случае использования

ДНК, выделенной из яиц и меланжа, при этом во всех образцах, содержащих мясо убоя курицы, флуоресцентный сигнал начинал расти на 16–22 цикле. Таким образом, по этому критерию мы в качестве ПЦР внутреннего контроля выбрали ПЦР, выявляющий уникальный геномный элемент VE1800.

В дальнейших тестах мы использовали дуплексную ПЦР, где в одной пробирке в двух независимых ПЦР с использованием специфичных праймеров и зондов, меченых разными флуоресцентными красителями, определяли присутствие ДНК курицы (ген *Rarres1*) и ДНК внутреннего контроля (геномный элемент VE1800). Регистрацию флуоресцентного сигнала в ПЦР, выявляющей ген *Rarres1*, проводили в канале Yellow, регистрацию сигнала в ПЦР внутреннего контроля вели в канале Red. Для подтверждения специфичности методики приготовили контрольную панель, содержащую ДНК, выделенную из образцов тканей позвоночных различных классов (птицы, млекопитающие, рыбы), а также беспозвоночных (головноногие, ракообразные) и растений.

В рамках проанализированной панели образцов дуплексная ПЦР показала 100% специфичность, а именно: по каналу Yellow, в котором регистрировали видоспецифичный ген *Rarres1*, наблюдали амплификацию только в ПЦР, где использовали ДНК курицы (*Gallus gallus*), выде-

ленную из мяса курицы, но не из яичных продуктов. По каналу Red, в котором проводили регистрацию консервативного участка генома позвоночных VE1800, наблюдали амплификацию во всех ПЦР, в которых использовали ДНК млекопитающих, птиц и рептилий. Таким образом, ПЦР внутреннего контроля обладает необходимой универсальностью для создания не только качественной, но и количественной методики для анализа состава смешанной мясной продукции.

ВЫВОДЫ

В данной работе мы разработали праймеры и зонды для дуплексной ПЦР в «реальном времени», с помощью которой можно выявить наличие в анализируемой пробе ДНК курицы и ДНК внутреннего контроля. Внутренним контролем служит участок генома, последовательность которого консервативна у птиц и млекопитающих. Оба детектируемых участка ДНК локализованы в ядерном геноме, что исключает детекцию в анализируемых пробах ДНК яиц и меланжа. Данная дуплексная ПЦР может служить основой для разработки качественных и количественных методик, предназначенных на выявление фальсификаций мясных пищевых продуктов мясом убоя курицы. Разработанная нами ПЦР внутреннего контроля может оказаться полезной не только для методик контроля качества пищевых продуктов, но и для разработки диагностических тестов.

Design of duplex real-time PCR for the detection of chicken meat in mixed meat products. Gergel M. A.1, Zaitseva E. V., Soltynskaya I. V.1, Putintseva V.1, Krylova E. V.1, Timofeeva I. A., Kirsanova N. A., Akinina T. N.1, Vasilevich F. I.1, Bogomazova A. N.1,2. 1. All-Russian State Center for Quality and Standardization of Medicines for Animals and Feed, 2-Federal Scientific and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine, 3 - Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Scriabin.

ABSTRACT

Laboratory PCR techniques used to control the quality of meat products typically

detect mitochondrial DNA sequences (mtDNA). The multiplicity of mtDNA copies in the cell provides such PCR techniques a high sensitivity. The high sensitivity of PCR detecting chicken mtDNA can lead to a positive result when applied to analyze mixed meat products containing chicken eggs. Many meat products, particularly some cooked sausages, do not contain chicken meat, while their recipes include chicken eggs or melange. In such cases, PCR detecting mtDNA cannot distinguish correctly the recipe ingredients from the food fraud with cheaper chicken meat. In this work, we carried out a design of real-time PCR which uses nuclear sequences as a target. A separate task was to select primers for PCR for internal control, for which we selected a nuclear sequence conserved for animals and birds as a target. Here we show that using a unique nuclear sequence as a target sequence allows getting rid of positive results in PCR, when the template is DNA, isolated from chicken eggs or mélange. The designed real-time PCR can be used in protocols applied to detect the falsification of the mixed meat products by chicken meat.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фомина Т. А., Минаев М. Ю. Система идентификации для контроля халяльной мясной продукции // Мясная индустрия. – 2011. – №. 3. – С. 32-34.
2. Красюков Ю. Н. и др. Качественная видовая идентификация яиц в яичных продуктах методом полимеразной цепной реакции // Новое в технике и технологии переработки птицы и яиц. – 2011. – С. 51-83.
3. López-Andreo M. et al. Detection and quantification of meat species by qPCR in heat-processed food containing highly fragmented DNA // Food Chemistry. – 2012. – Т. 134. – №. 1. – С. 518-523.
4. Soares S. et al. A SYBR Green real-time PCR assay to detect and quantify pork meat in processed poultry meat products // Meat Science. – 2013. – Т. 94. – №. 1. – С. 115-120.
5. Floren C. et al. Species identification and quantification in meat and meat products using droplet digital PCR (ddPCR) // Food chemistry. – 2015. – Т. 173. – С. 1054-1058.

- 6.Yamoah F., Yawon D. Assessing super-market food shopper reaction to horsemeat scandal in the UK //International Review of Management and Marketing. – 2014.
- 7.Kocher T. D. et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1989. – Т. 86. – №. 16. – С. 6196-6200.
- 8.D'Erchia A. M. et al. Tissue-specific mtDNA abundance from exome data and its correlation with mitochondrial transcription, mass and respiratory activity // Mitochondrion. – 2015. – Т. 20. – С. 13-21.
- 9.ГОСТ 20402-2014 Колбасы вареные фаршированные. Технические условия. — М.: Стандартинформ, 2019. — 18 с
- 10.ГОСТ 23670-2019 Изделия колбасные вареные мясные. Технические условия. — М.: Стандартинформ, 2019. — 32 с
- 11.ГОСТ Р 54646-2011 Колбасы ливерные. Технические условия. — М.: Стандартинформ, 2012. — 18 с.
- 12.Klein S., Grossmann R. Cell number and sex ratio in unfertilized chicken eggs (*Gallus gallus domesticus*) //Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology. – 2008. – Т. 309. – №. 1. – С. 47-54.
- 13.Iwobi A. et al. A multiplex real-time PCR method for the quantification of beef and pork fractions in minced meat //Food chemistry. – 2015. – Т. 169. – С. 305-313.
- 14.Iwobi A. et al. A multiplex real-time PCR method for the quantitative determination of equine (horse) fractions in meat products // Food Control. – 2017. – Т. 74. – С. 89-97
- 15.Druml B. et al. A novel reference real-time PCR assay for the relative quantification of (game) meat species in raw and heat-processed food //Food Control. – 2016. – Т. 70. – С. 392-400
- 16.Laube I. et al. Development and design of a 'ready-to-use' reaction plate for a PCR-based simultaneous detection of animal species used in foods //International journal of food science & technology. – 2007. – Т. 42. – №. 1. – С. 9-17.
- 17.Amaral J. S. et al. Quantitative detection of pork meat by EvaGreen real-time PCR to assess the authenticity of processed meat products //Food Control. – 2017. – Т. 72. – С. 53-61
- 18.Sievers F., Higgins D. G. Clustal omega //Current protocols in bioinformatics. – 2014. – Т. 48. – №. 1. – С. 3.13. 1-3.13. 16.
- 19.Okonechnikov K. et al. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // Bioinformatics. – 2012. – Т. 28. – №. 8. – С. 1166-1167.
- 20.<https://eurofinsgenomics.eu/en/ecom/tools/pcr-primer-design/>
- 21.Ye J. et al. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction //BMC bioinformatics. – 2012. – Т. 13. – №. 1. – С. 134.
- 22.Visel A. et al. VISTA Enhancer Browser—a database of tissue-specific human enhancers //Nucleic acids research. – 2007. – Т. 35. – №. suppl 1. – С. D88-D92.
- 23.Madden T. The BLAST sequence analysis tool //The NCBI Handbook [Internet]. 2nd edition. – National Center for Biotechnology Information (US), 2013.
- 24.Солтынская И. В. и др. Секвенирование ДНК для определения видовой принадлежности мяса //Ветеринария. – 2018. – №. 1. – С. 55-61.
- 25.Bejerano G. et al. Ultraconserved elements in the human genome //Science. – 2004. – Т. 304. – №. 5675. – С. 1321-1325.
- 26.Venkatesh B., Yap W. H. Comparative genomics using fugu: a tool for the identification of conserved vertebrate cis-regulatory elements //Bioessays. – 2005. – Т. 27. – №. 1. – С. 100-107.
- 27.Pennacchio L. A. et al. In vivo enhancer analysis of human conserved non-coding sequences //Nature. – 2006. – Т. 444. – №. 7118. – С. 499-502.
- 28.Stults D. M. et al. Genomic architecture and inheritance of human ribosomal RNA gene clusters //Genome research. – 2008. – Т. 18. – №. 1. – С. 13-18.
- 29.Leonard J. A. et al. Animal DNA in PCR reagents plagues ancient DNA research // Journal of Archaeological Science. – 2007. – Т. 34. – №. 9. – С. 1361-1366.

УДК 57.573:636.5/.6:637.5

ВЛИЯНИЕ НОВОГО АДСОРБЕНТА МИКОТОКСИНОВ НА МЯСНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Капитонова Е.А. – к.с.-х.н., доцент УО ВГАВМ, Витебск, Беларусь

Ключевые слова: цыплят а-бройлеры, мясо, разделка тушки, бедро, грудка, крыло, каркас, печень, сердце, желудок, мышцы, кости. **Key words:** broiler chickens, meat, cutting of carcasses, hip, breast, wing, scaffold, liver, heart, stomach, muscles, bones.



РЕФЕРАТ

Обеспечение населения полноценным, легкоусвояемым, диетическим и при этом относительно дешёвым белком является главной задачей специалистов агропромышленного комплекса. Ежегодно микотоксикозы причиняют огромный экономический ущерб поголовью животноводческих объектов, подлежащих ветеринарному надзору. Целью проведения научно-исследовательской работы явилось установление влияния добавки адсорбента микотоксинов «Беласорб» на показатели мясной продуктивности цыплят-бройлеров кросса «Росс-308». Сорбционная эффективность кормовой добавки в отношении отдельных видов микотоксинов составляет: по афлатоксину – не менее 92,0 %, охратоксину – не менее 77,0 %, Т-2 токсину – 56,48 %, дезоксиниваленолу (ДОН) – не менее 64,2 %, зеараленону – 42,0 %. Производственные испытания проводили на цыплятах-бройлерах кросса «Росс-308» в условиях ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский» на производственной площадке «Дворище». Профилактика микотоксикозов обеспечила наилучшее усвоение питательных элементов комбикорма, что не только увеличило среднюю живую массу птицы при сдаче на убой, но и фактическую массу субпродуктов: печени – на 0,7-6,3 % (+ 0,4-3,8 г), сердца – на 3,2-9,5 % (+ 0,3-0,9 г) и желудка – на 13,3-23,7 % (+ 4,7-8,4 г). Увеличение выхода основных отрубов: грудки – на 0,3-1,0 %, бедра – на 0,2-0,4 % и голени в фактическом весе свидетельствовало об эффективности внедрения в АПК предлагаемой научной разработки. Оптимальная норма ввода – 2,0 кг/т. Таки образом, введение в рацион цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» с профилактической целью кормовой добавки адсорбента микотоксинов «Беласорб» способствовало раскрытию генетического потенциала кросса, повышению продуктивности бройлеров, увеличению убойной массы птицы и выхода мяса.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время гигиене производства продукции птицеводства уделяется огромное внимание, т.к. разработки в данной области влияют на продовольственную безопасность страны. Обеспечение населения полноценным, легкоусвояемым и диетическим белком является главной задачей специалистов агропромышленного комплекса. Техническое регулирование, стандартизация и управление качеством продукции птицеводства преду-

сматривает функционирование межгосударственных стандартов качества [1, 3, 5]. Ежегодно микотоксикозы причиняют огромный экономический ущерб сельскохозяйственным предприятиям. Отличительной особенностью негативного проявления микотоксикозов являются: угнетённое состояние птицы, снижение воспроизводительных показателей и синдром внезапной смерти, что приводит к недополучению продукции птицеводства [2, 4]. Нами были разработана, испытана и за-

патентована кормовая добавка «Беласорб» на основе трепела, который добывается в месторождении «Стальное» (Республика Беларусь). Цеолит обладает явными сорбционными и ионообменными свойствами, имеет кристаллическую решётку и высокое содержание кальция.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью проведения научно-исследовательской работы явилось установление влияния добавки адсорбента микотоксинов «Беласорб» на показатели мясной продуктивности цыплят-бройлеров кросса «Росс-308».

Научно-исследовательская работа проводилась по теме: «Адсорбент микотоксинов «Беласорб» в кормлении сельскохозяйственных животных». Сорбционная эффективность кормовой добавки в отношении отдельных видов микотоксинов составляет: по афлатоксину – не менее 92,0 %, ократоксину – не менее 77,0 %, Т-2 токсину – 56,48 %, дезоксиниваленолу (ДОН) – не менее 64,2 %, зеараленону – 42,0 %. Производственные испытания проводили в условиях ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский» на производственной площадке «Дворище» (41 день). Добавка кормовая адсорбент микотоксинов «Беласорб» задавалась согласно схеме опыта, которая представлена в таблице 1. Нами были использованы комбикорма, которые по питательности соответствовали требованиям ТНПА, о чём свидетельствует декларация ВУ/112 11.01. ТР 025 005 04493 от 16.10.2017.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании проведённых исследований после обработки исходных данных были получены результаты влияния «Беласорб» на качество мяса цыплят-бройлеров кросса «Росс-308». Методом

случайной выборки, из разных мест птичника (вначале, середине и конце), нами было отобрано по 10 особей птицы разного пола. Полученные результаты распространялись на всё поголовье.

Результаты разделки тушек подопытных цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» приведены в таблице 2.

Из таблицы 2 следует, что по выходу всех отрубов и по выходу субпродуктов наилучшими показателями обладали образцы, полученные от птиц 3-й и 4-й групп. Массовая доля грудки в 3-й группе была на 1,0 % (+81,0 г) выше контроля, а в 4-й группе – на 0,9 % (+46,6 г). Массовая доля бедра в 3-й опытной группе была на 0,4 % (+34,9 г) больше, чем в 1-й контрольной группе, а в 4-й опытной группе – на 0,3 % (+18,7 г). Уровень контролируемых показателей продуктивности цыплят 2-й опытной группы вырос незначительно – 15,9 % от массы тушки, что на 0,2 % (+18,7 г) было лучше, чем в контрольной группе.

Массовая доля субпродуктов находилась практически на одном уровне – 6,99-7,04 % от массы бройлеров в убойном возрасте. Однако за счёт высокой живой массы опытной птицы, их выход в 3-й опытной группе был максимальным – 7,04 %, что составило 179,5 г и было больше, чем в контроле на 10,3 % (+16,8 г).

Результаты качественных показателей, полученные от подопытных цыплят-бройлеров кросса «Росс-308», приведены в таблице 3.

Из представленных в таблице 3 показателей видно, что применение с целью профилактики микотоксикозов у цыплят-бройлеров кормовой добавки-сорбента «Беласорб» способствовало повышению выхода продукции птицеводства. Максимальный выход мышечной ткани, как в

Таблица 1

Схема производственного опыта

№ птичника	Количество голов	Особенности кормления птицы
№ 105 (контроль)	84760	Основной рацион (ОР)
№ 106 (опыт)	85500	ОР + 1,0 кг/т «Беласорб»
№ 104 (опыт)	71400	ОР + 2,0 кг/т «Беласорб»
№ 108 (опыт)	74400	ОР + 3,0 кг/т «Беласорб»

Таблица 2

Результаты разделки тушек, (M+m; n= ♂-5 + ♀-5)

Показатели	Птичники			
	№ 105	№ 106	№ 104	№ 108
Грудка, г / %	600,4±9,75 / 35,5	639,9±9,26 / 35,8	681,0**± 7,58 / 36,5	646,6±7,85 / 36,4
Бедро, г / %	265,5±5,47 / 15,7	284,2±5,12 / 15,9	300,4**± 4,64 / 16,1	284,2±4,52 / 16,0
Голень, г / %	240,2±4,63 / 14,2	253,8±4,52 / 14,2	264,9*± 4,35 / 14,2	252,2±4,42 / 14,2
Крыло, г / %	199,6±3,67 / 11,8	205,5±3,65 / 11,5	207,1*±3,15 / 11,1	198,9±3,16 / 11,2
Каркас, г / %	346,7±7,85 / 20,5	346,6±7,26 / 20,4	375,1*±6,74 / 20,1	357,1±6,83 / 20,1
Кожа шеи, г / %	38,9±5,73 / 2,3	39,3±5,77 / 2,2	37,3±5,25 / 2,0	37,3±5,33 / 2,1
Выход субпро-дуктов, г / %	162,7± 4,63 / 6,99	171,8±3,78 / 7,01	179,5±3,69 / 7,04	170,9±3,88 / 7,04
Печень, г / %	60,5±3,57 / 2,60	62,4±3,55 / 2,54	64,3±3,41 / 2,52	60,9±3,44 / 2,51
Сердце, г / %	9,5±2,43 / 0,41	9,8±2,45 / 0,40	10,4±2,11 / 0,41	9,9±2,12 / 0,41
Желудок, г / %	35,4±3,45 / 1,52	40,1±3,22 / 1,63	43,8*±3,20 / 1,72	41,2±3,21 / 0,70
Шея, г / %	50,1±3,46 / 2,15	52,1±3,52 / 2,12	53,8±3,45 / 2,11	51,7±3,45 / 2,13
Внутренний жир, г / %	7,2±2,24 / 0,31	7,3±2,35 / 0,30	7,1±1,97 / 0,28	7,0±1,88 / 0,29
Примечание: * - P≤0,05; ** - P≤0,01				

массовой доле, так и в весовом эквиваленте, был отмечен у птиц 3-й опытной группы – на 0,83 % (125,9 г), по сравнению с контрольными показателями. Выход мякоти, также был наивысшим у тушек, полученных от бройлеров, выращиваемых в 3-й опытной группе. Так, массовая доля мякотной ткани составила 75,25 %, что было на 0,71 % (+143,4 г) больше, чем от тушек птиц, выращиваемых в 1-й контрольной группе.

Массовая доля выхода костной ткани в 3-й опытной группе составила 24,75 % и была – на 0,71 % меньше, чем в контроле. Однако, в фактическом весе за счет высокой живой массы бройлеров в убойном возрасте она была больше – на 7,2 % (+31,2 г).

Кормовая добавка «Беласорб» способствовала увеличению основных отрубов

цыплят-бройлеров кросса «Росс-308»: грудки – на 0,3-1,0 % и бедра – на 0,2-0,4 % и голени в фактическом весе. Профилактика микотоксикозов содействовала наилучшему усвоению питательных элементов комбикорма, что не только увеличило среднюю живую массу птицы, но и фактическую массу субпродуктов: печени – на 0,7-6,3 % (+ 0,4-3,8 г), сердца – на 3,2-9,5 % (+ 0,3-0,9 г) и желудка – на 13,3-23,7 % (+ 4,7-8,4 г).

ВЫВОДЫ

Результаты исследований по изучению действия нового сорбента «Беласорб» в качестве профилактического средства при микотоксикозах, а также изучение его влияния на увеличение выхода продукции птицеводства показали, что оптимальной нормой ввода кормовой

Таблица 3

Качественные показатели тушек, (M+m; n= ♂-5 + ♀-5)

Показатели	Птичники			
	№ 105	№ 106	№ 104	№ 108
Масса мышц, г / %	1070,1±5,48 / 63,27	1144,5±5,46 / 64,02	1196,0***± 4,75 / 64,10	1138,1±4,66 / 64,07
Масса жира, г / %	73,1±2,46 / 4,32	76,5±2,45 / 4,28	78,7±2,13 / 4,22	75,1±2,11 / 4,23
Масса кожи, г / %	117,5±2,68 / 6,95	124,1±2,48 / 6,94	129,3*±2,38 / 6,93	123,1±2,37 / 6,93
Масса мякоти, г / %	1260,6±6,37 / 74,54	1345,1±5,85 / 75,24	1404,0***± 4,88 / 75,25	1336,3±4,81 / 75,23
Масса костей, г / %	430,6±4,74 / 25,46	442,6±4,55 / 24,76	461,8**± 4,29 / 24,75	439,9±4,37 / 24,77
Примечание: * - P≤0,05; ** - P≤0,01				

добавки для цыплят-бройлеров является – 2,0 кг/т комбикорма. Введение в рацион цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» кормовой добавки адсорбента микотоксинов способствовало повышению продуктивности бройлеров, увеличению убойной массы птицы и выходу мяса.

THE INFLUENCE OF A NEW ADSORBENT OF MYCOTOXINS ON THE MEAT PERFORMANCE OF CHICKEN BROILERS

Капитонова Е.А. – PhD in Agricultural Sciences, Associate Professor (Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus).

ABSTRACT

Providing the population with a full-value, easily digestible, dietary and at the same time relatively cheap protein is the main task of specialists of the agro-industrial complex. Annually mycotoxicoses cause huge economic damage to livestock facilities of veterinary inspection. We have developed, tested and patented a new feed additive based on tripoli. The purpose of the research work was to establish the effect of the addition of mycotoxin adsorbent «Belasorb» on the meat productivity of «Ross-308» broiler chickens. The sorption efficiency of the feed additive against certain types of mycotoxins is: aflatoxin – at least 92.0 %, ochratoxin – at least 77.0 %, T-2 toxin – 56.48 %, deoxynivalenol (DON) – at least 64.2 %, zearalenone – 42.0 %. Production

tests were carried out on broiler chickens of the «Ross-308» cross in the conditions of OAO «Agrokombinat «Dzerzhinskiy» at the production site «Dvorishche». Mycotoxicoses prevention contributed to the best absorption of the feed nutrients which not only increased the poultry average live weight but also the offal actual weight: liver – by 0.7-6.3 % (+ 0.4-3.8 g), heart – by 3.2-9.5 % (+ 0.3-0.9 g) and stomach – by 13.3-23.7 % (+ 4.7-8.4 g). The increase in the output of the main anatomical cuts: breasts – by 0.3-1.0 %, thighs – by 0.2-0.4 % and drumstick in actual weight, indicates the effectiveness of the implementation of the proposed scientific development in the agro-industrial complex. The optimal input rate is 2.0 kg/t. Introduction of «Ross-308» cross-country broiler chickens into the diet for the prophylactic purpose of the fodder additive of mycotoxin adsorbent «Belasorb» contributed to the disclosure of the genetic potential of cross-country, increased productivity of broilers, increased killing mass of poultry and meat yield.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гласкович, М.А. Анализ повышения эффективности использования кормовой базы на птицефабриках Республики Беларусь / М.А. Гласкович, Е.А. Капитонова. – Ученые Записки УО ВГАВМ, 2011. – Т. 47. - № 1. – С. 333-335.
2. Капитонова, Е. А. Профилактика действия микотоксинов в растительных кор-

мах / Е. А. Капитонова, А. А. Гласкович, С. В. Абраскова. – Материалы Международной научно-практической конференции «Земледелие, растениеводство, селекция: настоящее и будущее». – Жодино: РУП «НПЦ НАН Беларуси по растениеводству», 2012. – С. 302-305.

3. Методика проведения анатомической разделки тушек, органолептической оценки качества мяса и яиц сельскохозяйственной птицы и морфологии яиц / Под общ. ред. В.С. Лукашенко. – Лукашенко В.С. [и др.] // Сергиев Посад : ФГБНУ ВНИТИП, 2013. – 36 с.

4. Оперативный контроль и коррекция кормления высокопродуктивной птицы:

учебное пособие / Подобед Л. И. [и др.]. – СПб: ФГБОУ ВО СПбГУВМ, 2020. – 419 с.

5. Санитарно-гигиеническое значение бактерий и плесневых грибов в изменении качества кормов : учебно-методическое пособие / С. В. Абраскова [и др.]. – Витебск, 2012. – 32 с.

6. Опыт корректировки рационов цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик республики Беларусь / М.А. Гласкович, Л.Ю. Карпенко, А.Б. Балькина [и др.]. – Научно-производственный журнал «Международный вестник ветеринарии». – ФГБОУ ВПО СПбГАВМ, 2018. – № 1 – С. 33-40.

УДК 636.5.082.474:591.3

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЙ ОСМОТР ПРОДУКТОВ УБОЯ ЦЕСАРОК И ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПОЛНОЦЕННОСТИ ИХ МЯСА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОСТИМУЛЯТОРОВ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

И.С. Луговая-к.б.н., соискатель, Т.О. Азарнова- д.б.н., проф., Ю.В. Петрова- к.б.н., доц., М.С. Найденский- д.с.-х.н., проф., А.А. Антипов- к.в.н., доцент, М.С. Царькова- проф., д.х.н. ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

Ключевые слова: цесарки, биостимуляторы, биологическая полноценность мяса. **Key words:** guinea fowl, biostimulants, biological usefulness of meat.

РЕФЕРАТ



В условиях интенсивно развивающегося птицеводства цесарководство становится интересным и актуальным для развития направлением производства. Все большее количество людей интересуется диетическим мясом и показатели биологической полноценности и безопасности являются немаловажным фактором в данном вопросе. Поэтому при использовании новых пре-

паратов, добавок и иных средств при выращивании птицы необходимо понимание влияния их на биологическую полноценность мяса. Изученный ранее эффективный способ снижения отходов инкубации при использовании биостимуляторов в эмбриогенезе способствовал увеличению количества кондиционного молодняка, однако проведение исследования полноценности полученной продукции при использовании трансвариальной обработки яиц будет являться важным аспектом при реализации мяса цесарок. Ветеринарно-санитарный осмотр продуктов убоя цесарок и определение биологической полноценности их мяса при использовании биостимуляторов в эмбриогенезе был осуществлен по общепринятым методикам. В ходе исследований было установлено, что полученное мясо является доброкачественным и биологически полноценным, в связи с чем может быть реализовано без ограничений.

ВВЕДЕНИЕ

Цесарководство как направление производства диетического мяса в нашей стране является относительно новым, но развивающимся направлением. Как и при выращивании других видов сельскохозяйственных птиц перед цесарководством стоят аналогичные задачи роста производственных показателей, в частности вывода кондиционного молодняка в инкубатории (Потаев В.С., 2009; Сурай П.Ф., 2010). Подобного результата мож-

но достигнуть при использовании технологичных, безопасных и высокоэффективных инновационных способов, в частности, путем применения биостимуляторов, ранее доказавших свою высокую результативность (Луговая И.С., 2020). Однако интересным является вопрос биологической полноценности мяса птицы, полученной из яиц, обработанных растворами биостимуляторов- коламина, янтарной кислоты, серина и пиридоксина гидрохлорида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в условиях цесарководческого хозяйства «Самсон ферма», выращенные цесарки подвергались убою в возрасте 90 дней и исследовались по общепринятым методам. При определении показателей безопасности использовали ГОСТ Р 51944-2002, ГОСТ 31470-2012, ГОСТ Р 51478-99 (ИСО 2917-74), ГОСТ 21237-75.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные для исследования тушки цесарок имели хорошую степень обескровливания, без перьев и пеньков, покровы тушек чистые, кожа имеет определённую целостность, без разрывов. Отсутствуют кровяные сгустки и патологоанатомические изменения.

При осмотре тушек цесарок обращали внимание на их форму, упитанность, степень обескровливания, изменение формы суставов, чистоту, цвет, целостность кожи, а также наличие травм, новообразований, воспалённых участков. При осмотре грудобрюшной полости тушки определяли состояние серозных оболочек, присутствие на них кровоизлияний, фибриновых наложений, новообразований.

Цвет мышц розово-красный, на фильтровальной бумаге, приложенной к разрезу, не остается влажного пятна; цвет жира

от светло - желтого до желтого. Органолептические исследования мяса цесарок показывают, что поверхность тушек сухая, ярко-желтого цвета с розово-красным оттенком; подкожная и внутренняя жировая ткань бледно-желтого цвета; серозные оболочки грудобрюшной полости влажные, блестящие, без патологических образований. Мышцы на разрезе слегка влажные, красно-розового цвета; по консистенции плотные, упругие, при надавливании пальцем образующаяся ямка выравнивается в течение 3-8 секунд. Запах мяса всех тушек специфический, свойственный свежему мясу птицы, посторонних запахов в мясе не установлено. Результаты исследований комплексных физико-химических показателей мяса индек представлены в таблице 1.

Как следует из таблицы 1, величина рН в вытяжке из созревшего мяса индек (через 24 часа после уоя) не превышала 6,24 (белые мышцы) и 6,16 (красные мышцы). Это характерно для мяса, правильно созревшего. Количественное содержание летучих жирных кислот варьировало от 0,42 до 0,54 мг КОН в белых мышцах и 0,70-0,82 мг КОН в красных мышцах. В пределах нормы находилось количество аминокислотного азота у цесарок. Продуктов первичного распада

Таблица 1
Физико-химические показатели мяса индек, n=5

Показатели	тушки		
		Контроль	Опыт
рН	Белые мышцы	6,22±0,04	6,24±0,04
	Красные мышцы	6,14±0,02	6,16±0,04
Реакция на пероксидазу	Белые мышцы	Положит.	Положит.
	Красные мышцы	Положит.	Положит.
Проба на первичные продукты распада белка в бульоне (р-ция с CuSO ₄)	Белые мышцы	Отрицат.	Отрицат.
	Красные мышцы	Отрицат.	Отрицат.
Количество ЛЖК (мг КОН)	Белые мышцы	0,42±0,02	0,54±0,02
	Красные мышцы	0,70±0,03	0,82±0,04
Количество аминокислотного азота (%)	Белые мышцы	1,16±0,02	1,04±0,04
	Красные мышцы	1,15±0,04	1,12±0,04
Реакция с реактивом Несслера	Белые мышцы	Отрицат.	Отрицат.
	Красные мышцы	Отрицат.	Отрицат.

Таблица 2

Результаты микробиологического мышц цесарок, n=5

Наименование показателя	Образцы мяса и органов (красное; белое мясо)		Норма по НД
	цесарки		
	Контроль	Опыт	
КМАФаНМ, КОЕ/г	0,4x10 ²	1,2x10 ²	1,0x10 ⁴
БГКП (колиформы) в 0,001 г	Не обнаружено	Не обнаружено	Не допускается
Патогенные м/о, в т.ч. <i>Salmonella</i> , в 25 г	Не обнаружено	Не обнаружено	Не допускается
<i>Listeria Monocytogenes</i> , в 25 г	Не обнаружено	Не обнаружено	Не допускается

Таблица 3

Химический состав мяса цесарок, n=5

Показатель	цесарки	
	Контроль	Опыт
Влага, %	70,2±1,66	71,1±1,96
Белок, %	19,2±0,58	19,6±0,93
Жир, %	8,2±0,37	7,9±0,46
Зола, %	1,27±0,03	1,4±0,03

белков, согласно реакции с CuSO_4 в бульоне из мяса цесарок не обнаружено. Фермент пероксидаза во всех пробах мяса был активный, о чем свидетельствуют результаты бензидиновой пробы, которые во всех исследованных тушках положительные. Это указывает что мясо получено от здоровых цесарок и все технологические процессы убоя проведены правильно.

Во всех экспериментальных пробах мяса не обнаружили аммиака и солей аммония (по результатам реакции с реактивом Несслера).

Для оценки продуктов цесарок в ветеринарно-санитарном отношении проведено исследование и мышц, сутки, т.е. созревания мяса. Микробная тканей от здоровья и и соблюдения ветеринарно-санитарных при переработке, и хранении продукции. цесарок исследовали соответствие «Обеспечение пищевой продукции требованиям безопасности» (ТР 021/2011) по показателям.

При микроскопии мазков-отпечатков глубоких бедренных и мышц были в случаях и палочковидные микроорганизмы всех группах. распада обнаружено было.

В результате микробиологических исследований красных и мышц цесарок (таблица 2) установлено, что мясо получено от здоровой птицы и патогенной микрофлоры не обнаружено.

Потребительские свойства любого продукта определяется его качеством, а показатели качества зависят от химического состава продукта. Был определен химический состав мяса исследуемых цесарок. В мышцах определяли содержание влаги, белка, жира и золы.

На основании полученных результатов можно заключить, что мышечная ткань цесарок обладает хорошим качеством, в мясе цесарок преобладает содержание белка, при низком содержании жира. Малое содержание жира является одним из отличительных признаков, влияющих на цвет, консистенцию и вкусовые качества мяса цесарок. Можно считать, что мясо цесарок обладает диетическими свойствами и подходит для питания детей, беременных женщин, пожилых людей и служит хорошим источником белка.

Низкий процент жира в мышцах исследуемых цесарок может свидетельствовать

Таблица 4

Аминокислотный состав мяса цесарок, n=5

Показатели	Контроль		Опыт	
	Грудная мышца	Бедренная мышца	Грудная мышца	Бедренная мышца
Незаменимые аминокислоты				
Сумма	37,17±0,08	37,21±0,07	37,42±0,16	37,43±0,16
Валин	4,65±0,04	4,63±0,05	4,51±0,05	4,62±0,06
Изолейцин	4,32±0,07	4,34±0,05	4,45±0,09	4,44±0,07
Лейцин	8,31±0,08	8,29±0,04	8,26±0,06	8,27±0,07
Лизин	7,19±0,06	7,16±0,07	7,19±0,03	7,20±0,03
Метионин	2,52±0,04	2,33±0,07	2,51±0,03	2,30±0,05
Треонин	4,34±0,06	4,43±0,04	4,38±0,04	4,35±0,07
Триптофан	1,95±0,02	1,94±0,02	2,15±0,05	2,21±0,06
Фенилаланин	3,89±0,03	4,19±0,03	3,97±0,04	4,04±0,05
Заменимые аминокислоты				
Сумма	44,86±0,13	45,96±0,08	44,82±0,07	45,59±0,03
Аланин	5,40±0,07	5,42±0,06	5,45±0,05	5,39±0,06
Аргинин	5,39±0,06	6,59±0,03	5,41±0,06	6,30±0,07
Аспарагиновая кислота	7,81±0,07	7,57±0,05	7,80±0,07	7,59±0,06
Гистидин	1,60±0,03	1,55±0,03	1,56±0,02	1,60±0,03
Глицин	7,59±0,06	7,56±0,05	7,53±0,05	7,50±0,04
Глутаминовая кислота	16,42±0,03	16,62±0,09	16,45±0,04	16,58±0,09
Оксипролин	0,65±0,05	0,65±0,05	0,62±0,05	0,63±0,02
Триптофан/оксипролин	3±0,07	2,98±0,08	3,47±0,08	3,51±0,06

о достаточно высоких диетических качествах мяса. Определение аминокислотного состава показало, что наибольший удельный вес приходится на заменимые аминокислоты, и в частности, глутаминовую, аспарагиновую и глицин. Среди незаменимых аминокислот больше содержится лизина и лейцина. Различия между грудными и бедренными мышцами цесарок выявлены в отношении незаменимой аминокислоты метионина и заменимых аминокислот аргинина и аспарагиновой кислоты.

ВЫВОДЫ

Результаты определения аминокислотного состава грудных и бедренных мышц исследуемых цесарок показало, что наибольший удельный вес приходится на заменимые аминокислоты и, в частности (г/100 г белка): глутаминовую 16,42–16,62, аспарагиновую кислоту (в грудных мышцах 7,78–7,81, в бедренных мышцах

7,57–7,59 и глицин 7,53–7,59. Среди незаменимых аминокислот в большем количестве содержится лизина 7,16–7,20 и лейцина 8,27–8,31. Различия между грудными и бедренными мышцами цесарок выявлены в отношении незаменимой аминокислоты метионина и заменимых аминокислот аргинина и аспарагиновой кислоты. В грудных мышцах содержится значительно больше метионина (на 0,19–0,20 г/100 г) и аспарагиновой кислоты (на 0,19–0,24 г/100 г) по сравнению с бедренными.

Таким образом, как в опытной, так и контрольной группах мясо цесарок является биологически полноценным, безопасным для употребления и может быть реализовано без ограничений.

Veterinary and sanitary inspection of guinea fowl slaughter products and determination of the biological value of their meat when using biostimulants in embry-

ogenesis. Lugovaya I.S. - candidate of biological sciences, applicant, Azarnova T.O. - Doctor of Biological Sciences, Professor, Petrova Yu.V.- Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Naydensky M.S. - Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Antipov A.A. - Ph.D., Associate Professor, M.S. Tsarkov - professor, doctor of chemical sciences. FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin "

ABSTRACT

In the conditions of intensively developing poultry farming, guinea fowl breeding becomes an interesting and relevant direction for the development of production. An increasing number of people are interested in dietary meat and indicators of biological usefulness and safety are an important factor in this matter. Therefore, when using new drugs, additives and other means for growing poultry, it is necessary to understand their influence on the biological value of meat. The previously studied effective method of reducing incubation waste, when using biostimulants in embryogenesis, contributed to an increase in the number of young animals in normal condition. However, the study of the usefulness of the resulting products, when using transovarial egg processing, will be an important aspect when selling guinea fowl meat. The veterinary and sanitary examination of the products of slaughter of guinea fowls and the determination of the biological value of their meat

using biostimulants in embryogenesis was carried out according to generally accepted methods. During the research, it was found that the meat obtained is of good quality and biologically complete, and therefore can be sold without restrictions.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Потаев, В.С. Организация производства на предприятиях АПК (учебное пособие) / В.С. Потаев.- Улан-Удэ: Издательство БГСХА им. В.Р. Филиппова, 2009.- С. 4-10, 23-27.
- 2.Сурай, П.Ф. Стрессы в птицеводстве: от понимания механизмов развития к разработке методов защиты / Сурай П.Ф., Бородай В.П. // Сучасне птахівництво.- 2010.- № 7.- С. 31-36.
- 3.Луговая, И.С. Увеличение количества кондиционного молодняка цесарок при использовании биостимуляторов перед инкубацией / Луговая И.С. // Международный вестник ветеринарии.- 2020.- № 4- С. 57-62.
- 4.«Обеспечение пищевой продукции требованиям безопасности» (ТР 021/2011)
- 5.ГОСТ Р 51944-2002 «Мясо птицы. Методы определения органолептических показателей, температуры и массы»
- 6.ГОСТ 31470-2012 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы органолептических и физико-химических исследований»
- 7.ГОСТ Р 51478-99 (ИСО 2917-74) «Мясо и мясные продукты. Контрольный метод определения концентрации водородных ионов (pH)»

УДК: 619:614.48

ИЗУЧЕНИЕ МИКОБАКТЕРИЦИДНОГО И ТУБЕРКУЛОЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОЙ БИОЦИДНОЙ КОМПОЗИЦИИ

Аржаков П.В. - к. б. н, вед. науч. сотр, Денгис Н.А. - к. б. н, ст. науч. сотр.
ФГБНУ «Омский аграрный научный центр»

Ключевые слова: микобактерии, дезинфекция, ветеринарно-санитарные мероприятия, туберкулоцидная и микобактерицидная активность, антимикробные свойства.

Keywords: mycobacteria, disinfection, veterinary and sanitary measures, tuberculocidal and mycobactericidal activity, antimicrobial properties.

РЕФЕРАТ

Туберкулез, как зооантропонозное заболевание, во многих странах мира и Российской Федерации до настоящего времени остается одной из наиболее сложных проблем инфекционной патологии, при этом против туберкулеза и микобактериозов нет достаточно эффективных средств иммунопрофилактики и иммунотерапии.

Объекты внешней среды в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах контаминированы как патогенными, так и атипичными микобактериями, наличием в составе их клеточной стенке восков, миколовых кислот и полисахаридов определяется устойчивость ко многим физическим и химическим факторам, микобактерии устойчивы ко многим кислотам, щелочам, спиртам, а также не чувствительны к четвертичным аммониевым соединениям, которые присутствуют во многих дезинфицирующих препаратах.

Целью наших исследований явилось изучение дезинфицирующего действия новой биоцидной композиции в отношении различных видов микобактерий.

В качестве нового препарата использовали композицию представляющую собой комплекс химических веществ, состоящий из моющих компонентов и активно действующих веществ обладающих биоцидным действием, в химическую формулу препарата был введен компонент из группы окислителей, который обладает высоким бактерицидным действием и неионогенные поверхностно активные вещества, которые проявляют хорошие эмульгирующие свойства, то есть, способствует смешиванию веществ, несмешиваемых в обычных условиях и при этом не являются высокотоксичными соединениями, для уменьшения коррозионного действия был добавлен антифризный компонент.

В качестве тест-культур использовали референтные штаммы атипичных (*M. phlei*, *M. scrofulaceum*) и типичных *M. bovis* шт. 14 микобактерий.

Анализ полученных результатов, показал, что как типичные так и атипичные культуры микобактерий обладают высокой чувствительностью к новому комплексному биоциду в сравнении с другим традиционно применяемым препаратом, который в концентрации и экспозиции заявленной в инструкции по его применению не обладал ни микобактерицидным ни туберкулоцидным действиями.

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез, как зооантропонозное заболевание, во многих странах мира и Российской Федерации до настоящего времени остается одной из наиболее сложных проблем инфекционной патологии, при этом против туберкулеза и микобактериозов нет достаточно эффективных средств иммуно-

профилактики и иммунотерапии [2,3].

Эпизоотическую обстановку по туберкулезу осложняет проявление так называемой неспецифической (парааллергической) реактивности крупного рогатого скота к туберкулину, обуславливающей неясность эпизоотической ситуации, необоснованный убой продуктивных животных,

потерю продукции и приплода, ограничение племенной работы, а также дополнительные затраты на дифференциальную диагностику [1,4].

Объекты внешней среды в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах контаминированы как патогенными, так и атипичными микобактериями, наличием в составе их клеточной стенке восков, миколовых кислот и полисахаридов определяется устойчивость ко многим физическим и химическим факторам, микобактерии устойчивы ко многим кислотам, щелочам, спиртам, а также не чувствительны к четвертичным аммониевым соединениям, которые присутствуют во многих дезинфицирующих препаратах [5].

На основании вышеизложенного нами был разработан новый биоцидный препарат, представляющий собой комплекс химических веществ, состоящий из моющих компонентов и активно действующих веществ обладающих биоцидным действием, в химическую формулу препарата был введен компонент из группы окислителей, который обладает высоким бактерицидным действием и неионогенные поверхностно активные вещества, которые проявляют хорошие эмульгирующие свойства, то есть, способствует смешиванию веществ, несмешиваемых в обычных условиях и при этом не являются высокотоксичными соединениями, для уменьшения коррозионного действия был добавлен антифризный компонент.

Таким образом, целью наших исследований явилось изучение дезинфицирующего действия новой биоцидной композиции в отношении различных видов микобактерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве нового препарата использовали композицию, представляющую собой комплексное соединение, состоящее из поверхностно активных веществ и активно действующих компонентов (биоцидов), в опытах использовали для определения бактерицидных свойств в отношении микобактерий 3%-ную концентрацию и 45, 60, 90 и 120 минутные экспозиции, новой композиции, в каче-

стве сравниваемых препаратов использовали дезинфектанты из разных групп согласно инструкциям по их применению.

Испытуемые препараты по параметрам острой токсичности по классификации ГОСТ 12.1.007-76 относятся к 3 классу умеренно опасных веществ при введении в желудок и к 4 классу мало опасных веществ при нанесении на кожу; средства малотоксичны (4 класс опасности) при парентеральном введении. Пары средств при ингаляционном воздействии мало опасны (4 класс по степени летучести).

В качестве тест-культур использовали референтные штаммы атипичных (*M. phlei*, *M. scrofulaceum*) и типичных *M. bovis* шт. 14 микобактерий находящихся в биоресурсной коллекции ФГБНУ «Омский аграрный научный центр». Эксперименты проводили *in vitro*, методом обеззараживания батистовых тест-объектов, который включает в себя:

1. контаминацию стерильных батистовых тест-объектов 10 мл рабочей суспензии тест-микобактерий, содержащей 109 КОЕ/мл.

2. обработка тест-объектов методом погружения в испытуемый дезраствор нужной концентрации и экспозиции.

3. промывание тест-объектов в стерильном 0,9%-ном изотоническом растворе NaCl.

4. посев на селективную питательную среду Левенштейна –Йенсена с дальнейшей инкубацией в термостате при 37 °С. Оценку результатов осуществляли через 14-30 дней с каждодневным просмотром.

В качестве контроля служили тест-объекты, обработанные стерильным изотоническим раствором NaCl. Исследования проводили согласно методам лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности Р 4.2.2643—10 (2010г) и методам изучения и оценки туберкулоцидной активности дезинфицирующих средств МУ 3.5.2596 - 10 (2010г).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ полученных результатов, представленных в таблице 1, показал, что как атипичные так и типичные виды микобак-

Таблица 1.
Результаты обеззараживающего действия нового препарата в сравнение с традиционно применяемыми препаратами в отношении типичных и атипичных микробактерий

Концентрация рабочих растворов по препарату в %	Экспозиция (минуты)			
	45	60	90	120
M. phlei				
Препарат №1 (четвертичные аммониевые соединения +альдегиды)				
3	+	+	+	+
Препарат №2 (четвертичные аммониевые соединения +альдегиды + окислительный компонент + антифризный компонент)				
3	+	+	+	-
Препарат №3 (натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты)				
0,3	-	-	-	-
M. scrofulaceum				
Препарат №1 (четвертичные аммониевые соединения +альдегиды)				
3	+	+	+	+
Препарат №2 (четвертичные аммониевые соединения +альдегиды + окислительный компонент + антифризный компонент)				
3	+	+	+	-
Препарат №3 (натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты)				
0,3	-	-	-	-
M. bovis шт. 14				
Препарат №1 (четвертичные аммониевые соединения +альдегиды)				
3	+	+	+	+
Препарат №2 (четвертичные аммониевые соединения +альдегиды + окислительный компонент + антифризный компонент)				
3	+	+	+	-
Препарат №3 (натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты)				
0,3	+	-	-	-
Контроль NaCl 0,9%	+	+	+	+

Примечание: (+) – результат положительный (рост культур, концентрация и экспозиция не эффективны), (-) – результат отрицательный (нет роста культур, концентрация и экспозиция обладают дезинфицирующим действием).

терий обладают высокой чувствительностью к новому комплексному (препарат №2) и хлорсодержащему неорганическому биоцидам (препарат №3). Микобактерицидное действие нового биоцида (препарат №2) в отношении атипичных (*M. phlei*, *M. scrofulaceum*) и туберкулоцидное в отношении *M. bovis* шт. 14 отмечено в 3%-ной концентрации при 120 минутной экспозиции, к препарату №1 все тест-культуры микобактерий чувствительности не проявляли. Препарат №3 эффективно действовал при 60 минутной экспозиции и 0,3%-ной концентрации.

ВЫВОДЫ

Анализ полученных результатов, показал, что как типичные так и атипичные культуры микобактерий обладают высокой чувствительностью к новому комплексному биоциду в сравнении с другими традиционно применяемым препаратом, который в концентрации и экспозиции заявленной в инструкции по его применению не обладал ни микобактерицидным ни туберкулоцидным действиями.

По результатам производственных испытаний будут разработаны методические положения по влажной дезинфекции и мойки животноводческих помещений, инвентаря, технологического оборудования, спецодежды и автотранспорта.

Study of the mycobactericidal and tuberculocidal effects of the new biocidal composition Arzhakov P.V. - Cand. Sc. (Biol.), leading research fellow, Dengis N.A. - Cand. Sc. (Biol.), senior research fellow. Federal State Budgetary Scientific Institution «Omsk Agrarian Scientific Center»
ABSTRACT

Tuberculosis, as a zoonoanthropotic disease, in many countries of the world and the Russian Federation to this day remains one of the most difficult problems of infectious pathology, while against tuberculosis and mycobacteriosis there are no sufficiently effective means of immunoprophylaxis and immunotherapy.

Objects of the external environment in farms unfavorable for tuberculosis are contaminated with both pathogenic and atypical mycobacteria, the presence of waxes, mycolic acids and polysaccharides in their cell wall

determines their resistance to many physical and chemical factors, mycobacteria are resistant to many acids, alkalis, alcohols, and not sensitive to quaternary ammonium compounds, which are present in many disinfectants.

The purpose of our research was to study the disinfecting effect of the new biocidal composition against various types of mycobacteria.

As a new drug, a composition was used, which is a complex of chemical substances, consisting of detergents and active substances with a biocidal effect, a component from the group of oxidizing agents was introduced into the chemical formula of the drug, which has a high bactericidal effect and nonionic surfactants that exhibit good emulsifying properties, that is, it promotes mixing of substances that are immiscible under normal conditions and at the same time are not highly toxic compounds, an antifreeze component was added to reduce the corrosive effect.

Reference strains of atypical (*M. phlei*, *M. scrofulaceum*) and typical *M. bovis* pcs 14.

The analysis of the results obtained showed that both typical and atypical cultures of mycobacteria are highly sensitive to a new complex biocide in comparison with another traditionally used drug, which in the concentration and exposure stated in the instructions for its use did not have either mycobactericidal or tuberculocidal effects.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммунологическая и морфологическая оценка иммуномодулирующего действия КИМ-М2 у животных, инфицированных микобактериями /Е.А. Гуляева, В.С. Власенко, В.В. Семченко [и др.]. – Текст: непосредственный // Достижения науки и техники АПК. - 2015. - Т. 29, № 4. - С. 72-74.

2. Оценка иммуногенных свойств противотуберкулезного препарата у лабораторных животных и крупного рогатого скота/ М.А. Бажин, В.С. Власенко, Г.П. Неворова [и др.] –Текст: непосредственный // Вестник Омского государственного аграрного университета. - 2016.- № 2 (22). - С. 147-152.

3. Проблемы туберкулеза сельскохозяйственных животных - пути решения /Г.М. Дюсенова, Н.С. Боганец, Е.С. Борисов –

Текст: непосредственный // Состояние и перспективы научного обеспечения АПК Сибири: материалы научно-практической конференции, посвященная 190-летию опытного дела в Сибири, 100-летию сельскохозяйственной науки в Омском Прииртышье и 85-летию образования Сибирского НИИ сельского хозяйства. Ответ. за вып.: В.С. Бойко. – Омск, 2018. – С. 43-46.
4. О роли диких, синантропных и мелких домашних животных в резервации и распространении микобактерий туберкуле-

за / В.Г. Ощепков, В.Ф. Бордюг, Н.Н. Кошечев [и др.]. – Текст: непосредственный // Достижения науки и техники АПК.- 2012. -№ 2.- С. 74-76.

5. Изучение устойчивости бактерий к действию биоцидов из различных химических классов /П.В. Аржаков, Т.С. Дудолова, А.С. Кисиль [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2019. - № 1. - С. 36-37.

УДК: 619:616.34:636.087.8.92

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.135

КОРРЕКЦИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У КРОЛИКОВ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ В РАЦИОН ДБА «ПРОСТОР»

Ожередова Н.А. – д.вет.н., доц., Веревкина М.Н. – к.биол.н., доц., Дыптан О.Н. – асп.,
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет

Ключевые слова: микробиоценоз кишечника, кролики, пробиотик, ДБА «ПроСтор», микробиологические исследования. **Keywords:** microbiocenosis intestines, rabbits, probiotic, DBA "ProStor", microbiological research.

РЕФЕРАТ

Микробиоценоз кишечника кроликов формируется с учетом условий, в которых они находятся, и зависит от рациона кормления. Пробиотические комплексы оказывают стимулирующее действие на организм животного, участвуют в процессах нормализации микробиоценоза кишечника и повышения резистентности организма сельскохозяйственных животных, являются альтернативой антибиотикам. Провели изучение количественного и видового состава микроорганизмов в фекалиях кроликов 1, 2, 3-х месячного возраста из ЛПХ Ставропольского края. При постановке эксперимента мы сформировали три группы кроликов из 7-ми животных с крольчихой породы Советская шиншилла. В 1 группе (опытной) после отъема от матери с 1 месяца животным давали основной рацион (ОР) и вводили ДБА «ПроСтор» (1 г/ кг корма). Во 2 группе (опытной) матери получали основной рацион (ОР) и ДБА «ПроСтор» (1 г/ кг корма) с рождения молодняка. В 3 группе (контрольной) животным давали основной рацион (ОР) без пробиотического препарата.

Установлено, что наблюдается снижение количества микроорганизмов из сем. Enterobacteriaceae в 1 и 2 опытных группах животных по сравнению с контрольной группой: E. coli -lac.(+) – на 5,1-10,2% и 11,2-14,4%; E. coli -lac.(-) – на 2,8-7,2% и 12,1-18,0%; Citrobacter spp. – на 1,4-3,3% и 4,1-27,3%. Также снижается и количество представителей Enterococcus spp. – на 1,2-16,2% и 2,7-19,8%. Количество молочнокислых микроорганизмов в 1 и 2 опытных группах животных увеличивается по сравнению с контрольной

группой: *Lactobacillus* spp. – на 2,5-7,9% и 10,1-11,3% и *Bifidobacterium* spp. – на 2,4-3,5% и 10,8-13,1%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus* spp. – на 14,5-16,5% и 15,9-17,4%. Мониторинг микрофлоры кишечника у кроликов позволит своевременно скорректировать нежелательные изменения нормофлоры и не допустить развитие дисбактериоза.

ВВЕДЕНИЕ

Микрофлора кишечника животных тесно вовлечена в многочисленные аспекты нормальной физиологии организма [9]. Следует отметить, что изучением микробиоценоза кишечника кроликов занимались некоторые российские ученые [2, 3, 5, 6], установлены нормативные показатели количества групп микроорганизмов в фекалиях различных лабораторных животных и кроликов [4], но данная тематика требует более глубокого изучения и современной интерпретации.

Пробиотические комплексы оказывают стимулирующее действие на организм животного, участвуют в процессах нормализации микробиоценоза кишечника и повышения резистентности организма сельскохозяйственных животных, являются альтернативой антибиотикам [8].

Пробиотический препарат ДБА «ПроСтор» производится по уникальной биотехнологии. В состав препарата «ПроСтор» входят: пробиотики (*Bacillus subtilis* (три штамма), *Bacillus Liheniformis*), бифидо-лакто бактерии в биопленке, что обеспечивает становление нормофлоры ЖКТ [7]. Внесение ДБА «ПроСтор» в кормовые рационы молодняка кроликов в дозировке 1,0 г на кг комбикорма способствует улучшению пищевой ценности мяса кроликов [1].

Изучение микробиоценоза кишечника у кроликов, его корреляция при включении в их рацион ДБА «ПроСтор» является актуальным направлением, которое позволяет профилактировать развитие дисбиоза у животных.

Цель исследования – изучение изменений микробиоценоза кишечника кроликов в 1, 2, 3-х месячном возрасте при включении в их рацион ДБА «ПроСтор» (1 г/ кг корма).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При постановке эксперимента в ЛПХ Ставропольского края, мы сформировали

три группы кроликов из 7-ми животных с крольчихой породы Советская шиншилла. В 1 группе (опытной) после отъема от матери с 1 месяца животным давали основной рацион (ОР) и вводили ДБА «ПроСтор» (1 г/ кг корма). Во 2 группе (опытной) матери получали основной рацион (ОР) и ДБА «ПроСтор» (1 г/ кг корма) с рождения молодняка. В 3 группе (контрольной) животным давали основной рацион (ОР) без пробиотического препарата.

Микробиологическим исследованиям подвергались свежие фекалии кроликов в 1, 2, 3-х месячном возрасте. Количественный состав микрофлоры определяли по традиционной методике разведений от 101 до 1010. Из каждого разведения делали посева на специальные питательные среды, соответственно группе выделяемых микроорганизмов. Для культивирования *E. coli* и *Citrobacter* spp. использовали среду Эндо, для их идентификации использовали среды Гисса с углеводами. При выделении *Enterococcus* spp. посев делали на дифференциально-диагностическую среду М17, *Lactobacillus* spp. – на среду МРС, *Bifidobacterium* spp. – на Бифидум-среду, *Bacillus subtilis* – на мясо-пептонный агар (МПА). После их инкубирования в термостате при температуре 370С через 24 часа проводили количественный подсчет микроорганизмов в разведениях с наименьшим количеством выросших характерных колоний. Для контроля использовали тест-культуры.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Микробиоценоз кишечника кроликов формируется с учетом условий, в которых он находится, и зависит от рациона кормления. Микробный пейзаж кишечника влияет на физиологическое состояние организма и повышает иммунный статус в результате благоприятного симбиоза микрофлоры, которая вырабатывает витамины, ферменты и другие продукты жиз-

Таблица 1

Количественный и видовой состав микроорганизмов в фекалиях кроликов 1-месячного возраста при добавлении в корм ДБА «ПроСтор», lg КОЕ/г

№ п/п	Наименование микроорганизмов	Группы животных		
		1 (опытная) ОР + ДБА «ПроСтор» n=7	2 (опытная) ОР + ДБА «ПроСтор» с рождения n=7	3 (контрольная) n=7
1	<i>E. coli -lac.(+)</i>	4,699±0,007	4,476±0,011	4,954±0,003
2	<i>E. coli -lac.(-)</i>	2,601±0,008	2,300±0,010	2,776±0,007
3	<i>Citrobacter spp.</i>	2,145±0,027*	2,079±0,026*	2,176±0,023
4	<i>Enterococcus spp.</i>	7,400±0,022*	7,341±0,0023*	7,479±0,011
5	<i>Lactobacillus spp.</i>	8,175±0,025	8,449±0,007	7,040±0,030
6	<i>Bifidobacterium spp.</i>	8,323±0,018	9,040±0,030	8,114±0,024
7	<i>Bacillus subtilis</i>	8,414±0,019	8,463±0,010	7,252±0,019

*P >0,05

недеятельности. В 1-месячном возрасте, после отъема от матери крольчат перевели на основной рацион и в опытных группах вносили в корм ДБА «ПроСтор». В фекалиях определяли количество основных групп микроорганизмов, результаты представлены в нижеследующих таблицах. Из анализа данных таблицы 1 видно, что наблюдается снижение количества микроорганизмов из сем. Enterobacteriaceae в 1 и 2 опытных группах животных по сравнению с контрольной группой: *E. coli -lac.(+)* – на 5,1% и 11,2%; *E. coli -lac.(-)* – на 7,2% и 18,0%; *Citrobacter spp.* – на 1,4% и 4,1%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 1,05% и 1,06%. Количество молочнокислых микроорганизмов в 1 и 2 опытных группах животных увеличивается по сравнению с контрольной группой: *Lactobacillus spp.* – на 16,2% и 19,8% и *Bifidobacterium spp.* – на 2,5% и 11,09%.

Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 16,5% и 17,0%. Из анализа данных таблицы 2 видно, что наблюдается снижение количества микроорганизмов из сем. Enterobacteriaceae в 1 и 2 опытных группах животных по сравнению с контрольной группой: *E. coli -lac.(+)* – на 8,3% и 14,4%; *E. coli -lac.(-)* – на 2,8% и 12,1%; *Citrobacter spp.* – на 3,3% и 6,9%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 1,9% и 2,7%. Количество молочнокислых микроорганизмов в 1 и 2 опытных группах животных увеличивается по сравнению с контрольной группой: *Lactobacillus spp.* – на 7,9% и 11,3% и *Bifidobacterium spp.* – на 2,4% и 10,9%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 16% и 17,4%. Из анализа данных таблицы 3 видно, что наблюдается снижение количества микроорганизмов из сем. Enterobac-

Таблица 2

Количественный и видовой состав микроорганизмов в фекалиях кроликов 2-месячного возраста при добавлении в корм ДБА «ПроСтор», lg КОЕ/г

№ п/п	Наименование микроорганизмов	Группы животных		
		1 (опытная) ОР + ДБА «ПроСтор» n=7	2 (опытная) ОР + ДБА «ПроСтор» с рождения n=7	3 (контрольная) n=7
1	<i>E. coli -lac.(+)</i>	4,414±0,020	4,175±0,025	4,845±0,004
2	<i>E. coli -lac.(-)</i>	2,398±0,016	2,114±0,024	2,463±0,010
3	<i>Citrobacter spp.</i>	2,079±0,026*	2,000±0,031	2,145±0,027
4	<i>Enterococcus spp.</i>	7,341±0,023	7,232±0,015	7,476±0,011
5	<i>Lactobacillus spp.</i>	8,205±0,019	8,449±0,007	7,592±0,008
6	<i>Bifidobacterium spp.</i>	8,433±0,011	9,172±0,023	8,252±0,019
7	<i>Bacillus subtilis</i>	8,634±0,009	8,738±0,006	7,463±0,010

*P >0,05

teriaceae в 1 и 2 опытных группах животных по сравнению с контрольной группой: *E. coli -lac.(+)* – на 10,2% и 12,2%; *E. coli -lac.(-)* – на 3,7% и 16,3%; *Citrobacter spp.* – на 9,1% и 27,3%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 1,2% и 2,7%. Количество молочнокислых микроорганизмов в 1 и 2 опытных группах животных увеличивается по сравнению с контрольной группой: *Lactobacillus spp.* – на 7,8% и 10,5% и *Bifidobacterium spp.* – на 2,4% и 13,1%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 14,5% и 15,9%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение количественного и видового состава микроорганизмов в фекалиях кроликов 1, 2, 3-х месячного возраста из ЛПХ Ставропольского края, при включении в их рацион ДБА «ПроСтор» (1 г/ кг корма), позволило установить динамику

ее изменения. Установлено, что наблюдается снижение количества микроорганизмов из сем. Enterobacteriaceae в 1 и 2 опытных группах животных по сравнению с контрольной группой: *E. coli -lac.(+)* – на 5,1-10,2% и 11,2-14,4%; *E. coli -lac.(-)* – на 2,8-7,2% и 12,1-18,0%; *Citrobacter spp.* – на 1,4-3,3% и 4,1-27,3%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 1,2-16,2% и 2,7-19,8%. Количество молочнокислых микроорганизмов в 1 и 2 опытных группах животных увеличивается по сравнению с контрольной группой: *Lactobacillus spp.* – на 2,5-7,9% и 10,1-11,3% и *Bifidobacterium spp.* – на 2,4-3,5% и 10,8-13,1%. Также снижается и количество представителей *Enterococcus spp.* – на 14,5-16,5% и 15,9-17,4%. Мониторинг микрофлоры кишечника у кроликов позволит своевременно скорректировать

Таблица 3

Количественный и видовой состав микроорганизмов в фекалиях кроликов 3-месячного возраста при добавлении в корм ДБА «ПроСтор», lg КОЕ/г

№ п/п	Наименование микроорганизмов	Группы животных		
		1	2	3
		(опытная) ОР + ДБА «ПроСтор» n=7	(опытная) ОР + ДБА «ПроСтор» с рождения n=7	(контрольная) n=7
1	<i>E. coli -lac.(+)</i>	4,414±0,019	4,276±0,018	4,903±0,004
2	<i>E. coli -lac.(-)</i>	2,364±0,020	2,043±0,027	2,450±0,014
3	<i>Citrobacter spp.</i>	2,042±0,027*	2,000±0,031	2,200±0,022
4	<i>Enterococcus spp.</i>	7,232±0,015*	7,205±0,019*	7,414±0,019
5	<i>Lactobacillus spp.</i>	8,252±0,019	8,476±0,011	7,623±0,008
6	<i>Bifidobacterium spp.</i>	8,569±0,009	9,414±0,020	8,364±0,020
7	<i>Bacillus subtilis</i>	8,681±0,007	8,806±0,005	7,569±0,009

*P >0,05

нежелательные изменения нормофлоры и не допустить развитие дисбактериоза.
Correction of intestinal microbiocenosis in rabbits with the addition of ProStor DBA to the diet

Ozheredova N.A. – doctor of veterinary sciences, associate professor, Verevkina M.N. – candidate of biological sciences, associate professor, Dyptan O.N. – post-graduate student, Stavropol state agrarian university
ABSTRACT

The microbiocenosis of the intestine of rabbits is formed taking into account the conditions in which it is located, and depends on the feeding diet. Probiotic complexes have a stimulating effect on the body of an animal, participate in the processes of normalization of intestinal microbiocenosis and increase the resistance of the body of

farm animals, and are an alternative to antibiotics. Conducted a study of the quantitative and species composition of microorganisms in the feces of rabbits 1, 2, 3 months of age from the private farm of the Stavropol Territory. When setting up the experiment, we formed three groups of rabbits from 7 animals from the Soviet chinchilla rabbit breed. In group 1 (experimental), after weaning from the mother from 1 month, the animals were given a basic diet (RR) and DBA "ProStor" (1 g / kg feed) was administered. In group 2 (experimental) mothers received the basic diet (RR) and DBA "ProStor" (1 g / kg feed) from birth of young animals. In group 3 (control), animals were given basic diet (RR) without probiotic preparation.

It was found that there is a decrease in the number of microorganisms from this. Enterobacteriaceae in 1 and 2 experimental groups

of animals in comparison with the control group: *E. coli* -lac. (+) – by 5,1-10,2% and 11,2-14,4%; *E. coli* -lac. (-) – by 2,8-7,2% and 12,1-18,0%; *Citrobacter* spp. – by 1,4-3,3% and 4,1-27,3%. The number of representatives of *Enterococcus* spp. Is also decreasing. – by 1,2-16,2% and 2,7-19,8%. The number of lactic acid microorganisms in 1 and 2 experimental groups of animals increases in comparison with the control group: *Lactobacillus* spp. – by 2,5-7,9% and 10,1-11,3% and *Bifidobacterium* spp. – by 2,4-3,5% and 10,8-13,1%. The number of representatives of *Enterococcus* spp. Is also decreasing. – by 14,5-16,5% and 15,9-17,4%. Monitoring of intestinal microflora in rabbits will allow timely correction of unwanted changes in normal flora and prevent the development of dysbiosis.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Вострилов, А.В. Использование кормовой добавки Простор в рационах кормления поголовья молодняка кроликов / А.В. Вострилов, Е.А. Курчаева, В.Л. Пащенко // *Инновационные подходы в решении проблем современного общества: Межд. науч.-практ. конф. «Наука и просвещение»*. – 2018. – С.143-147.
2. Громова, А.В. Биологический состав микрофлоры кишечника кроликов породы советская шиншилла в возрастном аспекте / А.В. Громова, Г.А. Ноздрин, А.А. Леяк // *Вестник НГАУ*. – № 3(36). – 2015. – С. 54-58.
3. Дансарунова, О. С. Применение композиционного препарата в кролиководстве /

О. С. Дансарунова, В.Ц. Цыдыпов // *Вестник НГАУ*. – № 2 (35). – 2015. – С. 88-93.

4. Макарова, М.Н. Характеристика микрофлоры кишечника у человека и лабораторных животных / М.Н. Макарова, К.Л. Крышень, А.А. Алякринская, В.Г. Макаров // *Международный вестник ветеринарии*. – 2016. – № 4. – С. 86-94.

5. Омельченко, Н.Н. Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта кроликов при использовании кормовой пробиотической добавки «Бацелл-М» / Омельченко Н.Н., И.М. Калошкина, А.А. Лысенко // *Ветеринария Кубани*. – 2017. – № 1. – С. 17-29.

6. Кудреватых, И.А. Оценка микробного пейзажа кишечника крольчат / Кудреватых И. А., Шумилина Н. Н. // *Пермский аграрный вестник*. – 2018. – №1(21). – С.21-24.

7. Сайт Научно-технический центр биологических технологий в сельском хозяйстве (НТЦ БИО) [Электронный ресурс] URL: <http://ntcbio.ru/dba-prostor> (дата обращения: 28.01.2019 г.)

8. Ozheredova, N. A. The influence of a complex of probiotic cultures on intensity of development the animals / N. A. Ozheredova, E. V. Svetlakova, M. N. Verevkina, A. N. Simonov, N. V. Vasiliev // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2016. – №7 (2). – March-April. – P. 1638-1642.

9. Sekirov, I. Gut Microbiota in Health and Disease / I. Sekirov, S.H. L. Russell, L. C. M. Antunes, B. BR. Finlay // *Physiol Rev*. – 2010. – V. 90. – P. 859-904.

УДК 636.2.087.72:636.082.4

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.141

ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ У КОРОВ ПРИ РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СКАРМЛИВАНИЯ ТАНАМИН Zn

Омельчук А.И., аспирант; Семенютин В.В., д.б.н.; Крамарева И.А., к.б.н.; Лавринова Е.В., аспирант; Артюх В.М., д.с.-х.н. ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина»

Ключевые слова: коровы, родовые и послеродовые осложнения, дисфункция яичников, индифференс- и сервис-периоды, телята. **Key words:** cows, birth and postpartum complications, ovarian dysfunction, indifference and service periods, calves



РЕФЕРАТ

Высокопродуктивным коровам для реализации генетического потенциала в полной мере необходимо получать полноценные рационы, а также биологически активные вещества, способные в наибольшей степени усваиваться. Нами проведен сравнительный анализ влияния различного по продолжительности скармливания танамина Zn на репродуктивную функцию высокопродуктивных коров. Так, животные контрольной группы (n=20) получали препарат только в сухостойный период (20,0 г/гол./сут.), а опытной (n=20) – более продолжительно, т.е. включая и послетельный период, причём с увеличением дозы в последнем периоде до 30,0 г/гол.сут. В ходе опыта контролировали родовые и послеродовые осложнения, дисфункцию яичников, индифференс- и сервис-периоды, индекс осеменения, качество новорождённого молодняка и его массу в месячном возрасте.

Из проведённых экспериментов следует, что длительное скармливание высокопродуктивным коровам танамина Zn (не только в сухостойный, но и послетельный периоды) способствовало улучшению показателей (на уровне тенденции) репродуктивной функции: сокращение продолжительности сервис-периода на 8,3 суток (или на 8,5 %) и снижение индекса осеменения с 1,6 до 1,4 (или на 12,5 %).

ВВЕДЕНИЕ

Для реализации генетического потенциала коров, особенно с высокой молочной продуктивностью, необходимо не только снабжать их полноценными рационами с учётом содержания основных питательных веществ (липиды, протеины, углеводы) и микронутриентов (витамины, минеральные вещества и микроэлементы) [8,9], но и изыскивать способы их лучшего переваривания и усвоения.

Известно, что дефицит микронутриентов может существовать даже при сбалан-

сированном полноценном рационе [12]. О том, что организм высокоудойных животных для нормального функционирования и повышения продуктивности нуждается не только в полноценном питании, но и в дополнительных добавках микроэлементов за счёт обогащения ими рациона в соответствии с научно обоснованными нормами, свидетельствуют многочисленные публикации отечественных и зарубежных авторов [3,5,6]

Кроме того, в периоды сухостоя и начала лактации животное перманентно

испытывает различные стрессы, замедляющие регенерацию репродуктивных органов и ухудшающие процесс воспроизводства (технологические перегруппировки, смены рационов, вакцинации, роды, начало лактации и др.), и значительная часть биологически активных элементов в том или ином виде идёт на ликвидацию последствий стресса [4,7,10].

Одним из эссенциальных микроэлементов является цинк – активная составная часть более чем 300 металлоферментов участвующих в обмене веществ [13].

Восполнение цинка в рационе в составе премиксов и кормовых добавок ранее осуществляли за счёт неорганических солей металлов. В настоящее время их заменили органическими соединениями, имеющими большую доступность, в связи с чем возможно снижение их дозировки в 3-4 раза [11].

Другим составным элементом добавок, положительно влияющим на физиологическое состояние и различные системы животных, в т.ч. продуктивность и воспроизводительную функцию, являются экстракты растений [1,2,14].

Новой добавкой, включающей в себя оба описанных выше компонента - органический цинк и экстракт каштана - является добавка «Танамин Zn».

Целью нашего исследования было изучение репродуктивной функции высокопродуктивных коров при разной продолжительности скармливания танамин Zn.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыт проводили в колхозе-племзаводе имени В.Я. Горина (Белгородской области) на коровах чёрно-пёстрой породы (Бессоновский тип).

Две группы сформировали из 40 разновозрастных животных аналогов с учётом происхождения, возраста, живой мас-

сы, количества лактаций и физиологического состояния в период запуска. Продолжительность скармливания составляла 4 месяца от начала сухостойного периода. Контроль за результатами осеменения проводили вплоть до регистрации очередной беременности..

В таблице 1 представлены режимы введения препарата «Танамин Zn». Как видно из таблицы 1 животные I – контрольной - группы получали ОР в смеси с 20,0 г танамин Zn в течение только сухостойного периода. Коровам II группы до отёла препарат скармливали так же как и контрольной группе, но (в отличие от последней) – и после отёла, т.е. уже лактирующим коровам. Причём дозу танамин Zn увеличили до 30,0 г/гол./сут. и скармливали его ещё в течение 2-х месяцев только коровам II группы. Дозировку танамин Zn установили в предварительных исследованиях, проведенных в этом же хозяйстве. Испыывали 20,0; 30,0 и 40,0 г/гол/сут.

Коровы обеих групп получали основной рацион (ОР). Его количественный и качественный меняли с учётом физиологического состояния животных (табл.2). Общая масса рациона «Сухостой 1» - 27,39 кг (сухое вещество – 12,18 кг); «Сухостой 2» - 26,80 кг (сухое вещество - 12,03 кг); новотельных коров 0 до 20 суток – 37,43 кг (сухое вещество - 19,15 кг); коров от 20 до 150 суток после отёла - 46,03 кг (сухое вещество -23,94 кг).

Рационы кормления разработаны с учетом требований ГНУ ВНИИЖа.

Кормление силосно-концентратное. Доступ к кормам и воде свободный. Раздача кормов и уборка навоза мобильная. Доеение на установке «Тандем».

Таблица 1

Схема скармливания танамин Zn

Группы (n=20)	Режимы и дозы введения препарата
I-К	ОР +танамин-Zn 20,0 г/гол./сут. до отёла
II	ОР+ танамин-Zn 20,0 г/гол./сут. до отёла и 30,0 г/гол./сут. в течение двух месяцев после отёла

Таблица 2
Состав рациона кормления коров разного физиологического состояния, кг

Ингредиенты рациона	Физиологическое состояние животных			
	Сухостойные коровы		Лактирующие коровы	
	Сухостой 1	Сухостой 2	0-20 суток	20-150 суток
Солома ячменная	3,5	2,3	2,3	-
Сено люцерновое	2,0	1,2	1,9	2,0
Силос кукурузный	12,5	14,0	17,0	22,0
Зелёная масса люцерн	8,0	6,5	7,5	8,0
Комплекс витаминов:	для сухостойных	1,35	1,35	8,0
	для новотельных	-	1,0	8,2
Жмых рапсовый 37 %,	-	0,4	1,5	2,2
Глицерин	-	-	0,2	-
Жир кормовой	-	-	0,2	-
Соль	0,040	-	0,035	0,075
Сода	-	-	0,09	0,15

Контролировали процесс родов, родовые и послеродовые осложнения. Состояние репродуктивных органов оценивали в процессе гинекологической диспансеризации каждые две недели после отёла и при осеменении. Осеменение ректоцервикальное, однократное, по методике ВИЖа.

До отёла и в процессе диспансеризации (дважды в месяц) всем животным внутривенно вводили по 10,0 мл комплексного витаминного препарата «Тетравит».

Учитывали длительность послеродовой инволюции половых органов, наличие послеродовых заболеваний, приход коровы в первую охоту (индифференс-период), количество осеменений, продолжительность сервис-периода и индекс осеменения, качество полученного молодняка: живая масса при рождении и месяц спустя, сохранность телят.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ВЫВОДЫ

В процессе проведения эксперимента мы учитывали качество и течение родо-

вых процессов, родовые и послеродовые осложнения и отклонения в функции органов репродуктивной системы, а также живую массу телят при рождении (табл. 3).

Из данных, приведенных в таблице 3, видно, что все коровы обеих групп растелились. При этом в контрольной группе получено живых 19 телят, а в опытной - 20.

Живая масса телёнка, полученного от коров I – контрольной - группы составляла $38,16 \pm 0,52$ кг, а телёнка II группы - $37,37 \pm 0,66$ кг. Разница между группами была недостоверной и составила 2,1 %.

Спонтанное отделение плаценты прошло у всех 20 коров из опытной группы и 19 голов (95 %) из контрольной. У одного животного из контрольной группы было проведено отделение плаценты. В целом время спонтанного отделения плаценты в контроле составило $6,2 \pm 3,2$ часа, а в опытной группе - $7,0 \pm 2,1$ часа. В послеродовой период у 4 животных (20%) из каждой группы были зарегистрированы эндометриты. В контрольной группе животных

Таблица 3
Родовые процессы, послеродовые осложнения у коров при разной продолжительности скармливания танамин цинка

Показатели	Группы			
	I - К		II	
	гол.	%	гол.	%
Растелилось коров	20	100,0	20	100,0
Получено живых телят	19	95,0	20	100,0
<u>Живая масса телёнка, кг</u>	38,16 ± 0,52		37,37 ± 0,66	
%	100,0		97,9	
Отделение плаценты:				
хирургическое	1	5,0	-	-
самостоятельное	19	95	20	100,0
время отхождения плаценты, ч	6,2 ± 3,2	100,0	7,0 ± 2,1	112,9
Время отделения лохий, сут.	16 ± 4	100,0	14 ± 1	88,4
Эндометриты	4	20,0	4	20,0
ГФ (различные формы)	3	15,0	3	15,0
Сочетанная патология:				
эндометрит/ГФ	1	5,0	-	-
эндометрит/киста	-	-	1	5,0

Таблица 4
Эффективность осеменения коров при разной продолжительности скармливания танамин Zn

Показатели	Группы			
	I - К		II	
	гол.	%	гол.	%
Коров в группе	20	100,0	20	100,0
Тихая охота, сут.	3	15,0	2	10,0
Спонтанная охота до 45 сут.	1	5,0	-	-
Стельных после : 1 осеменения	11	55,0	15	75,0
2 осеменения	6	30,0	4	20,0
3 осеменения	3	15,0	-	-
4 осеменения	-	-	1	5,0
<u>Индифференс-период, сут.</u>	73,2 ± 5,4		75,2 ± 5,1	
%	100,0		102,7	
Сервис-период, сут.	97,8 ± 8,4		89,5 ± 10,4	
%	100,0		91,5	
Индекс осеменения	1,6		1,4	
%	100,0		87,5	

вылечили за 22,5 ± 2,1 суток, в опытной – за 19,5 ± 1,4 суток. Разница с контролем была недостоверной и составила 13,4 %.

Необходимо отметить, что в опыте были зарегистрированы сочетанные нарушения органов системы воспроизводства:

это эндометрит/гипофункция (1 голова из I группы) и эндометрит/ киста жёлтого тела (1 голова из II группы)..

Обследование яичников в периоды послеотёльных диспансеризаций (каждые две недели) показало наличие их гипо-

функционального состояния у 3 голов (15 %) из каждой группы.

Несмотря на незначительную разницу в проявлениях родовых и послеродовых отклонений в органах системы воспроизводства у коров при разной продолжительности скормливания танамин Zn, нами были отмечены некоторые изменения в реализации репродуктивной функции (табл.4). Из таблицы 4 видно, что спонтанное проявление охоты в срок до 45 суток отмечено в I группе у 5 % животных, в то время как у коров II группы оно отсутствовало.

Первая охота, зарегистрированная после отёла, или индифференс-период, в контрольной группе, получавшей добавку танамин Zn только в период сухостойного периода, наступила в среднем на $73,2 \pm 5,4$ сутки, что на двое суток быстрее, чем в группе, продолжавшей получать её и после отёла.

При этом недектированный эструс, или тихая охота, был установлен нами у 15,0 % коров из контроля и у 10,0 % из II группы.

Стебельность после первого осеменения в I - контрольной - группе, которой скормливали танамин Zn только в период сухостоя, наступила у 11 голов (или

55,0 %), в то время как в опытной группе, которая продолжала получать танамин и в послеотёльный период – у 15 голов (или 75,0 %). За два осеменения в контроле беременность наступила у 85,0% коров, а во II группе - 95,0 %. После третьего осеменения в контроле все коровы забеременели, а в опытной группе потребовалось ещё одно осеменение одной головы, у которой первоначально была установлена киста жёлтого тела.

В конечном итоге, в I группе (при индексе осеменения 1,6) сервис-период составил $97,8 \pm 8,4$ суток, во II (при индексе осеменения 1,4) - $89,5 \pm 10,4$ суток. Иными словами, во II группе коров индекс осеменения был меньше на 12,5 %, а интегральный показатель эффективности репродуктивной функции сервис-период короче на 8,5 % (разницы достоверны).

Таким образом, длительное скормливание высокопродуктивным коро-

вам танамин Zn не только в сухостойный, но и послеотёльный периоды:

не повлияло на частоту проявления послеродовых осложнений;

не отразилось на продолжительности индифференс-периода;

способствовало улучшению (на уровне тенденции) показателей репродуктивной функции: сервис-период сократился на 8,3 суток (разница с контролем составляет 8,5 %), а индекс осеменения снизился с 1,6 до 1,4, или на 12,5 %.

REPRODUCTIVE FUNCTION IN COWS AT DIFFERENT DURATION OF FEEDING TANAMINE Zn. Omelchuk A.I., postgraduate student; Semenyutin V.V., Doctor of Biological Sciences; Kramareva I.A., PhD of biological sciences; Lavrinova E.V., postgraduate student; Artyukh V.M., Doctor of Agricultural Sciences FSBEI HE "Belgorod State Agrarian University named after V.Ya. Gorin"

ABSTRACT

For highly productive cows to realize their genetic potential to the full extent, it is necessary to receive full-fledged diets, as well as biologically active substances that can be absorbed to the greatest extent. We conducted a comparative analysis of the effect of tanamine Zn on the reproductive function of high-yielding cows of different duration of feeding.

Thus, the animals of the control group ($n = 20$) received the drug only during the dry period ($20.0 \text{ g / bird / day}$), and the experimental group ($n = 20$) - for a longer period, i.e. including the post-calving period, with an increase in the dose in the last period up to $30.0 \text{ g / head day}$. In the course of the experiment, birth and postpartum complications, ovarian dysfunction, indifference and service periods, insemination index, quality of newborn calves and their weight at one month of age were monitored.

It follows from the experiments that long-term feeding of highly productive cows with tanamine Zn (not only in the dry period, but also in the post-calving periods) contributed to the improvement (at the tendency level) of reproductive function: a reduction in the

duration of the service period by 8.3 days (or 8.5 %) and a decrease in the insemination index from 1.6 to 1.4 (or by 12.5%).

ЛИТЕРАТУРА

1.Багиров В.А. Включение экстракта *Quercus cortex* в рацион бройлеров изменяет их убойные показатели и биохимический состав мышечной ткани/ В.А. Багиров, Г.К. Дускаев, Н.М. Казачкова [и др.]// Сельскохозяйственная биология. - 2018. - Т.53. - №4. - С. 799-810.

2.Буряков Н.П. Использование танинов в кормлении молочного скота / Н.П Буряков, М.А. Бурякова, Д.Е. Алешин [и др.]// Материалы VI Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы науки и образования в области естественных и сельскохозяйственных наук». - Т.1. - Петропавловск: СКГУ им. М.Козыбаева. - 2018. - С. 27-30.

3.Кальницкий Б.Д. Минеральные вещества в кормлении животных/ Б.Д. Кальницкий. - Ленинград: Агропромиздат. - 1985. - 207 с.

4.Ключников Ю.А. Эффективность витаминно-антиоксидантных комплексов для профилактики послеродовых осложнений у коров/Ю.А. Ключников// Зоотехния. - 2008. - № 5.

5.Кузнецов С.Г. Эффективность использование премиксов в кормлении дойных коров/ С.Г. Кузнецов, В. И. Калашников// Зоотехния. - 2002. - №2. - С. 14-18.

6.Масалов В. Эффективность комбикормов в молочном скотоводстве / В. Масалов // Комбикорма. - 2007. - № 2. - С. 56-57.

7.Рецкий М.И. Система антиоксидантной защиты у животных при стрессе и его фармакологической регуляции: авт. дисс. ... докт. биол. наук. - Воронеж, 1997. - 46 с.

8.Романенко Л.В. Стратегия питания высокопродуктивных голштинизированных коров черно-пестрой породы/ Л.В. Рома-

ненко, В.И. Волгин, З.Л. Федорова// Молочное и мясное скотоводство. - 2014. - №6. - С. 34-36.

9.Семенютина С.А. Воспроизводительные функции и витаминная обеспеченность глубокостельных и новотельных коров при различных методах введения тетравита в сухостойный период/ С.А. Семенютина, В.В. Семенютин, В.М. Артюх, Ю.А. Ключников, Н.Н. Шпоганяч// Мат. Всерос. науч.-практич. конф. «Молочное и мясное скотоводство: состояние и перспективы развития в Южном федеральном округе». - пос. Нижний Архыз. - 2007. - С. 50-55.

10.Семенютина С.А. Послеродовая реабилитация коров при использовании антиоксидантных препаратов в сухостойном периоде/ С.А. Семенютина, В.В. Семенютин, В.М. Артюх Н.Н. Шпоганяч, А.И. Шевченко// Мат. междунар. конф. «Трансферт инновационных технологий в животноводстве. - Орёл. - 2008. - С.186-189.

11.Фисинин В.И. Природные минералы в кормлении животных и птицы/ В.И. Фисинин, П. Сурай// Животноводство России. - 2008. - № 8. - С. 66-69.

12.Чомаев, А. После отела корова будет здорова/ А. Чомаев; Ю. Клинский, В. Артюх // Животноводство России. - 2007. - №2. - С. 53-55.

13.Colenan I. E. Zinc proteins Enzymes, Storage Proteins, Transcription factors, and replicatin proteins /I. E. Colenan// Annu. Rev. Biochem. - 1992. - Vol. 61. - P. 897-946.

14.Goel G. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins/ G. Goel, H.S. Makkar// Tropical Animal Health and Production. - 2012. - №44. - P. 729-739.



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 619

К ВОПРОСУ О СОСТОЯНИИ ПЕЧЕНИ ПОПУГАЯ КОРЕЛЛА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИЧЕСКОГО АГЕНТА

Веремева С.А. - к.в.н, доц.каф. анатомии и физиологии, Краснолобова Е.П. - к.в.н, доц. каф. анатомии и физиологии Козлова С.В. - к.в.н, доц.каф. анатомии и физиологии, ФГБОУ ВО ГАУ Сереного Зауралья

Ключевые слова: анатомия, морфология, морфометрия, токсический гепатит, печень, птица, попугай. **Keywords:** anatomy, morphology, morphometry, toxic hepatitis, liver, bird, parrot.



РЕФЕРАТ

Печень является главным органом детоксикации в организме как животных, так и птиц. При воздействии любого внешнего токсического агента происходит повреждение гепатоцитов. Цель исследования: изучить морфологическое состояние печени попугая корелла при воздействии токсического агента. Материалы и методы исследований: Исследования проводились на кафедре анатомии и физиологии Государственного аграрного университета Северного Зауралья. Объектами исследований служили трупы попугаев корелла, в возрасте 3-5 лет. При действии токсического агента отмечалось светло-коричневое печени окрашивание с красными полосами. Консистенция органа рыхлая, легко рвется. Масса печени попугая увеличена. При гистологическом изучении строения структур печени установлено, что вены центральные, портальные и синусоидные капилляры не кровенаполнены, расширены. Строение печеночных долек и большей части гепатоцитов нарушено. В результате проведенных исследований было выяснено, что при воздействии эндогенного токсического агента происходят серьезные морфологические изменения в печени, что проявляется развитием токсического гепатита с массивным некрозом гепатоцитов.

ВВЕДЕНИЕ

Попугай Корелла относится к семейству какаду и является единственным видом рода *Nymphicus*. Особенности содержания, ухода, способа кормления и качества корма влияет на весь организм попугая корелла [1,3,6]. Зачастую покупая качественный корм владельцы приобретают большие упаковки и не всегда заботятся о правильности хранения, что может отрицательно влиять на его качество. При этом, попадая в организм такие корма отрицательно влияют на орган-мишень – печень.

Печень является главным органом детоксикации в организме как животных, так и птиц. При воздействии любого внешнего токсического агента происходит повреждение гепатоцитов. Однако функция органа достаточно долго не изменяется, что затрудняет диагностические возможности [2,4,7,8].

Цель исследования: изучить морфологическое состояние печени попугая корелла при воздействии токсического агента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на кафедре анатомии и физиологии Государственного аграрного университета Северного Зауралья. Объектами исследований служили трупы 5 попугаев корелла, в возрасте 3-5 лет. Для выполнения поставленной задачи был использован комплекс анатомо-гистологических и морфометрических методов исследования. Масса попугая составляет $119,0 \pm 0,3$ г. Макроморфометрические методы заключались в определении линейных параметров внутренних органов. Длину, ширину органов измеряли при помощи миллиметровой линейки и штангельциркулем. Фиксацию полученного материала и гистологические исследования проводили по общепринятым методикам [5,9,10]. Установленные числовые данные подвергали вариативной статистической обработке по Стьюденту с использованием Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полость тела у птиц единая, нет разделения на грудную и брюшную, так как не развита диафрагма. При вскрытии полости тела попугая корелла установлено: спавшиеся легкие, сердце, печень и внутренние органы желудочно-кишечного тракта и мочеполовых органов в большом количестве жировой ткани оранжевого



Рис. 1. Вскрытая полость попугая

цвета (рис. 1). Также отмечено желтушное окрашивание кожи и мышечной ткани.

Печень относится к застенным пищеварительным железам паренхиматозного строения. Печень в норме у попугая корелла красно-бурого цвета, плотной консистенции. При действии токсического агента выявлено светло-коричневое окрашивание с красными полосами. Консистенция органа рыхлая, легко рвется. Масса печени у изученных попугаев составила $6,3 \pm 0,3$ г. Относительная масса печени к массе тела – 5,43 %.

Печень попугая (рис. 2) представлена правой, левой, хвостатой и квадратной долями. При токсическом гепатите правая доля была увеличена на 26,8%, левая на 69,8%,

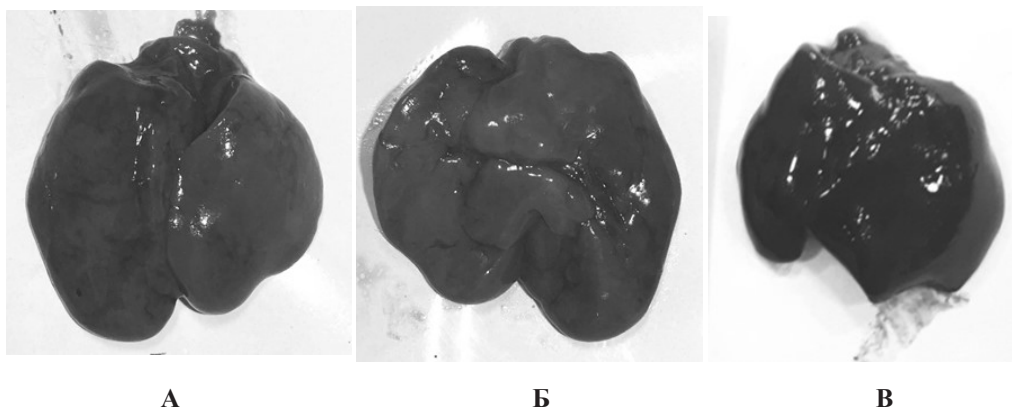


Рис. 2. Pariетальная (А) и висцеральная (Б) поверхности печени с гепатоцеллюлярной недостаточностью, (В) нормальная печень с париетальной стороны попугая корелла

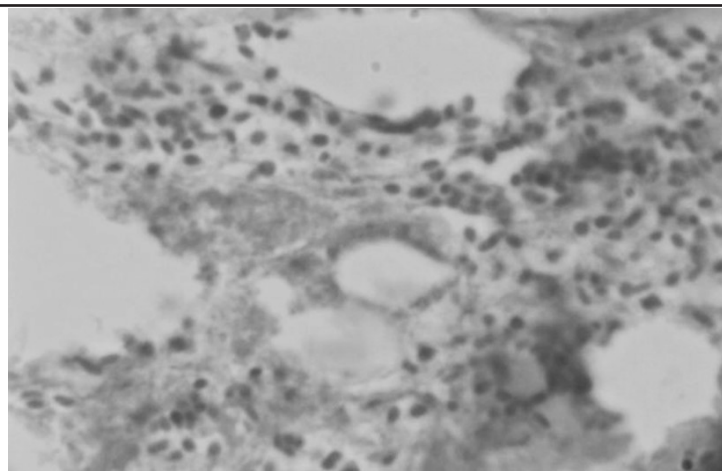


Рис. 3. Гистологическая картина печени попугая корелла. Окраска гематоксилином и эозином. Увл. 200.

хвостатая – на 71%, квадратной – на 12,3%.

При гистологическом изучении строения структур печени попугая отмечено: вены центральные, портальные и синусоидные капилляры не кровенаполнены, расширены. Строение печеночных долек и большей части гепатоцитов нарушено. Наблюдается массивный некроз центральной части долек. Остальные гепатоциты атрофичны с признаками зернистой дистрофии. Единичные клетки с признаками жировой дистрофии. Местами отмечается разволокнение соединительной ткани. В строме капилляров слабовыраженная инфильтрация лимфоцитами. Предполагаемая причина заболевания печени попугая корелла воздействие эндогенного токсического агента, что связано с нарушениями норм и правил кормления, а также неправильным хранением кормов в месте содержания птиц.

ВЫВОДЫ

На основании полученных данных патологоанатомического вскрытия и морфологических исследований установлено, что при воздействии эндогенного токсического агента происходят серьезные морфологические изменения в печени, что проявляется развитием токсического гепатита с массивным некрозом гепатоцитов.

To the question about the state of the liver of a parrot corella under exposure to a

toxic agent. Veremeeva S.A. - Ph.D., Associate Professor of the Department of Anatomy and Physiology, Krasnolobova E.P. - Ph.D., Associate Professor of the Department of Anatomy and Physiology, Kozlova S.V. - Ph.D., Associate Professor of the Department of Anatomy and Physiology FSBEI HE GAU Northern Trans-Urals

ABSTRACT

The liver is the main detoxification organ in the body of both animals and birds. When exposed to any external toxic agent, hepatocytes are damaged. Objective: to study the morphological state of the liver of a cockatiel parrot when exposed to a toxic agent. Materials and methods of research: The research was carried out at the Department of Anatomy and Physiology of the State Agrarian University of the Northern Trans-Urals. The objects of research were the corpses of cockatiel parrots, aged 3-5 years. Under the action of the toxic agent, a light brown liver staining with red stripes was noted. The consistency of the organ is loose, easily torn. Parrot liver mass is increased. A histological study of the structure of the structures of the liver of a parrot revealed that the veins of the central, portal and sinusoidal capillaries are not filled with blood, they are dilated. The structure of the hepatic lobules and most of the hepatocytes is impaired. As

a result of the studies, it was found that when exposed to an endogenous toxic agent, serious morphological changes occur in the liver, which is manifested by the development of toxic hepatitis with massive necrosis of hepatocytes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахарев А.А. Влияние освещения на продуктивность цыплят бройлеров / Бахарев А.А., Александрова С.С. // Эпоха науки. - 2018. - № 15. - С. 120-124.
2. Веремеева, С.А. Параметрические особенности пищеварительной системы лебедей-кликунов / Веремеева С.А., Краснолобова Е.П., Козлова С.В. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2019. № 4 (78). С. 190-193.
3. Козлова, С.В. Взаимосвязи факторов экосистем в промышленном птицеводстве / Козлова С.В. // В сборнике: Сборник статей II всероссийской (национальной) научно-практической конференции "Современные научно-практические решения в АПК". Государственный аграрный университет Северного Зауралья. 2018. С. 146-150.
4. Красникова, Л.В. Видовые особенности строения печени у домашних птиц / Красникова Л.В., Фоменко Л.В. // Вестник Омского государственного аграрного университета. 2014. № 2 (14). С. 58-60.
5. Краснолобова Е.П. К вопросу поиска аналога формалина как фиксатора биологических объектов / Краснолобова Е.П., Козлова С.В., Веремеева С.А. // АПК: инновационные технологии. - 2018. - № 1. - С. 13-19.
6. Ландышева, А.Ю. Морфометрические особенности конечного мозга волнистого попугая / Ландышева А.Ю., Алексеев В.В. // Вестник Чувашского государственного педагогического университета им. И.Я. Яковлева. 2016. № 2 (90). С. 10-16.
7. Сидорова К.А. Гепатопатии животных / Сидорова К.А., Краснолобова Е.П., Череменина Н.А., Козлова С.В., Хазимухаметова И.Ф., Маслова Е.Н. - Тюмень, 2019.
8. Сидорова К.А. Основы гепатологии: морфология, физиология, патология / Сидорова К.А., Веремеева С.А., Глазунова Л.А., Драгич О.А., Краснолобова Е.П., Козлова С.В., Череменина Н.А. - Тюмень, 2019.
9. Хонин, Г.А. Морфологические методы исследования в ветеринарной медицине / Г.А. Хонин, С.А. Барашкова, В.В. Семченко. - Омск: Омская областная типография, 2004. - 198 с.
10. Goncharenko, O.N Case-method in the structure of training the veterinary physician / Goncharenko O.N., Krasnolobova E.P., Cheremenina N.A., Sidorova K.A., Veremeeva S.A. // Astra Salvensis. 2018. T. 6. С. 647-655.

УДК 619:618.7:616.2:616-036.8:636.2
DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.151

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У ТЕЛЯТ ЗДОРОВЫХ И ПЕРЕНЁСШИХ ИНТРАНАТАЛЬНУЮ АСФИКСИЮ

Алехин Ю.Н. – доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, Жуков М.С. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник (ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»)

Ключевые слова: телята, интранатальная асфиксия, заболеваемость, респираторные болезни, риск развития. **Keywords:** calves, intranatal asphyxia, morbidity, respiratory diseases, risk of development.



РЕФЕРАТ

Цель работы – провести сравнительную оценку заболеваемости органов дыхания у телят здоровых и перенёсших интранатальную асфиксию. Объектом исследования были новорожденные телята, которых разделили на 4 группы: №1 (контроль, n = 30) – здоровые телята, №2, №3 и №4 – животные, родившиеся в результате самопроизвольных, но осложнённых родов, в течение которых они перенесли интранатальную асфиксию соответственно лёгкой (n = 30), средней (n = 28) и тяжёлой (n = 24) степени тяжести. Все телята находились под постоянным наблюдением в период от рождения до 4 месячного возраста. При этом акцентировали внимание на регистрации первичных случаев возникновения болезней органов дыхания, тяжести их течения и исхода. В ходе исследования установлено, что у телят, перенёсших интранатальную асфиксию в течение нескольких месяцев сохраняется высокая заболеваемость органов дыхания. При этом возраст и форма проявления респираторных болезней зависят от тяжести первичной патологии. Так, после асфиксии лёгкой формы чаще диагностируют бронхопневмонию. В сравнении с ней у перенёсших патологию средней степени преобладает бронхопневмония и респираторный дистресс-синдром, а после тяжёлой асфиксии – респираторный дистресс-синдром, при этом помимо изменения структуры заболеваемости возрастает летальность соответственно на 26,0% и в 2,9 раза. Представленные в статье данные указывают на наличие у телят, перенесших интранатальную асфиксию патофизиологических механизмов, формирующих риск возникновения респираторных заболеваний ($r = 0,60$; $p < 0,001$).

ВВЕДЕНИЕ

Одной из наиболее актуальных проблем скотоводства является получение и сохранение здорового потомства. Ведущая роль в формировании нозологического профиля болезней новорожденных принадлежит перинатальной патологии и неонатальной диарее [5], а у животных молочного и послемолочного периода – респираторным заболеваниям [2]. К числу наиболее распространенных форм перинатальной патологии относится интрана-

тальная асфиксия в основе, которой лежит острая кислородная недостаточность [3]. Важная роль в развитии респираторных болезней принадлежит дыхательной недостаточности, которая также характеризуется дефицитом кислорода. Наличие общих механизмов патогенеза указывает на возможное влияние перинатальной патологии на риск развития респираторных болезней у телят. Данное предположение актуально на фоне длительного сохранения высокого уровня заболевае-

мости респираторными болезнями у телят и отсутствия существенного прогресса в борьбе с ними [6, 7], так как это позволит детализировать этиологию и патогенез данной группы патологий. Поэтому целью данного исследования стала сравнительная оценка заболеваемости органов дыхания у телят здоровых и перенёсших интранатальную асфиксию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В условиях промышленного комплекса по производству молока, где содержались животные голштино-фризской породы (Венгрия), провели опыт, объектом исследования которого были новорожденные телята ($n=112$), которые не имели врождённых пороков развития. Используя в качестве дифференциальных признаков характер течения родового процесса у коров и результаты клинического обследования телят через 15 минут и 8 часов после их рождения, были сформированы четыре группы-аналогов: №1 (контроль, $n = 30$) – здоровые телята, родившиеся в результате самопроизвольных неосложнённых родов, №2, №3 и №4 – животные, родившиеся в результате самопроизвольных, но осложнённых родов, в течение которых они перенесли интранатальную асфиксию соответственно лёгкой ($n = 30$), средней ($n = 28$) и тяжёлой ($n = 24$) степени тяжести.

При обследовании новорожденных использовали общепринятые клинические методы, но для выявления перинатальной патологии и оценки её тяжести применяли дополнительные тесты [1, 3]. Все телята, задействованные в опыте, находились под постоянным наблюдением в период от рождения до 4 месячного возраста. При этом акцентировали внимание на регистрации первичных случаев возникновения болезней органов дыхания, тяжести их течения и исхода.

Через 60 минут после рождения определяли массу тела телят, а затем им выпаивали 1,8-2,0 литра молозива (плотность 1,046-1,055 г/см³). Молозиво-молоко матери они продолжали получать ещё 7 суток, но в дальнейшем, в течение 65 суток

им задавали сборное молоко. В возрасте 5-7 дней животным начинали скармливать специализированные комбикорма, а с 9-10 дневного возраста их приучали к поеданию сена.

Телята содержались в типовых помещениях, в которых поддерживалась относительная влажность воздуха и скорость его движения в пределах от 59 до 64% и 0,20-0,25 м/с., а температура от 18 до 25°C. При этом животные в период от рождения до 2-х месячного возраста содержались в индивидуальных клетках, а в дальнейшем их переводили мелкогрупповые загонь (по 5-6 голов).

Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica v6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M) и среднеквадратическое отклонение (SD), достоверность разницы (p) по критерию Стьюдента. Анализ влияния первичной патологии (интранатальная асфиксия) на риск возникновения и вариант исхода заболевания органов дыхания проводился с использованием метода Каплан-Майера. Метод множественных оценок Каплан-Майера производит оценку, основываясь на времени наступления события для полных и цензурированных данных и выражается в кумулятивной вероятности развития события от 0 до 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническое обследование телят из группы 1 показало, что их вес при рождении составлял $32,2 \pm 2,47$ кг, слизистая оболочка дёсен имела равномерный розово-красный цвет. Устойчивая поза стояния наблюдалась через 35-50 мин. После щипка в области крупа телята самостоятельно вставали через 10-15 секунд. Средняя частота дыхательных движений через 15 мин после рождения была равна $33,1 \pm 1,19$ дд/мин, частота сердечных сокращений $125,6 \pm 13,42$ уд/мин, а температура тела $39,5 \pm 0,16$ °C. При аускультации грудной клетки выслушивалось усиленное везикулярное дыхание. Повторное обследование телят через 8 часов после рождения показало снижение ЧДД на

Таблица 1
Клинические показатели новорожденных телят через 15 мин (числитель) и через 8 часов (знаменатель) после рождения (M± SD)

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Вес, кг	32,2±2,47	32,4±2,59	33,2±3,29	33,2±2,45
Температура, °C	39,5±0,16 38,7±0,38	39,5±0,13 38,8±0,20	39,4±0,13 38,5±0,07	39,4±0,14 38,1±0,05
ЧСС/мин	125,6±13,42 119,4±11,16	175,4±2,78** 171,2±9,88**	168,0±3,00** 165,8±10,33**	89,3±1,77** 87,0±6,24*
ЧДД/мин	33,1±1,19 32,3±0,87	37,5±2,15* 32,9±0,71	38,2±1,82* 36,3±1,01**	33,4±3,05 26,1±0,97***

*Примечание: Различие с показателями телят из группы №1, статистически достоверно: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.*

2,5% ($p \geq 0,05$), ЧСС на 5,2% ($p \geq 0,05$) и температуры тела на 2,1 ($p \leq 0,05$) (Табл. 1). Последующее наблюдение позволило диагностировать катаральный бронхит у 4 животных в возрасте 21, 48, 66 и 76 суток, а у 2 голов на 52 и 72 сутки - бронхопневмонию.

Таким образом, новорожденные из группы контроля были клинически здоровы и имели нормальное морфофункциональное развитие, а их заболеваемость респираторными болезнями в течение первых четырех месяцев жизни составила 20,0%.

Вес телят из группы 2 составлял 32,4±2,59 кг, они устойчиво стояли уже через 60-120 мин, а после щипка в области крупа вставали через 13-15 сек. Через 15 минут после рождения у них ЧДД и ЧСС были достоверно выше показателей контроля соответственно на 13,3 и 39,6%, а при аускультации лёгких выслушивались нестабильные разнокалиберные хрипы. У животных данной группы имел место умеренно выраженный цианоз видимых слизистых оболочек, который сохранялся в течение трёх суток. Через 8 часов после рождения у них отмечено снижение ЧДД на 14,0% ($p \leq 0,05$) и температуры на 1,8% ($p \leq 0,001$), но пульс достоверно не изменился. Дальнейшее наблюдение за этими животными позволило выявить катаральный бронхит у 4 телят соответственно в возрасте 18, 22, 45

и 68 суток, а также бронхопневмонию у 5 животных на 15, 46 и 66-67 сутки жизни.

Таким образом, новорожденные из группы 2 имели нормальный уровень морфофункционального развития, но во время рождения они перенесли интранатальную асфиксию лёгкой степени выраженности, которая проявилась цианозом слизистых оболочек, тахикардией и временным тахипноэ. Их заболеваемость респираторными болезнями в течение первых четырех месяцев жизни составила 30,0%.

Обследование новорожденных телят из группы 3 показало, что их вес составил 33,2±3,29 кг, самостоятельная устойчивая поза стояния наблюдалось через 5-7 часов. Температура тела достоверно не отличалась от показателей здоровых животных, однако ЧДД и ЧСС были выше на 15,4 и 33,8% соответственно. Осмотр внешних слизистых оболочек выявил выраженный цианоз и гиперемия дёсен с признаками отёка языка. Реакция на щипок в области крупа наблюдалась через 25-40 сек., телята уклонялись, но затем пытались встать. Аускультация грудной клетки выявляла наличие хорошо выслушиваемых хрипов по всей проекции лёгких. Повторное обследование телят показало сохранение признаков тахипноэ и тахикардии. Однако у них, в сравнении с параметрами животных группы 2, наблюдалось увеличение ЧДД на 10,3% ($p \leq$

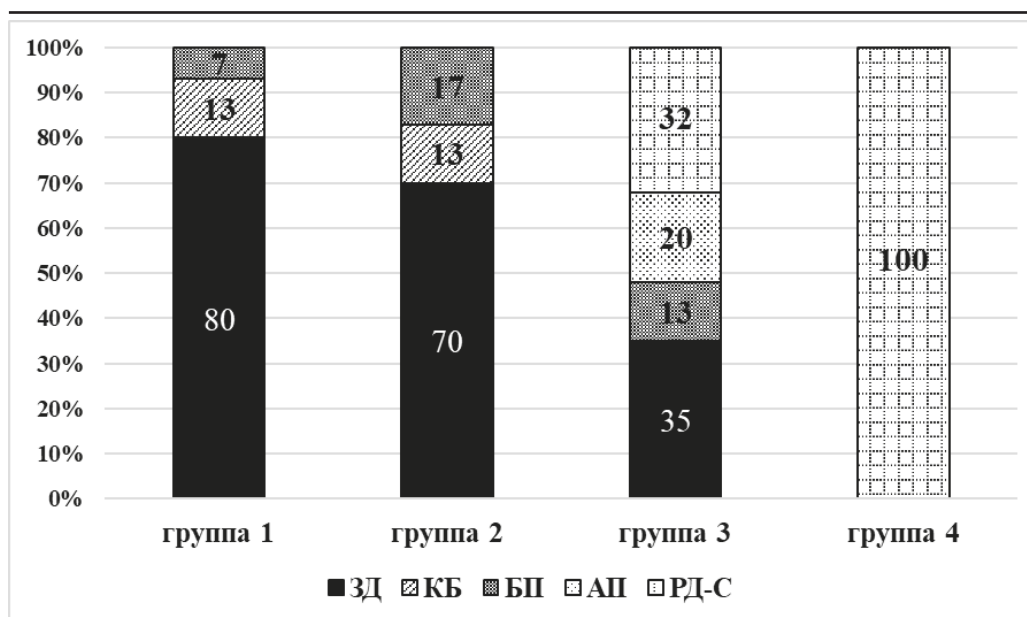


Рис. 1. Структура респираторных заболеваний телят, перенесших интранатальную асфиксию

ЗД – здоровые, КБ – катаральный бронхит, БП – бронхопневмония, АП – аспирационная пневмония, РД-С – респираторный дистресс-синдром.

0,05), и уменьшение ЧСС на 3,2% ($p \geq 0,05$), а также отмечено учащение и урежение пульса соответственно во время вдоха и выдоха. Животные были угнетены, преимущественно лежали на боку, аппетит ослаблен, во время кормления отмечались частые перерывы в приеме пищи, во время которых наблюдалось учащенное дыхание. Цвет видимых слизистых оболочек бледно-синий. Отмечено усиление громкости разнокалиберных хрипов при аускультации лёгких. Однако, у 9 телят, появились крепитирующие хрипы, приступы апноэ (8-12 сек.) и шумное дыхание ртом с расширением носовых отверстий и втягиванием межрёберных пространств, что указывает на наличие у них респираторного дистресс-синдрома. В дальнейшем у 6 животных на 3-6 день жизни диагностировали аспирационную пневмонию, а в возрасте 18-20 дней у 4 голов была выявлена бронхопневмония.

Таким образом, новорожденные из группы 3 имели нормальный уровень

морфофункционального развития, но во время рождения они перенесли интранатальную асфиксию средней тяжести, которая характеризовалась вначале застоем крови в сосудах (цианоз), но затем снижением их заполняемости (бледно-синий цвет). Помимо этого, имело место тахипноэ, дыхательная аритмия и учащение пульса, но уже очевидна тенденция к брадикардии. Заболеваемость респираторными болезнями телят, перенёсших интранатальную асфиксию средней тяжести в течение первых четырёх месяцев жизни составила 65,0%, что в 3,3 и 2,2 раза больше чем в группе №1 и №2, соответственно (Рис. 1).

Вес телят из группы 4 составлял $33,2 \pm 2,45$ кг, общее состояние угнетённое, полностью отсутствовал аппетит и рефлекс позы стояния, в ответ на пробу щипка животные вытягивали шею, мычали, но не вставали. Цвет слизистых оболочек был серый или фарфорово-белый, имел место отёк головы и языка. При аускультации грудной клетки хорошо

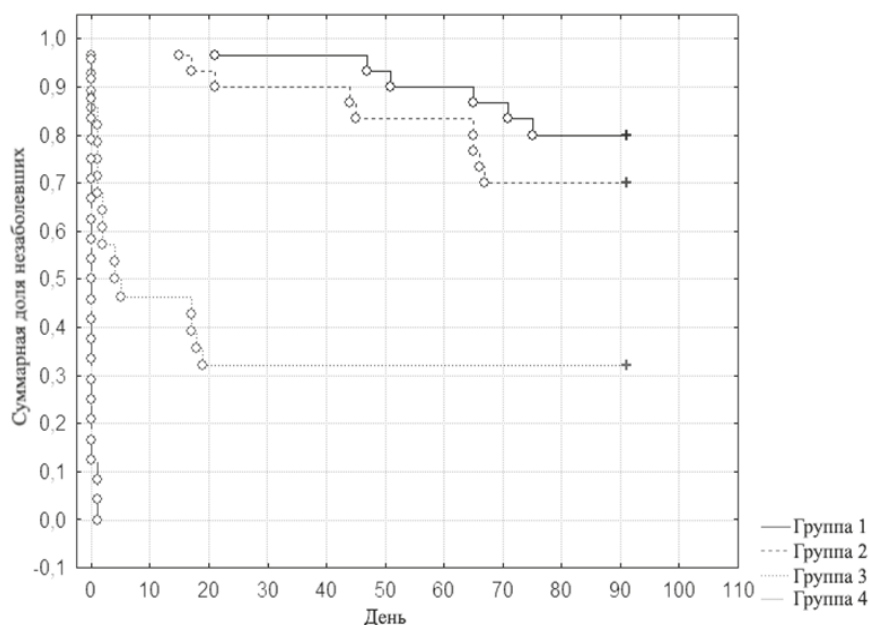


Рис. 2. Устойчивость телят перенёсших интранатальную асфиксию к развитию респираторных заболеваний

выслушивались разнокалиберные хрипы по всей проекции лёгких. Частота пульса была меньше чем у телят из группы №1 и №3 соответственно на 28,9% и 46,8% ($p \leq 0,001$). В течение 8 часов после рождения было отмечено снижение ЧДД на 28,0% ($p \leq 0,05$), ЧСС на 2,6% ($p \geq 0,05$) и температуры тела на 3,4% ($p \leq 0,001$), в результате сформировался уровень отмеченных показателей ниже контроля соответственно на 19,2, 27,1 и 1,6%. У большинства животных наблюдались крепитирующие хрипы при аускультации лёгких, приступы апноэ (10-15 сек.), дыхание ртом, втягивание межрёберных пространств, расширение носовых отверстий и выделение из них вязкой слизи.

Таким образом, телята из группы 4 имели нормальное морфофункциональное развитие и признаки перенесения интранатальной асфиксии тяжёлой степени, на фоне которой в течении 8 часов жизни появлялись клинические признаки, указывающие на респираторный дистресс-синдром.

Построение функции Каплан-Майера показало, что вероятность того, что у телят с нормальным морфофункциональным развитием и без признаков интранатальной в течении 1 и 4 месяцев жизни устойчивость к болезням органов дыхания составляет $0,97 \pm 0,033$ и $0,80 \pm 0,073$ соответственно. Аналогичный показатель у животных, перенёсших интранатальную асфиксию лёгкой степени, составляет $0,90 \pm 0,068$ и $0,83 \pm 0,068$. После интранатальной асфиксии средней тяжести вероятность остаться здоровыми равна $0,36 \pm 0,088$, при этом патология органов дыхания у большинства телят появляется в течение первых 20 дней жизни. У всех животных, перенёсших тяжёлую асфиксию в первые дни жизни возникает патология органов дыхания, преимущественно в форме респираторного дистресс-синдрома (Рис. 2).

Помимо риска заболевания органов дыхания у телят выявлено влияние перинатальной патологии на их сохранность. Так, анализ выживаемости по Каплан-

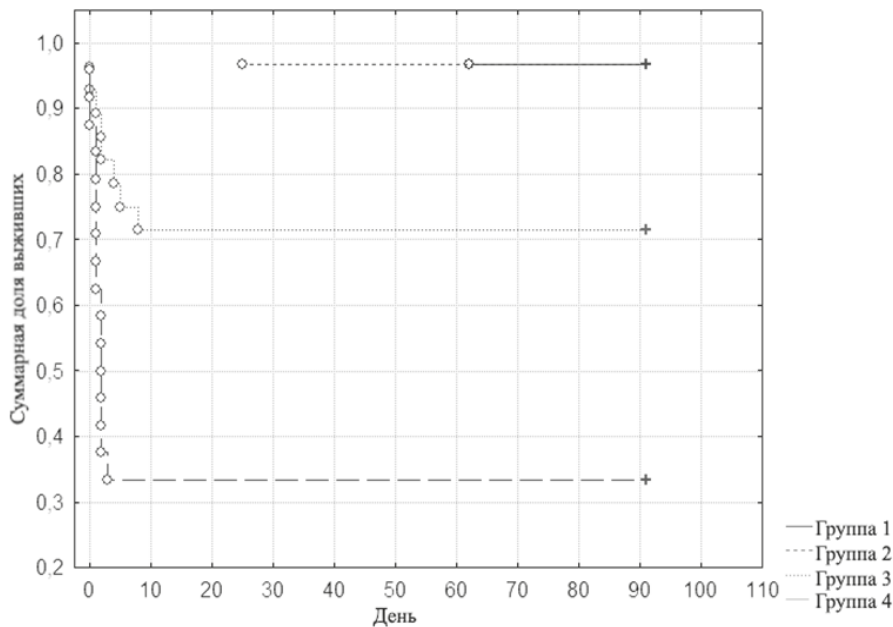


Рис. 3. Выживаемость телят перенёсших интранатальную асфиксию при развитии респираторных заболеваний

Майеру показал, что у здоровых животных и перенесших лёгкую форму интранатальной асфиксии выживаемость в течении 4 месяцев жизни составляет $0,96 \pm 0,033$, а после асфиксии средней и тяжёлой степени тяжести соответственно $0,71 \pm 0,085$ и $0,33 \pm 0,096$. С максимальным уровнем смертности в течении 3 и 7 дней жизни соответственно (Рис. 3).

Выявленное влияние интранатальной асфиксии на риск развития респираторной патологии и её исход так же подтверждено результатами рангового корреляционного анализа по Спирмену. Так имеется достоверная положительная корреляционная связь ($p < 0,001$) и средней силы влияния по шкале Чеддока между степенью тяжести асфиксии и уровнем заболеваемости органов дыхания ($r = 0,60$), и летальности ($r = 0,54$).

ВЫВОДЫ

Проведенные нами исследования показали, что у телят перенёсших интранатальную асфиксию в течение нескольких месяцев сохраняется высокая заболеваемость органов дыхания. При этом возраст

и форма проявления респираторных болезней зависят от тяжести первичной патологии. Так, после асфиксии лёгкой формы чаще диагностируют бронхопневмонию. В сравнении с ней у перенёсших патологию средней степени преобладают бронхопневмония и респираторный дистресс-синдром, а после тяжёлой асфиксии – респираторный дистресс-синдром, при этом помимо изменения структуры заболеваемости возрастает летальность соответственно на 26,0% и в 2,9 раза.

Представленные в статье данные указывают на наличие у телят перенесших интранатальную асфиксию патофизиологических механизмов формирующих риск возникновения респираторных заболеваний. При этом очевидна необходимость изучения этих механизмов межморбидной зависимости с целью расширения знаний о последствиях перинатальной патологии и повышения эффективности мер борьбы с болезнями органов дыхания.

MORBIDITY OF THE RESPIRATORY ORGANS OF HEALTHY CALVES RECOVERED AFTER INTRANATAL ASPHYXIA

Alekhin Yu.N. – doctor of veterinary sciences, chief researcher, Zhukov M.S. – candidate of veterinary sciences, senior researcher (All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy)

ABSTRACT

The aim of the work is to carry out a comparative assessment of the morbidity of respiratory organs in healthy calves and those with intranatal asphyxia. The object of the study were newborn calves, which were divided into 4 groups: №1 (control, n = 30) – healthy calves, №2, №3 and №4 - animals born as a result of spontaneous, but obstructed labour, during which they suffered intranatal asphyxia of mild (n = 30), moderate (n = 28) and severe (n = 24) severity, respectively. All calves were under constant supervision from birth to 4 months of age. At the same time, attention was focused on the registration of primary cases of respiratory diseases, the severity of their course and outcome. In the course of the study, it was found that calves that suffered intranatal asphyxia for several months retain a high incidence of respiratory diseases. At the same time, the age and form of manifestation of respiratory diseases depend on the severity of the primary pathology. So, after mild asphyxia, bronchopneumonia is more often diagnosed. In comparison with it, bronchopneumonia and respiratory distress syndrome prevail for those, who have experienced moderate pathology, and after severe asphyxia - respiratory distress syndrome. In addition to changes in the morbidity structure, mortality increases by 26.0% and 2.9 times, respectively. The data, presented in the article, indicate the presence in calves, that suffered intranatal asphyxia, pathophysiological mechanisms that form the risk of respiratory diseases ($r = 0.60$; $p < 0.001$).

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Алехин Ю.Н. Методы диагностики перинатальной патологии у крупного рогатого скота (методическое пособие) / Ю.Н. Алехин. – Воронеж, 2013. – 25 с.
- 2.Жуков М.С. Причины выбытия молодняка крупного рогатого скота на предприятиях молочного и мясного направления / М.С. Жуков // Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка». Витебск, 2018. – С. 17-21.
- 3.Методическое пособие по диагностике и профилактике нарушений антенатального и интранатального происхождения у телят / А.Г. Шахов, Ю.Н. Алехин, С.В. Шабунин и др. – Воронеж: издательство «Истоки», 2013. – 92 с.
- 4.Состояние проблемы респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота / В.А. Мищенко, Д.К. Павлов, В.В. Думова и др. // Ветеринария кубани. – 2008. – №5. – С. 6-7.
- 5.Шабунин С.В. Перинатальная патология у крупного рогатого скота – актуальная проблема ветеринарной медицины / С. В. Шабунин, Ю. Н. Алехин, А. Г. Нежданов // Ветеринария. – 2015. – № 1. – С. 3-10.
- 6.Buczinski S. Bovine respiratory disease diagnosis: What progress has been made in clinical diagnosis? / S. Buczinski, B. Pardon // Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. – 2020. – Vol. 36. – P. 399-423.
- 7.Smith R.A. Bovine respiratory disease: Looking back and looking forward, what do we see? / R.A. Smith, D.L. Step, A.R. Woolums // Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. – 2020. – Vol. 36 (2). – P. 239-251.

УДК 636.2.053.084.11:612.11/.12
DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.18

ДИНАМИКА ЖИВОЙ МАССЫ И ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ТЕЛЯТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НОРМЫ ВЫПОЙКИ ЦЕЛЬНОГО МОЛОКА

Ускова И.В. соискатель каф. анатомия, акушерство и хирургия, Баймишев Х.Б. - д.б.н., проф.
ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет»

Ключевые слова: живая масса, кровь, молоко, телята, рост, выпойка, структура, период.
Key words: live weight, blood, milk, calves, growth, feeding, structure, period.



РЕФЕРАТ

Цель работы – повышение интенсивности роста телят во взаимосвязи с показателями крови с учетом нормы выпойки цельного молока в молочный период их выращивания. Для проведения исследований из числа новорожденных телят в первый день жизни были сформированы три группы (контрольная, 1-опытная, 2-опытная) по 12 голов в каждой с соблюдением принципа параналогов по возрасту, живой массе, линейной принадлежности, а также с учетом показателей крови при рождении. Контрольная группа телят получала цельное молоко – 5 кг в день, всего – 300 кг, первая опытная – 6 кг, всего – 360 кг, вторая – 7 кг, всего – 420 кг. Все телята исследуемых групп находились в одинаковых условиях кормления и содержания. У исследуемых групп животных брали кровь при рождении и в возрасте 3 месяцев для исследований морфологических, биохимических показателей во взаимосвязи с интенсивностью их роста. Установлено, что увеличение нормы выпойки цельного молока с 300 кг на 60,120 кг увеличивает содержание в сыворотке крови общего белка – на 10,53 и 9,55 г/л, глюкозы – на 0,36 и 0,31 ммоль/л, кальция – на 0,24 и 0,26 ммоль/л, при снижении бета-глобулинов на 2,79 и 3,43% и иммуноглобулина G – на 161,1 и 149,1 мг/мл по сравнению с контролем. Показатели интенсивности роста телок опытных групп в 3-месячном возрасте на 8,71 и 9,41 кг, в 12-месячном возрасте – на 22,31 и 26,55 кг превосходили своих сверстниц из контрольной группы. Норма выпойки цельного молока 360 кг в молочный период выращивания ремонтного молодняка оптимальна, так как обеспечивает улучшение качественных и количественных показателей крови и повышение интенсивности роста животных. Разница с животными получавшими норму выпойки цельного молока 420 кг не достоверна и находится в пределах среднеарифметической ошибки.

ВВЕДЕНИЕ

Выращивание здорового жизнеспособного здорового ремонтного молодняка в условиях интенсивной технологии производства молока является на сегодняшний день весьма актуальной проблемой. Одним из основных факторов влияющих на интенсивность роста, развития телят является их морфофункциональное состоя-

ние определяющееся нормой гомеостаза и неспецифической резистентностью организма особенно в ранний постнатальный период, когда закладывается будущая продуктивность растущего организма [1, 2, 7].

В крови телят в первые дни жизни содержится больше гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, а содержание показателей крови характеризующих метаболизм

имеют меньшие градиенты. К концу молочного периода развития биохимический состав крови телят стабилизируется [6, 9].

Исходя из вышеизложенного показатели крови телят и интенсивность их роста при выращивании характеризует не только их клинико-физиологическое состояние, но и дает возможность разработать алгоритм коррекции их за счет оптимизации технологии кормления, содержания в молочный период для более полной реализации в будущем своего генетического потенциала по продуктивности, что является актуальным [8, 3].

Цель исследований – повышение интенсивности роста телят во взаимосвязи с показателями крови с учетом нормы выпойки цельного молока в молочный период их выращивания. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- изучить биохимические показатели крови телят при рождении и в 3-месячном возрасте;

- определить динамику интенсивности роста телят во взаимосвязи с показателями крови.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили телята голштинской породы молочно-го комплекса АО «Нива» Самарской области. Для проведения исследований из числа новорожденных телят в первый день жизни были сформированы 3 группы (контрольная, 1-опытная, 2-опытная) по 12 голов в каждой с соблюдением принципа пар-аналогов по возрасту, живой массе, линейной принадлежности, а также с учетом показателей крови при рождении. Кровь брали у всех новорожденных телят в первые минуты жизни до выпойки молозива. Контрольная группа телят получала цельное молоко 5 кг в день, всего – 300 кг, как принято в хозяйстве. Опытная первая группа телят получала цельное молоко 6 кг в день, всего – 360 кг. Опытная вторая группа телят, получала цельное молоко 7 кг в день, всего – 420 кг. Все телята исследуемых групп находились в одинаковых условиях кормления и содержания. В процессе исследования у исследуемой группы животных

изучали биохимические показатели крови в следующие возрастные периоды: при рождении, 3 месяца. Кровь брали из хвостовой вены, используя систему «Моновет» в одно и то же время суток (за 2 часа до кормления). Показатели крови и ее сыворотки изучали с использованием современного сертифицированного оборудования. Исследования показатели крови определяли в гематологической лаборатории ФГОУ ВО Самарский ГАУ и лаборатории гематологии и иммунологии ФГБОУ ВО Самарский ГМУ.

Интенсивность роста живой массы телят определяли путем индивидуального взвешивания при рождении и в 3-месячном возрасте с использованием напольных весов ВП-500 с точностью 0,01 г.

Весь полученный цифровой материал экспериментальных данных обработан методом вариационной статистики на достоверность различия сравниваемых показателей с использованием критерия Стьюдента, принятым в биологии и зоотехнии, с применением программного комплекса Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 3-месячном возрасте содержание общего кальция в сыворотке крови телят контрольной группы сократилось на 0,21 ммоль, а у животных 1 и 2 опытных групп данный показатель увеличился на 0,03, 0,04 ммоль/л, соответственно по сравнению с периодом новорожденности (табл. 1).

К 3-месячному возрасту показатель глюкозы в сыворотке крови телят сокращается более чем в 2 раза. Если при рождении содержание глюкозы в сыворотке крови составляло 5,28 ммоль/л то к 3-месячному возрасту в контрольной группе этот показатель составил 2,18 ммоль/л, в 1 опытной группе – 2,54 ммоль/л, а во 2 опытной группе – 2,49 ммоль/л.

Содержание общего белка в сыворотке крови у животных к 3-месячному возрасту увеличивается по сравнению с периодом новорожденности, показатель увеличения зависит от нормы выпойки цельного молока. В контрольной группе этот показатель составил 67,50 г/л, в 1 опыт-

Таблица 1

Биохимические показатели телят исследуемых групп

Показатель	При рождении	3 месяца		
		группа животных		
		контрольная	опытная-1	опытная-2
Общий кальций, ммоль/л	2,29±0,52	2,08±0,07	2,32±0,06*	2,34±0,07*
Неорганический фосфор, ммоль/л	1,80±0,22	1,52±0,10	1,65±0,08	1,68±0,09
Щелочной резерв, об.СО ₂ %	53,84±0,26	45,13±0,38	49,27±0,28	48,92±0,36
Глюкоза, ммоль/л	5,28±0,09	2,18±0,08	2,54±0,11	2,49±0,10
Общий белок, г/л	55,02±0,36	67,50±1,12	76,23±0,84	77,05±0,87
Белковые фракции, г/л				
альбумины	17,35±0,31	20,17±0,13	25,86±0,14	26,02±0,18
глобулины в т.ч.				
α-глобулины	15,28±0,32	14,84±0,17	17,38±0,08	17,42±0,36
β-глобулины	7,52±0,12	12,45±0,12	10,16±0,10	10,14±0,12
γ-глобулины	14,87±0,29	20,04±0,52	22,83±0,29	23,47±0,41
Иммуноглобулины, мг/мл				
A	7,26±0,21	86,17±5,11	70,42±4,12	71,85±4,31
M	5,42±0,61	54,79±3,76	48,13±2,10	49,05±1,07*
G	16,82±0,17	685,23±18,16	524,13±11,40	536,13±8,34

ной группе – 76,23 г/л, во 2 опытной группе – 77,05 г/л. Разница по содержанию общего белка в сыворотке крови достоверна $P < 0,01$.

В контрольной группе содержание альбуминов в сыворотке крови увеличилось по сравнению с периодом новорожденности на 2,82 г/л, в 1 опытной группе – на 8,51 г/л и во 2 опытной группе – на 8,67 г/л.

Количество α-глобулинов в сыворотке крови животных 2 опытной группы составило 17,2 г/л, что на 0,04 г/л больше, чем в 1 опытной группы и на 2,58 г/л больше, чем в контрольной группе. У телят контрольной группы содержание β-глобулинов в сыворотке крови больше, чем у телят 1 и 2 опытных групп на 2,29 и на 2,31 г/л, соответственно. Содержание в сыворотке крови γ-глобулинов у животных к 3-месячному возрасту составило в контрольной группе 20,04 г/л, что больше, чем показатель при рождении на

5,17 г/л, у животных 1 опытной группы больше на 7,96 г/л, а у животных 2 опытной группы – на 8,60 г/л больше.

Содержание в сыворотке крови иммуноглобулина G в контрольной группе в 3-месячном возрасте составила 685,23 мг/мл, что на 161,1 мг/мл больше, чем у животных 1 опытной группы и на 149,1 мг/мл больше, чем у животных 2 опытной группы. Разница между показателями опытных групп и контроля значимо достоверна $P > 0,001$.

Содержание иммуноглобулинов G к 3-месячному возрасту увеличивается в 35-37 раз по сравнению с показателем после рождения, что по видимому указывает на приспособление организма телят к условиям кормления и содержания, а так же на степень их реакции на воздействие экзогенных и эндогенных факторов.

Динамика живой массы исследуемых групп телок в разные периоды онтогенеза представлена в таблице 2.

Таблица 2

Динамика живой массы телок экспериментальных групп (M±m), кг

Возраст, месяцев	Группы животных		
	контрольная	опытная-1	опытная-2
При рождении	39,25±0,82	39,05±0,73	39,13±1,17
3 месяца	106,75±2,35	115,46±2,05*	116,16±1,87
6 месяцев	186,45±4,46	201,72±3,17*	203,84±4,33
9 месяцев	264,67±6,38	284,44±3,86*	286,46±5,13
12 месяцев	341,07±6,14	363,18±4,12*	367,62±5,20
Абсолютный прирост, кг	301,82	324,13	328,49

Анализом интенсивности роста телок исследуемых групп установлено, что животные контрольной группы по энергии роста уступали животным 1 и 2 опытных групп уже с 3-месячного возраста. Живая масса телок 2 опытной группы составила 116,16 кг, что на 9,41 кг больше, чем в контрольной группе и на 0,7 кг больше, чем в 1 опытной группе. В 12-месячном возрасте телки контрольной группы имели живую массу 341,07 кг, что на 22,11 кг меньше, чем у телок 1 опытной группы и на 26,55 кг меньше чем у телок 2 опытной группы. Абсолютный прирост живой массы к 12-месячному возрасту составил в контрольной группе 301,82 кг, а в 1 опытной – 324,13 кг, что на 22,31 кг больше, чем у сверстниц из контрольной группы. Снижение интенсивности роста телок контрольной группы подтверждается биохимическими показателями крови отражающих уровень обменных процессов в их организме.

На интенсивность обмена веществ у животных 1 и 2 опытных групп указывает показатель концентрации в сыворотке крови глюкозы на 0,86 и 0,31 ммоль, общего белка на 10,53 и 9,55 г/л, кальция на 0,24 и 0,26 ммоль/л, при снижении бета-глобулинов на 2,79 и 3,43% отражает интенсивность углеводного, белкового, минерального обмена веществ и степень их влияния на интенсивность роста живой массы животных во все изучаемые возрастные периоды по сравнению с контролем.

Биохимические показатели крови и живая масса у животных 1 и 2 опытных групп не имеют достоверных различий.

ВЫВОДЫ

Норма выпойки цельного молока телятам 360 кг в молочный период влияет на биохимические показатели крови, способствующие активизации окислительно-восстановительных процессов и метаболизма, что обеспечивает повышение энергии роста телят и указывает на оптимальность нормы выпойки цельного молока 360 кг телятам в молочный период при использовании престартерного, стартерного комбикорма с 3-месячного возраста кормосмеси (монокорм).

Weight dynamics and indicators of blood of calves depending on the rate of drinking of whole milk. Uslova I.V. -applicant department. anatomy, obstetrics and surgery, Baimischev N.B. -Doctor of Biological Sciences, prof (FSBEI HE «Samara State Agrarian University»).

ABSTRACT

The purpose of the work is to increase the intensity of calves growth in relation to blood parameters, taking into account the rate of drinking the whole milk, during the dairy period of their rearing. In order to conduct research of newborn calves of the first day of life, three groups were formed (control, 1-experimental, 2-experimental) of 12 heads in each, observing the principle of analog pairs by age, live weight, linearity, and also taking into account blood counts at birth. The control group of calves received whole milk - 5 kg per day, total - 300 kg, the first experimental group - 6 kg, total - 360 kg, the second - 7 kg, total - 420 kg. All calves of the studied groups were kept in the same conditions of feeding and keeping.

Blood was taken from the studied groups of animals at birth and at the age of 3 months for the study of morphological and biochemical parameters in relation to the intensity of their growth. It was found that an increase in the drinking rate of the whole milk from 300 kg to 60.120 kg increases the content of total protein in the blood serum - by 10.53 and 9.55 g / l, glucose - by 0.36 and 0.31 mmol / l, calcium - by 0.24 and 0.26 mmol / l, with a decrease in beta globulins by 2.79 and 3.43% and immunoglobulin G - by 161.1 and 149.1 mg / ml compared to the control. The indicators of the growth intensity of the heifers of the experimental groups at the age of 3 months by 8.71 and 9.41 kg, at the age of 12 months - by 22.31 and 26.55 kg exceeded their peers from the control group. The drinking rate of the whole milk of 360 kg during the dairy period of rearing r is optimal, as it improves the qualitative and quantitative parameters of blood and increases the growth rate of animals. The difference with the animals that received the whole milk drinking rate of 420 kg is not reliable and is within the arithmetic mean error.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аглютина, А. Р. Возрастные изменения морфологии крови телят из техногенной провинции Оренбуржья / А. Р. Аглютина, А. П. Жуков, И. В. Радаев // Вестник Оренбургского ГАУ. – 2006. – С. 91-94.
2. Батанов, С. Взаимосвязь состава крови телят с интенсивностью их роста и развития / С. Батанов, Г. Березкина // Молочное и мясное скотоводство. – 2004. – № 7. – С. 41-42.
3. Бушуев, А. Е. Технология выращивания ремонтного молодняка молочного периода в условиях ООО «Грофирма Уральская» / А. Е. Бушуев, О. В. Горелик // Молодежь и наука. – 2017. – №4. – С. 29-31.
4. Головань, В. Т. Условия выращивания телят молочных пород скота / В. Т. Головань, Д. А. Юрин, А. В. Кучерявенко // Сельскохозяйственные науки. – 2016. – №4. – С. 52-57
5. Григорьева, К. В. Технология направленного выращивания ремонтных телок в ЗАО «Агрофирма «Патруши» / К. В. Григорьева, Д. М. Галиев // Молодежь и наука. – 2018. – №4. – С. 29-33.
6. Землянухина, Т. Н. Морфологические показатели крови и естественная резистентность телят при разных методах выращивания // Вестник Алтайского ГАУ. – 2016. – №1(135). – С. 117-120.
7. Ламонов, С. А. Совершенствование выращивания ремонтных телок и их последующая молочная продуктивность / С. А. Ламонов, Р. А. Ламонова, И. В. Пересыпкин // Современные технологии в животноводстве: проблемы и пути их решения : Материалы Международной научно-практической конференции. – Мичуринск, 2017. – С. 185-190.
8. Романенко, А. Ю. Выращивание телят при разном способе выпаивания молозива // Зоотехния. – 2013. – №1. – С. 14-16.
9. Claus, J. Bedeutung routinemäßig erhobener Fruchtbarkeitsdaten in der Milchrinderzucht // Albrechts-Univ. Agrarwissenschaftl. Fachbereichs Schriftenreihe, 2009. – P. 109-119.
10. Mayer, E. Production laitière, haute production et fécondité // 9 e congress international sur les maladies du betail. Rap-

УДК 619

К ВОПРОСУ ОБ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СОБАК

Краснолобова Е.П. - к.в.н, доц.каф. анатомии и физиологии, Череменина Н.А. – к.б.н.,
доц.каф.анатомии и физиологии, Гефель С.А. - студент
ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья

Ключевые слова: морфология, аденокарцинома, предстательная железа, новообразования, собаки, этиология, распространенность. **Keywords:** morphology, adenocarcinoma, prostate gland, neoplasms, dogs, etiology, prevalence.



РЕФЕРАТ

Целью исследования является изучение этиологических и морфологических особенностей аденокарциномы предстательной железы собак, в связи с тем, что проблемы репродуктивной системы животных имеют широкое распространение на сегодняшний день и большинство хозяев не считает проводить ветеринарные манипуляции своим питомцам. Не своевременное оказание ветеринарных мероприятий влияет на состояние репродуктивной системы, в дальнейшем все это приводит к гиперпластическим, метапластическим и неопластическим изменениям органов половой системы. Для проведения исследований было клинически обследовано более 170 животных (собак), животным проводили осмотр, ультразвуковое исследование органов половой системы, цитологическое и гистологическое исследование. Все полученные данные подвергли вариативной статистической обработке с использованием компьютерных программ. По результатам исследований было выявлено, что довольно большое количество зарегистрированных заболеваний приходится на болезни предстательной железы около 46 %, далее с меньшим процентом выявлено новообразования наружных половых органов и ещё меньше опухоли семенников. Так же не маловажным аспектом исследований является возрастная предрасположенность собак к опухолям. При более глубоком и детальном исследовании выявлено, что аденокарцинома предстательной железы представляет собой бугристое образование, неоднородной консистенции с кистозными полостями, белого цвета на разрезе, гистологическими особенностями является то, что клетки образуют большие ячейковидные концевые отделы, заполненные сосочковыми выступами железистого эпителия. Опухолевые клетки различной формы и продуцируют слизь. Метастазы поражают органы пищеварительной, дыхательной и выделительной систем, лимфатические узлы.

ВВЕДЕНИЕ

Проблемы онкологии в настоящее время в центре внимания ветеринарной науки. В патологии организма злокачественные новообразования представляют собой одну из сложнейших проблем, а борьба с опухолевой болезнью является самой актуальной задачей на сегодняшний день [1,2,4].

Проблемы репродуктивной системы у

собак имеют широкое распространение на сегодняшний момент, т.к. большинство хозяев не считает необходимым проводить кастрацию кобелям. Однако случаи у таких животных, кроме высокоценных производителей, являются редкостью и к 6-8 годам многие остаются неразвязанными, что отрицательно влияет на всю репродуктивную систему. Все это приводит к гиперпластическим, метапластиче-

ским и неопластическим изменениям в семенниках и половых железах, особенно в предстательной железе [5,6,7].

Цель исследования: Изучить этиологические и морфологические особенности аденокарциномы предстательной железы собак.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-исследовательская работа выполнялась в 2020-2021 гг. на кафедре анатомии и физиологии ФГБОУ ВО "ГАУ Северного Зауралья", а также в производственных условиях на базе ветеринарных клиник города Тюмени. В ходе работы было клинически обследовано 179 собак,

из них с новообразованиями репродуктивной системы 13, с аденокарциномой простаты - 6. Животным проводили осмотр, УЗИ органов репродуктивной системы, цитологическое и гистологическое исследование. Фиксацию полученного материала и гистологические исследования проводили по общепринятым методикам [3,8]. Установленные числовые данные подвергали вариативной статистической обработке по Стьюденту с использованием Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении распространённости опухолей среди собак (рис. 1.) было выяв-

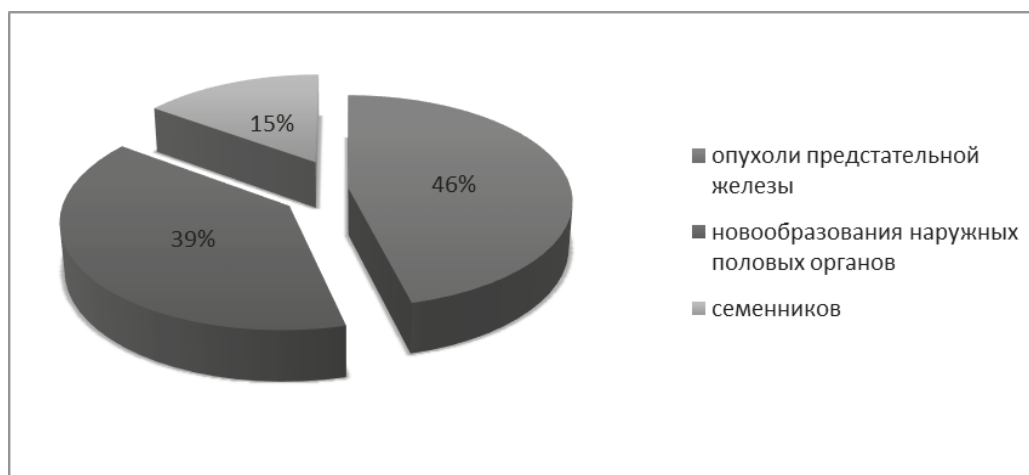


Рис. 1– распространённость опухолей репродуктивной системы.

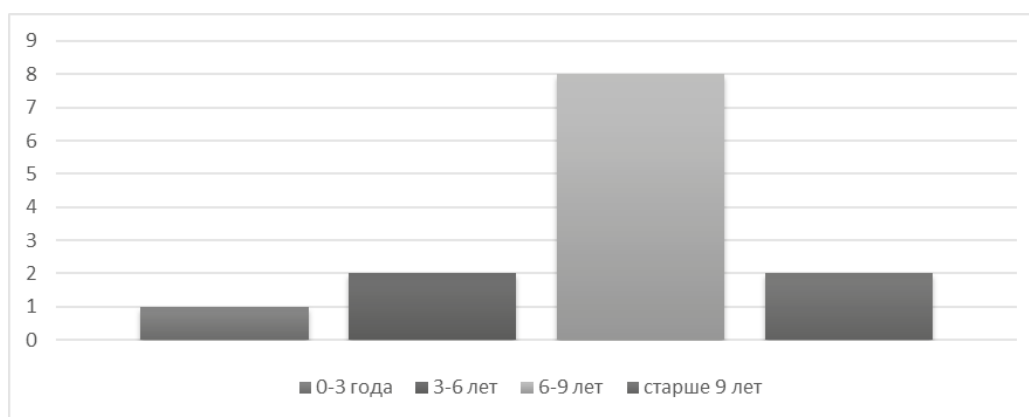


Рис. 2 – возрастная динамика проявления опухолей репродуктивной системы собак



Рис. 3 - Аденокарцинома предстательной железы на разрезе

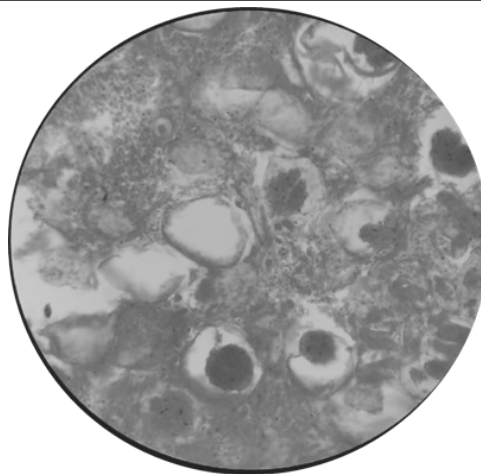


Рис. 4 гистологическая картина аденокарциномы предстательной железы собаки, окраска гематоксилин-эозином, ув. X400

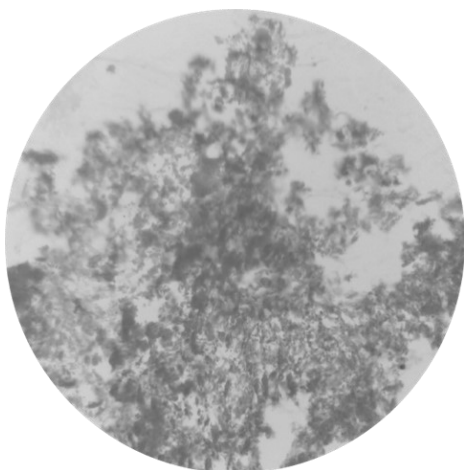


Рис. 5 - метастатическое поражение легких, окраска гематоксилин-эозином, ув. x 200

лено, что чаще всего встречаются:
опухоли предстательной железы - 46%,
новообразования наружных половых органов (в основном представленные трансмиссивной венерической саркомой) – 39%, опухоли семенников - 15%.

При изучении возрастной предрасположенности собак к опухолям репродуктивной системы, было выявлено, что сре-

ди животных превалирует возрастная категория от 6 до 9 лет (рис. 2.).

При изучении макрокартины было выяснено, что предстательная железа увеличена в объеме в 1,5-3раза, в зависимости от степени разрастания образования и объема содержащейся в ней кистозных полостей. Сама аденокарцинома предстательной железы представляет собой бугристое образование, неоднородной консистенции с кистозными полостями (у разных животных от 2 до 15шт), белого цвета на разрезе, неоднородная по структуре (рис. 3). Кистозные полости заполнены однородной жидкостью соломенного цвета.

При гистологическом исследовании патологического материала было выявлено, что клетки образуют большие альвеолы, заполненные сосочковыми выступами железистого эпителия. Опухолевые клетки округлые или кубовидные; некоторые вакуолизированы и продуцируют слизь. Ядра умеренно гиперхроматичны, присутствуют митотические фигуры (рис.4).

При исследовании органов-мишеней для метастазирования аденокарциномы предстательной железы, были выявлены метастатические поражения в легких (рис.5), семенниках, регионарных лимфо-

узлах, печени, а также единичный случай метастазирования на кожные покровы.

Метастатические поражения макроскопически были белого цвета, неоднородные по консистенции. В легких метастазы были плотные, что выделяло из общей структуры легочной ткани. В зависимости от степени проявления легкие были поражены по-разному: от единичных включений до тотального вовлечения практически 70% легочной паренхимы. В печени метастатические проявления выявлялись слабо, небольшими белыми очагами, в одном случае только при микроскопическом исследовании. Метастатическое поражение в коже проявлялось незаживающей язвой с сукровичными выделениями. Все это связано с гематогенным и лимфогенным путями метастазирования данного вида опухоли.

ВЫВОДЫ

В результате анализа полученных результатов были сделаны следующие выводы:

1. Чаще всего регистрируются опухоли предстательной железы 46%, на втором месте – новообразования наружных половых органов – 39%, опухоли семенников занимают 15%. Больше всего поражаются животные в возрасте от 6 до 9 лет.

2. Аденокарцинома предстательной железы представляет собой бугристое образование, неоднородной консистенции с кистозными полостями, белого цвета на разрезе. Гистологическими особенностями является то, что клетки образуют большие альвеолы, заполненные сосочковыми выступами железистого эпителия. Опухолевые клетки округлые или кубовидные; некоторые вакуолизированы и продуцируют слизь. Ядра умеренно гиперхроматичны, присутствуют митотические фигуры. Метастазы поражают печень, семенники, лимфатические узлы, легкие и кожу.

TO THE QUESTION ABOUT PROSTATE ADENOCARCINOMA IN DOGS.
Krasnolobova E.P. - Ph.D., Associate Professor of the Department of Anatomy and Physiology . Cheremenina N.A. - Ph.D., Associate Professor of the Department of Anatomy and Physiology, Gefel S.A. stu-

dent FSBEI HE GAU Northern Trans-Urals ABSTRACT

The aim of the study is to study the etiological and morphological features of adenocarcinoma of the prostate gland in dogs, due to the fact that the problems of the reproductive system of animals are widespread today and most owners do not consider carrying out veterinary manipulations with their pets. Lack of timely provision of veterinary measures affects the state of the reproductive system, in the future, all this leads to hyperplastic, metaplastic and neoplastic changes in the organs of the reproductive system. To conduct the research, more than 170 animals (dogs) were clinically examined, the animals were examined, ultrasound examination of the reproductive system, cytological and histological studies. All the data obtained were subjected to variable statistical processing using computer programs. According to the research results, it was revealed that a fairly large number of registered diseases accounted for about 46% of prostate diseases, then, with a smaller percentage, neoplasms of the external genital organs and even less testicular tumors were detected. Also, an important aspect of research is the age-related predisposition of dogs to tumors. A deeper and more detailed study revealed that adenocarcinoma of the prostate is a tuberos formation, of a heterogeneous consistency with cystic cavities, white in the section, histological features are that the cells form large cell-shaped end sections filled with papillary protrusions of the glandular epithelium. Tumor cells are of various shapes and produce mucus. Metastases affect the organs of the digestive, respiratory and excretory systems, lymph nodes. The aim of the study is to study the etiological and morphological features of adenocarcinoma of the prostate gland in dogs, due to the fact that the problems of the reproductive system of animals are widespread today and most owners do not consider carrying out veterinary manipulations with their pets. Lack of timely provision of veterinary measures affects the state of the reproductive system, in the future, all this leads to hyperplastic, metaplastic and neoplastic changes in the organs of

the reproductive system. To conduct the research, more than 170 animals (dogs) were clinically examined, the animals were examined, ultrasound examination of the reproductive system, cytological and histological studies. All the data obtained were subjected to variable statistical processing using computer programs. According to the research results, it was revealed that a fairly large number of registered diseases accounted for about 46% of prostate diseases, then, with a smaller percentage, neoplasms of the external genital organs and even less testicular tumors were detected. Also, an important aspect of research is the age-related predisposition of dogs to tumors. A deeper and more detailed study revealed that adenocarcinoma of the prostate is a tuberous formation, of a heterogeneous consistency with cystic cavities, white in the section, histological features are that the cells form large cell-shaped end sections filled with papillary protrusions of the glandular epithelium. Tumor cells are of various shapes and produce mucus. Metastases affect the organs of the digestive, respiratory and excretory systems, lymph nodes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вахрушева, Т. И. Онкология : учебное пособие / Т. И. Вахрушева. — Красноярск : КрасГАУ, 2018. — 330 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/130063>

2. Гурова, С. В. Морфология. Гистология :

учебное пособие / С. В. Гурова. — Пермь : ПГАТУ, 2020. — 172 с.

3. Краснолобова Е.П. К вопросу поиска аналога формалина как фиксатора биологических объектов / Краснолобова Е.П., Козлова С.В., Веремеева С.А. // АПК: инновационные технологии. - 2018. - №1. - С. 13-19.

4. Краснолобова Е.П. Состояние здоровья домашних животных в связи с пандемией коронавируса SARS-COV-19 / Краснолобова Е.П., Гончаренко О.Н., Сидорова К.А., Щипакин М.В. // Международный вестник ветеринарии. 2020. № 4. С. 154-159.

5. Нафиева А.И. Химиотерапия в комплексе с нестероидными противовоспалительными препаратами гериатрических собак и кошек с онкологическими заболеваниями репродуктивной системы: дисс. ... канд.ветер.наук – Казань, 2017. – 144с.

6. Татарникова, Н.А. Влияние канцерогенных факторов окружающей среды на развитие онкологических заболеваний у животных / Н.А. Татарникова, М.Г. Чегодаева // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2013. — № 5. — С. 92-94

7. Тимофеев С.В. Опухоли органов репродуктивной системы у собак / Тимофеев С.В., Голубцова Н.В., Кузьмичева Е.В. // Ветеринария. 2006. № 9. С. 50-51.

8. Хонин, Г.А. Морфологические методы исследования в ветеринарной медицине / Г.А. Хонин, С.А. Барашкова, В.В. Семченко. - Омск: Омская областная типография, 2004. - 198 с.

УДК 636.932.3:57.017.645::591.412

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.168

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА НУТРИЙ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Данников С.П.-к.биол.н., доц. каф. физиологии, хирургии и акушерства
Квочко А.Н.-проф., д.биол.н. зав. каф. физиологии, хирургии и акушерства
ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ»

Ключевые слова: нутрии, сердце, морфометрия, постнатальный онтогенез, кардиомиоциты, ядерно-цитоплазматическое отношение. **Key words:** nutria, heart, morphometry, postnatal ontogenesis, cardiomyocytes, nuclear-cytoplasmic ratio.



РЕФЕРАТ

Изучены макро- и микроморфометрические особенности сердца 50 клинически здоровых нутрий женского и мужского пола стандартного окраса клеточного содержания в возрасте 1 сутки, 2 месяца, 4,5 месяца, 7,5 месяцев и 1 год. Установлено, что размеры сердца с 1 дня и до годовалого возраста увеличивается, проявляя разную степень различий между исследуемыми возрастными группами. При этом длина сердца у нутрий женского и мужского пола увеличивается от $1,98 \pm 0,04$ до $4,04 \pm 0,12$ см. и $1,83 \pm 0,05$ до $4,60 \pm 0,18$ см., ширина – от $1,53 \pm 0,04$ до $3,34 \pm 0,14$ см. до $1,50 \pm 0,03$ до $3,49 \pm 0,13$ см. и толщина от $0,93 \pm 0,02$ до $2,11 \pm 0,06$ см. до $0,90 \pm 0,02$ до $2,22 \pm 0,05$ см. соответственно. У нутрий мужского пола с 4,5 месяцев до 1 года жизни длина сердца оказалась достоверно больше, чем у особей женского пола, при этом в значениях ширины и толщины сердца достоверных половых различий не выявлено. Индекса формы сердца у нутрий во всех возрастных группах не имеет достоверных половозрастных различий и находится в пределах от $76,07 \pm 2,62\%$ до $84,25 \pm 2,89\%$, что свидетельствует о его шаровидной форме. Ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) кардиомиоцитов у нутрий женского и мужского пола с 1 суток до 4,5 месяцев достоверно уменьшается, а в последующие возрастные периоды достоверно не изменяется. У нутрий женского пола ЯЦО кардиомиоцитов в постнатальном онтогенезе находится в пределах от $0,065 \pm 0,005$ до $0,019 \pm 0,002$ у.е., а у особей мужского пола – от $0,074 \pm 0,004$ до $0,019 \pm 0,002$ у.е. Половые различия ЯЦО кардиомиоцитов нутрий регистрируются только в возрасте 1 суток, при этом у особей женского пола этот показатель оказался меньше, чем у особей мужского пола.

ВВЕДЕНИЕ

Нутрии – это полуводные грызуны родом из Южной Америки, которые широко распространены по всему миру, являясь в одних регионах ценным объектом звероводческой отрасли животноводства [5, 11, 16], а в других – инвазивным интродуцентом, наносящим значительный ущерб прибрежным экосистемам [13, 15]. Это актуализирует необходимость направленного вмешательства в здоровье, продуктивность и вос-

производство этого вида животного. Сердце обеспечивает один из ключевых механизмов лежащего в основе жизнедеятельности любого позвоночного животного – обеспечение тока крови по сосудам, а его рост и развитие отражает характер адаптации и функциональных резервов организма на различных этапах индивидуального развития [9, 10].

Функция развивающегося сердца диктуется изменениями в его морфологии и наоборот, даже после септации во

внутриутробном и раннем постнатальном онтогенезе происходят значительные изменения морфофункциональных характеристик сердца [17]. Во время индивидуального развития организма кровообращение устанавливается, когда эмбрион начинает проявлять трехмерную организацию тканей и, соответственно, сердце является первым функционирующим органом в пренатальном периоде развития [12].

Изменения окружающей среды и эволюция в значительной мере изменяют структуры и функции сердечно-сосудистых систем позвоночных животных формируя широкий диапазон видовых различий, которые при изучении того или иного биологического вида требуют своих конкретизаций [14].

В связи с вышеизложенным и отсутствием исследований по вопросам постнатального морфогенеза сердца нутрий, цель настоящей работы – изучить макро- и микроморфологические особенности сердца самок и самцов нутрий в постнатальном онтогенезе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили 50 клинически здоровых самок и самцов нутрий стандартного окраса в возрасте 1 сутки, 2 месяца, 4,5 месяца, 7,5 месяцев и 1 год. Объем выборки в каждой возрастной группе составил 5 самок и 5 самцов.

У самок и самцов нутрий разных возрастных групп определяли массу тела путем взвешивания, значения которой в последующем использовали при расчете относительной массы сердца.

Для изучения морфометрических показателей сердца проводили эвтаназию нутрий в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. У особей женского и мужского пола каждой возрастной группы извлекали сердце с дальнейшим измерением длины сердца, ширины и толщины, удалив освободив его предварительно от сосудов и перикарда. Индекс формы сердца, рассчитывали согласно рекомендациям И.И. Бабич (1988) [1] и апробированном у

различных млекопитающих в работах С.М. Завалеевой (1996) [4], Е.Н. Чирковой (2009) [8], В.В. Гриб с соавт. (2014) [2], Р.А. Жилина (2017) [3] и других ученых по формуле, где x – индекс формы сердца, b – ширина сердца, l – длина сердца. При индексе формы сердца до 65% форма сердца считалась конусовидной, до 75% – эллипсовидной, более 75% – шаровидной.

Для гистологических исследований кусочки миокарда с фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина с последующим приготовлением гистологических препаратов и их окраской гематоксилином и эозином согласно рекомендациям В.В. Семченко с соавт. (2006) [7].

С каждого гистологического препарата при увеличении в 400 раз выполняли по 10 цифровых снимков случайно выбранных полей зрения и помощью 100 точечной стереометрической сетки Г.Г. Автандилова в каждом цифровом снимке проводили определение доли ядер и цитоплазмы кардиомиоцитов с последующим математическим расчетом ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО).

Числовые данные обработаны с помощью однофакторного дисперсионного анализа и множественного сравнения Ньюмена – Кейлса в программе Primer of Biostatistics 4.03. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При морфометрическом анализе размеров сердца нутрий установлено (табл. 1), что длина сердца нутрий женского и мужского пола с 1-суточного до 2-х месячного возраста достоверно увеличивается на 24,75% и 28,96%. В возрастной период от 2-месячного до 4,5-месячного возраста этот показатель возрастает на 34,41% и 52,12%. С 4,5 до 7,5 месяцев жизни длина сердца нутрий увеличивается на 10,54% и 14,76%, а с 7,5-месячного до годовалого возраста на 10,08% и 11,65% соответственно.

Между нутрий одной возрастной группы с разной половой принадлежностью достоверные различия длины сердца выявлены только в 4,5, 7,5-месячном и годовалом возрасте, при этом у особей

Таблица 1
Размеры сердца нутрий разных половозрастных групп

Пол	Возраст				
	1 сут. M±m	2 мес. M±m	4,5 мес. M±m	7,5 мес. M±m	1 год. M±m
Длина, см					
Ж (n=5)	1,98±0,04	2,47±0,07*	3,32±0,05* #	3,67±0,11*#	4,04±0,12*#
М (n=5)	1,83±0,05	2,36±0,02*	3,59±0,03*	4,12±0,06*	4,60±0,18*
Ширина, см					
Ж (n=5)	1,53±0,04	1,94±0,05*	2,70±0,07*	3,08±0,04*	3,34±0,14,
М (n=5)	1,50±0,03	1,90±0,06*	2,91±0,08*	3,14±0,09	3,49±0,13*
Толщина, см					
Ж (n=5)	0,93±0,02	1,26±0,03*	1,73±0,02*	1,84±0,05	2,11±0,06*
М (n=5)	0,90±0,02	1,24±0,03*	1,79±0,04*	1,94±0,07*	2,22±0,05*

*Примечание: Ж – особи женского пола; М – особи мужского пола.
Статистическая значимость (достоверность) различий при $p < 0,05$: с более ранним возрастом обозначена *; у особей женского пола по сравнению с мужским одного возраста - #.*



Рис. 1. Репрезентативное сердце. Самка нутрии в возрасте 1 год.

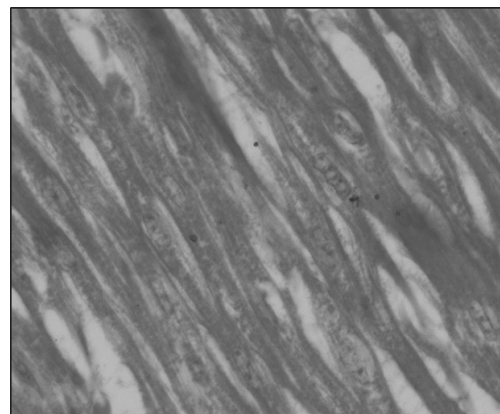


Рис. 2. Кардиомиоциты. Самец нутрии в возрасте 2 месяца. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 400.

мужского поладанный показатель оказался больше, чем у особей женского пола на 8,13%, 12,26% и 13,86% соответственно.

Ширина сердца нутрий с 1 дня и до 2 месяцев жизни достоверно увеличивается на у особей женского пола на 26,80%, а у особей мужского пола на 26,67%. В возрастной период от 2 до 4,5 месяцев данный показатель также достоверно возрастает у особей женского пола на 39,18%, а у осо-

бей мужского пола на 53,16%. Достигая 7,5-месячного возраста ширина сердца достоверно увеличивается только у нутрий женского пола на 14,07%, а достигая возраста 1 год, наоборот, - только у нутрий мужского пола на 11,15%, в сравнении с предыдущим возрастом.

Между самками и самцами нутрий одной возрастной группы ширина сердца достоверно не изменяется.

Таблица 2

Ядерно-цитоплазматическое отношение кардиомиоцитов нутрий разных половозрастных групп, у.е.

Пол	Возраст				
	1 сут. M±m	2 мес. M±m	4,5 мес. M±m	7,5 мес. M±m	1 год. M±m
Ж (n=30)	0,065±0,005#	0,045±0,005*	0,029±0,002*	0,022±0,002	0,019±0,002
М (n=30)	0,074±0,004	0,048±0,005*	0,025±0,002*	0,026±0,002	0,019±0,002

Примечание: Ж – особи женского пола; М – особи мужского пола.

*Статистическая значимость (достоверность) различий при $p < 0,05$: с более ранним возрастом обозначена *; у особей женского пола по сравнению с мужским одного возраста - #.*

Толщина сердца нутрий с 1 суток до 2 месяцев жизни достоверно увеличивается у особей женского и мужского пола на 35,48% и на 37,78% соответственно. В возрастной период от 2 до 4, 5 месяцев данный показатель продолжает достоверно возрастать у особей женского пола на 37,30%, а у особей мужского пола на 44,36%. При достижении 7,5-месячного возраста толщина сердца нутрий достоверно увеличивается лишь у особей мужского пола на 8,38%, в сравнении с предыдущим возрастом. К 1-летнему возрасту данный показатель возрастает уже как у особей женского, так и у особей мужского пола на 14,67% и 14,43% соответственно, в сравнении с предыдущим возрастом.

При помощи методики визуографического определения индекса формы сердца, его средние значения у нутрий всех возрастных групп находится в пределах от 76,07±2,62% до 84,25±2,89% и не имеет достоверных половозрастных различий. Это свидетельствует о том, что форма сердца нутрий (рис 1.) относится к шаровидной, что согласуется с данными Д. И. Назарова с соавт. (2014) [6].

При расчете ЯЦО кардиомиоцитов нутрий (рис. 2) установлено (табл. 2), что этот показатель с 1 дня до 2 месяцев жизни достоверно уменьшается у особей женского пола на 44,44%, а у особей мужского пола на 54,17%. В возрастной период от 2 до 4,5 месяцев жизни ЯЦО кардио-

миоцитов у нутрий женского и мужского пола вновь достоверно снижается на 55,17% и 92,00% соответственно, при этом между последующими периодами постнатального развития достоверных различий по данному показателю не выявлено.

При сравнении ЯЦО кардиомиоцитов между нутриями одной возрастной группы с разной половой принадлежностью достоверные различия выявлены только в 1-суточном возрасте, при этом данный показатель у особей женского пола оказался меньше, чем у особей мужского пола на 13,85%.

ВЫВОДЫ

Размеры сердца (длина, ширина и толщина) с 1 дня и до годовалого возраста увеличивается, проявляя разную степень различий между исследуемыми возрастными группами. У нутрий мужского пола с 5,5 до 1 года жизни длина сердца оказалась достоверно больше, чем у особей женского пола, при этом в значениях ширины и толщины сердца достоверных половых различий не выявлено.

Индекс формы сердца у нутрий во всех возрастных группах не имеет достоверных половозрастных различий и находится в пределах от 76,07±2,62% до 84,25±2,89%, что свидетельствует о его шаровидной форме.

ЯЦО кардиомиоцитов у нутрий женского и мужского пола с 1 суток до 4,5

месяцев жизни достоверно уменьшается, а в последующие возрастные периоды достоверно не изменяется. Половые различия ЯЦО кардиомиоцитов внутри регистрируются только в возрасте 1 суток, при этом у особей женского пола этот показатель оказался меньше, чем у особей мужского пола.

Morphometric parameters of the heart of the nutria in postnatal ontogenesis. Dan-nikov S. P.-PhD of Biological Sciences, Kvochko A. N.- Doctor of Biological Sciences, department chair of Physiology, Surgery and Obstetrics. FGBOU VO "Stavropol State Agrarian University
ABSTRACT

The macro- and micromorphometric features of the heart of 50 clinically healthy female and male nutria of standard cell color at the age of 1 day, 2 months, 4,5 months, 7,5 months and 1 year were studied. It was found that the size of the heart increases from 1 day to one year of age, showing different degrees of differences between the studied age groups. The length of the heart in female and male nutria increases from $1,98 \pm 0,04$ to $4,04 \pm 0,12$ cm. and $1,83 \pm 0,05$ to $4,60 \pm 0,18$ cm., width - from $1,53 \pm 0,04$ to $3,34 \pm 0,14$ cm. to $1,50 \pm 0,03$ to $3,49 \pm 0,13$ cm. and a thickness of $0,93 \pm 0,02$ to $2,11 \pm 0,06$ cm. to $0,90 \pm 0,02$ to $2,22 \pm 0,05$ cm., respectively. In male nutria from 4,5 months to 1 year of age, the length of the heart was significantly greater than in females, with no significant gender differences in the values of width and thickness of the heart. The heart shape index in nutria in all age groups has no significant sex-age differences and is in the range from $76,07 \pm 2,62\%$ to $84,25 \pm 2,89\%$, which indicates its spherical shape. The Nuclear-cytoplasmic relationship (NCR) of cardiomyocytes in female and male nutria decreases significantly from 1 day to 4,5 months, and does not change significantly in subsequent age periods. In female nutria, the NCR of cardiomyocytes in postnatal ontogenesis is in the range from $0,065 \pm 0,005$ to $0,019 \pm 0,002$ c.u., and in males - from $0,074 \pm 0,004$ to $0,019 \pm 0,002$ c.u. Sexual differences of NCR of nutria

cardiomyocytes are registered only at the age of 1 day, at the same time at females this indicator appeared less, than at males.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабич, И.И. Оперативные доступы при аутоотрансплантации селезеночной ткани у детей / И.И. Бабич – Текст: непосредственный // Сб. науч. Трудов. Функциональная морфология сердечно-сосудистой системы. - Ростов-на-Дону: Ростовск. Орден дружбы народов мед. инст. – 1988. – С. 18-19.
2. Гриб, В.В. Морфологические особенности сердца и легких нетопыря малого (*pipistrellus pygmaeus*) / В.В. Гриб, Е.Н. Зайцева, Е.В. Зайцева, И.Л. Прокофьев – Текст: непосредственный // Вестник Брянского государственного университета. – 2014. – № 4. – С. 76-79.
3. Жилин, Р.А. Морфологические параметры сердца диких кошачьих Приморского края: дис. ... канд. вет. наук / Р.А. Жилин – Текст: непосредственный – Улан-Удэ. – 2017. – 147 с.
4. Завалева, С.М. Сравнительная морфология миокарда позвоночных: автореф. дис. ... д-ра. биол. наук / С.М. Завалева – Текст: непосредственный – Москва, 1996. – 35 с.
5. Калюжная, Т.В. К вопросу о пищевой ценности мяса нутрии / Т.В. Калюжная – Текст: непосредственный // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. – №3. – С. 197-199.
6. Назарова, Д.И. Морфологічна характеристика серця нутрії / Д.І. Назарова, С.Б. Крамар, М.Ю. Жаріковс співавт. – Текст: непосредственный // Морфологія. – 2014. – Т. 8, № 1. – С. 65-68.
7. Семченко, В.В. Гистологическая техника: учебное пособие / В.В. Семченко, С.А. Барашкова, В.Н. Ноздрин, В.Н. Артемьев. – 3-е изд. доп. и перераб. – Омск-Орел: Омская областная типография, 2006. – 290 с.
8. Чиркова, Е.Н. Морфология сердца и его внутренних структур млекопитающих разных экологических групп: дис. ... канд. биол. наук / Е.Н. Чиркова – Текст: непосредственный – Оренбург, 2009. – 165 с.
9. Andrés-Delgado, L. Interplay between cardiac function and heart development / L. Andrés-Delgado, N. Mercader – Текст: непосредственный // Biochimica et biophysica acta. – 2016. – Vol. 1863, № 7 Pt B. – P. 1707-1716.

10. Battista, N.A. Fluid dynamics in heart development: effects of hematocrit and trabeculation / N.A. Battista, A.N. Lane, J. Liu, L.A. Miller – Текст: непосредственный // *Mathematical medicine and biology: a journal of the IMA.* -2018. – Vol. 35, №4. – P. 493-516.
11. Beutling, D. The breeding of nutria in Poland: Production of nutria fur and meat - Status and prospects / D. Beutling, R. Cholewa – Текст: непосредственный // *Fleischwirtschaft – Frankfurt.* – 2010. – Vol. 90, №11. – P. 75-78.
12. Eisenberg, L.M. Cellular recruitment and the development of the myocardium / L.M. Eisenberg, R.R. Markwald – Текст: непосредственный // *Developmental biology.* – 2004. – Vol. 274, №2. – P. 225-232.
13. Hilts, D.J. Climate change and nutria range expansion in the Eastern United States / D.J. Hilts, M.W. Belitz, T.M. Gehring [et al.] – Текст: непосредственный // *Journal of Wildlife Management.* – 2019. – Vol. 83, №3. – P. 591-598.
14. Katano, W. Cardiac septation in heart development and evolution / W. Katano, Y. Moriyama, J.K. Takeuchi, K. Koshiba-Takeuchi – Текст: непосредственный // *Development, growth and differentiation.* – 2019. – Vol. 61, №1. – P. 114-123.
15. Kim, Y.C. Distribution and management of nutria (*Myocastor coypus*) populations in South Korea / Y.C. Kim, A. Kim, J. Lim [et al.] – Текст: непосредственный // *Sustainability.* – 2019. – Vol. 11, №15. – P. 4169.
16. Nemeček, T. Effect of sex on growth, biochemical and haematological parameters of blood, carcass value and meat quality in nutrias (*Myocastor coypus*) / T. Nemeček, E. Tumová, D. Chodová – Текст: непосредственный // *Czech Journal of Animal Science.* – 2019. – Vol. 64, №4. – P. 166-173.
17. Sedmera, D. Function and form in the developing cardiovascular system / D. Sedmera – Текст: непосредственный // *Cardiovascular research.* – 2011. – Vol. 91, №2. – P. 252-259.

УДК: 579.62:612.33:615.37:636.2-053.2
DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.174

ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ТЕЛЯТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРОБИОТИКА НА ОСНОВЕ ШТАММА ENTEROCOCCUS FAECIUM L-3

Лебедев М.Н. – ассистент (orcid 0000-0002-3390-2014) (ФГБОУ ВО СПбГУВМ),
Ковалев С.П. – доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой клинической диагностики (orcid 0000-0001-9130-164x) (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Ключевые слова: пробиотик ики, Enterococcus Faecium L-3, энтерит, микрофлора, телята. **Key words:** probiotics, Enterococcus Faecium L-3, enteritis, microflora, calves.



РЕФЕРАТ

В настоящей работе было проведено изучение влияния пробиотического препарата на основе штамма микроорганизмов Enterococcus Faecium L-3 на 40 телятах черно-пестрой породы на микрофлору желудочно-кишечного тракта. Было установлено, что применение препарата телятам до полуторамесячного возраста, оказывает позитивное влияние на развитие микрофлоры кишечника у новорожденных телят и на организм животных в целом, повышая естественную резистентность. Так у телят 14-ти дневного возраста, получавших пробиотик было достоверно меньше количество общей бактериальной массы, Escherichia coli, Bacteroides fragilis group, чем в контрольной группе. К 30 – ти дневному возрасту тенденция к высокому содержанию Bacteroides fragilis group у телят, которым препарат не применяли, по сравнению с животными с пробиотической поддержкой группы сохранялась. Это наглядно указывает на то, что у телят, которые не получали пробиотический препарат, с возрастом естественным образом количество условно-патогенной микрофлоры увеличивалось, что способствовало развитию желудочно-кишечных расстройств, и в дальнейшем приводило к снижению продуктивных качеств животных.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие патологий желудочно-кишечного тракта имеет повсеместное распространение в нашей стране. Животные заболевают по ряду причин, в который входят неправильная эксплуатация, кормление, условия содержания, стрессовые факторы, несоблюдение зоогигиенических норм и инфекционные болезни [2,5,10]. Такие патологии не только снижают продуктивность, но и уменьшают срок хозяйственного использования животных с такими патологиями, что приносит значительные экономические потери производителям.

Сегодня применение ветеринарных бактериальных препаратов имеет место как в профилактике, так и в лечении расстройств желудочно-кишечного тракта. Молочнокислые бактерии и бифидобактерии положительно влияют на организм животных, способствуют

улучшению пищеварения, повышают неспецифическую резистентность организма, создают подходящие условия для развития нормофлоры, что описано современными авторами в исследованиях [1,3,6,8].

Исходя из этого, имеет большое значение поиск и применение новых пробиотиков, которые будут эффективно регулировать работу пищеварительного тракта телят, и тем самым в дальнейшем повышать их продуктивность.

Цель работы – выявить состав микрофлоры кишечника у телят разных возрастов при использовании препарата, в состав которого входят пробиотические молочнокислые бактерии штамма Enterococcus Faecium L-3.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основная работа по проведению ПЦР-исследования кала телят была организована на

Таблица 1

Показатели бактериологического исследования микрофлоры телят в 14 и 30-ти дневном возрасте (lgKOE/г)

Показатели	Возраст, дней	Группы животных	
		Подопытная (n=20)	Контрольная (n=20)
Общая бактериальная масса	14	9,80±1,80*	11,39±1,61
	30	9,87±1,82***	12,12±1,12
Bifidobacterium spp.	14	8,95±2,9	9,46±1,16
	30	8,39±1,91	8,20±1,25
Escherichia coli	14	6,46±0,77**	7,97±1,02
	30	6,84±1,07	6,98±0,98
Bacteroides fragilis group	14	9,83±1,77*	11,39±1,61
	30	9,87±1,82***	12,12±0,88
Faecalibacterium prausnitzii	14	7,45±1,15	8,09±1,62
	30	7,98±1,28	8,49±1,19

*Примечание: уровень достоверности * P < 0,05 – по сравнению с показателями животных, которые получали препарат (контрольная группа); ** P < 0,01 – по сравнению с показателями животных, которые получали препарат (контрольная группа); и *** P < 0,001 – по сравнению с показателями животных, которые получали препарат (контрольная группа).*

базе ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» в период с ноября 2018 по март 2021 гг.

Для данного исследования были отобраны телята, которые содержатся на территории ООО «Племенной завод «Бутры». При формировании 2 групп животных (контрольная и подопытная), которые включали в себя по 20 телят в каждой, учитывали их возраст, пол и живую массу.

Животным подопытной группы задавали пробиотический препарат на основе Enterococcus Faecium L-3 с рождения и до полуторамесячного возраста, в то время как телята контрольной группы не получали пробиотик. Все животные, которые участвовали в опыте, находились на стандартном рационе.

ПЦР-исследование кала проводилось на 14-й и 30-й дни жизни телят (Табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований установлено, что у телят 14-ти дневного возраста, получавших пробиотик было достоверно меньше количество общей бактериальной массы, чем в контрольной группе и составляло 9,8 ±1,8 lgKOE/г и 11,39±1,61 lgKOE/г (P<0,05), соответственно (Табл.1). Уровень общей бактериальной массы у телят месячного возраста под-

опытной группы также был достоверно ниже, чем у животных контрольной группы и составил 9,87±1,82 lgKOE/г и 12,12±1,12 (P<0,001), соответственно. Количество Escherichia coli у телят с пробиотической поддержкой двухнедельного возраста был достоверно меньше, чем у телят контрольной группы и составил 6,46±0,77 и 7,97±1,02 lgKOE/г (P<0,01), соответственно. Уровень Bacteroides fragilis group в подопытной группе 14-ти дневных телят был достоверно ниже, чем у телят, которые препарат не получали, и составил 9,83±1,77 lgKOE/г и 11,39±1,61 lgKOE/г (P<0,05), соответственно. В подопытной группе животных месячного возраста также было достоверно меньше Bacteroides fragilis group, чем в контрольной группе телят и составило 9,87±1,82 lgKOE/г и 12,12±0,88 lgKOE/г (P<0,001), соответственно. По таким показателям, как Bifidobacterium spp. и Faecalibacterium prausnitzii достоверных различий в показателях всех возрастных групп не было (P > 0,05).

ВЫВОДЫ

Таким образом, развитие биоценоза кишечника у телят обеих групп различается по составу микроорганизмов. Было выявлено, что у животных, без пробиотической поддержки, с возрастом естественным образом количество

условно-патогенной микрофлоры увеличивалось, что способствовало развитию желудочно-кишечных расстройств. Это наглядно указывает на то, что пробиотики обеспечивают подходящие условия для развития нормальной флоры и не допускают усиленно развиваться условно-патогенной микрофлоре.

INDICATORS OF INTESTINAL MICROFLORA OF CALVES WHEN USING A PROBIOTIC BASED ON THE STRAIN ENTEROCOCCUS FAECIUM L-3

Lebedev M.N. – Assistant, Kovalev S.P. - Doctor of Veterinary Sciences, Professor (FSBEI HE SPbGUVM)

ABSTRACT

The study of the effect of a probiotic preparation based on a strain of microorganisms based on the Enterococcus Faecium L-3 strain on 40 black-and-white calves. The effect of the drug on their microflora of the gastrointestinal tract was studied. It was found that the use of the drug to calves up to one and a half months of age has a positive effect on the development of the intestinal microflora in newborn calves and on the animal body as a whole, increasing natural resistance. So, in calves of 14 days of age who received the probiotic there was significantly less total bacterial mass, Escherichia coli, Bacteroides fragilis group than in the control group. By the age of 30 days, the tendency towards a high content of Bacteroides fragilis group in calves from the control group as compared with animals from the experimental group persisted. This clearly indicates that in calves that did not receive the probiotic preparation, the amount of opportunistic microflora naturally increased with age, which contributed to the development of gastrointestinal disorders.

1. ЛИТЕРАТУРА

2. Андреева, Н.Л. Алгоритм разработки комбинированных антидиарейных средств / Н.Л. Андреева, В.Д. Соколов // Международный вестник ветеринарии. – 2015. - № 3. – С. 18-23.
3. Иваненко, О. Ю. Лечебно-профилактическая эффективность пробиотического препарата при диспепсии телят / О. Ю. Иваненко, М. Г. Зухрабов, О. А. Грачева // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – Т. 215. – С. 137-141.

4. Ковалев, С.П. Клиническая диагностика внутренних болезней животных / Ковалев С.П., Курдеко А.П., Братушкина Е.Л. и др. – СПб: Лань, 2020. – 540 с.

5. Моторьгин, А.В. Определение качественного и количественного состава микроорганизмов при дисбактериозе кишечника у телят / А.В. Моторьгин, Е.М. Ленченко // Сельскохозяйственная биология. - 2011. - № 2. - С. 103-107.

6. Мусаева, М.Н. Способ лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят / М.Н. Мусаева // Ветеринарный врач. – 2016. - № 4. – С.32-36.

7. Трушкин, В. А. Влияние пробиотика "Ветом 1.1" на некоторые гуморальные показатели врожденного иммунитета у телят при энтероколитах / В.А. Трушкин,

А.А. Воинова, С.В. Васильев // Инновационное развитие. – 2018. – № 1(18). – С. 106-107.

8. Тараканов, Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта в организме животных / Б.В. Тараканов // Ветеринария. – 2007. - № 1. – С. 47-54.

9. Шкиль, Н.Н. Чувствительность микрофлоры у телят к различным антибактериальным средствам с учетом их длительного применения / Шкиль Н.Н. // Ветеринария и кормление. – 2012. - № 4. – С. 8-9.

10. Belousov, A.I., Morpho-boiochemical and immunohematologic features of calves infected with the agent of viral diarrhea / A.I. Belousov, E.N. Shilova, L.I. Drozdova, A.P. Poryvaeva // International Scientific and Practical Conference "Development of the Agro-Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad" (DAIC 2020). - 2020. - P. 1-7.

11. Cho YI, Han JI, Wang C, et al. Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. Vet Microbiol. 2013; 166:375–385.

12. Izzo MM, Kirkland PD, Mohler VL, Perkins NR, Gunn AA, House JK. Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. Aust Vet J. 2011; 89:167–173.

13. Mohamed FF, Mansour SM, El-Araby IE, Mor SK, Goyal SM. Molecular detection of enteric viruses from diarrheic calves in Egypt. Arch Virol. 2017; 162:129–137.

УДК 591.525:596.731.1

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОЖИ ДОМАШНИХ СВИНЕЙ (*SUS SCROFA DOMESTICUS*) В УСЛОВИЯХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СТРЕССА

Н.А. Гарская - к.б.н., доцент (Луганский государственный аграрный университет), Л.Г. Перетягко - к.с.-х.н. (Институт свиноводства и агропромышленного производства НААН Украины), ст. науч. сотр., А.А. Захаров – д.м.н., доцент (Луганский государственный медицинский университет), Л.П. Гришина - д. с.-х.н., ст. науч. сотр. (Институт свиноводства и агропромышленного производства НААН Украины)

Ключевые слова: полтавская мясная порода, хрячки, технологический стресс, кожа, морфометрические параметры, коэффициент вариации.

Key words: Poltava Meat Breed, young boars, technological stress, skin, morphometrical parameters, variation coefficient.



РЕФЕРАТ

Кожный покров важный орган млекопитающих. Сведения о морфологической структуре кожи домашних свиней фрагментарны. Цель работы – изучение морфофункциональных характеристик кожного покрова хрячков полтавской

мясной породы в условиях технологического стресса, используя математические способы анализа.

Материал и методы. Исследованы морфофункциональные характеристики кожи чистопородных хрячков полтавской мясной породы в возрасте 6,5 месяцев. Работа выполнена на материале, полученном в результате «контрольного убоя» при достижении животными живой массы 100 кг (16 фрагментов кожи, взятых на середине бока груди, за лопаткой). Измеряли морфометрические показатели слоёв кожи и их компонентов, обрабатывали результаты используя математические способы анализа.

Результаты. Хрячки полтавской мясной породы имеют в целом хорошо развитые защитные механизмы внешних покровов, выражающиеся в толщине кожи и эпидермиса, большей генетической константности показателей слоёв кожи, активной функции сальных желёз. Некоторые особенности строения кожи исследуемых животных, а именно: особенности потовых и сальных желез, рыхлая кожа, утолщение эпидермиса отражают недостаточную эффективность систем данного органа (кожи) осуществлять различные функции (прежде всего терморегуляцию) в данных технологических и эколого-климатических условиях, что может привести к снижению генетически обусловленной селекционной ценности животных, их продуктивности и снижению качества сырья.

Выводы. Хрячки полтавской мясной породы в условиях технологического стресса имеют специфические особенности структуры кожи, что имеет важное значение для разработки эффективных приемов селекции, выращивания, содержания животных, способствующих повышению функциональных возможностей высокопродуктивных животных и получения от них качественной продукции.

ВВЕДЕНИЕ

Кожный покров важный орган млекопитающих. Его значение велико и многообразно: терморегуляция, защита от влияния факторов внешней среды, участие в обмене веществ, депонирование крови, выделение воды, ядовитых, питательных, пахучих веществ, которые являются сигналами или способами защиты и выкармливания потомства, выполнение функции «прикосновения», синтез БАВ и т.д. [9, 14]. Кожа животного, как первый этап защиты, обладает способностью уничтожать микроорганизмы, попавшие на её покровы, в её структуры. Кожа способна к самоочищению, к стерилизующему, бактерицидному действию в отношении многих микроорганизмов [1, 15].

По мнению Кацы Г.Д. (2013) [3] одну и ту же задачу кожный покров животных может решать по-разному в зависимости от вида, породы, условий существования и т.д.

Согласно Слесаренко Н.А., Кумирову С.Г. (2015) [6] кожный покров - это сложный лабильный биокомпозит, обладающий высокой реактивностью к условиям как внешней, так и внутренней среды организма, что в последствии обеспечивает структурные преобразования в организации общего покрова.

В литературе имеются многочисленные сведения о морфологии кожи и её производных у животных, однако, уровень знаний по разным систематическим группам и степень изученности отдельных вопросов ещё до настоящего времени не одинаковы [10, 12]. Так фрагментарны сведения о морфологической структуре кожи домашних свиней, хотя разведение этих животных является приоритетным в 44 странах мира (33%), в мире насчитывается около одного миллиарда свиней, что составляет одно животное на каждого седьмого человека [7]. Кроме традиционных продуктов: мяса и шпика, ценного сырья: кожи и её дериватов (щетины), свиные так же используются в медицине: в качестве биологических моделей, биологического сырья для получения гормонов и ферментов, источника тканей и органов [11, 13].

Поэтому познание биологических особенностей структурной организации кож-

ного покрова свиней имеет не только теоретическое, но и определённое практическое значение, так как позволит получить наиболее объективную характеристику показателей, которые могут быть использованы не только в селекционно-племенной работе с животными, но и использования в медицине, разработке приёмов и способов получения пищевых продуктов, сырья.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования стало изучение морфофункциональных характеристик кожного покрова хрячков полтавской мясной породы, используя математические способы анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была проведена на чистопородном поголовье свиней полтавской мясной породы ОАО «Племзавод «Беловодский»» Луганской области, Украина.

Средовые условия животных – кормление, содержание, проведение зооветеринарных мероприятий – отвечали технологическим стандартам, разработанным Институтом свиноводства и агропромышленного производства УААН с учетом возраста, живой массы и физиологического состояния. Тип кормления - концентратный с использованием кормов собственного производства. Содержание – групповое, безвыгульное.

В ходе эксперимента животные подвергались запланированным (вакцинация, перегонка, перевод на групповое содержание, взвешивание, гипокинезический стресс при длительном безвыгульном содержании и т.д.) и неплановым технологическим стрессам (социальные факторы, нарушения выработанного стереотипа кормления и перехода на другие рационы, стрессы, возникающий под действием факторов микроклимата и климата (в связи изменениями погодных условий)).

Материалом исследования служили образцы кожи, отобранные от группы животных (n=16), сформированной из массива хрячков, откармливаемых с целью проведения «контрольного убоя» (для определения мясных качеств

породы), достигших живой массы 100 кг, в возрасте 6,5 месяцев. Животных в группу отбирали методом пар-аналогов.

Взятие образцов и изучение морфологического строения кожного покрова проводили согласно методике Г.Д. Кацы (2013) [3]. Пробы кожи брали специальным пробоотборником в точке, расположенной на расстоянии 4-4,5 см от каудального угла правой лопатки животного в каудальном направлении. Площадь отобранного образца составляла 0,2 см². Отобранный образец фиксировали в 10% растворе формальдегида в течении 24 часа, а затем перекладывали на хранение в 5% раствор.

Срезы готовили на замораживающем микротоме МПЗ-01 «Техном» после предварительного уплотнения их в желатине. После промывки фиксатора в проточной воде в течении 15 часов, кусочек кожи помещали в 18% раствор желатина на 24 часа в термостат ТС-80М-2 при температуре +370 С, затем переносили в 25% раствор желатина на 3 часа. Уплотнение и длительное хранение изготовленных блоков образцов проводилось в 5% растворе формальдегида. После уплотнения (в течении 2-3 суток) образцы кожи очищали от желатина и промывали проточной водой в течении 15-20 минут, затем переносили в дистиллированную воду и оттуда на столик замораживающего микротомы. Выполняли вертикальные срезы толщиной 30 мкм вдоль корней волос. С ножа микротомы срезы переносили в 500 этиловый спирт, а затем окрашивали краской Судан III и гематоксилином Караччи. Окрашенные срезы на короткий срок опускали в дистиллированную воду, а затем заключали в смесь глицерина и желатина.

На окрашенных срезах с помощью цифрового микроскопа Delta Optical Genetic Pro Z (ScopeImage 9.0) определяли толщину рогового слоя (как внешнего слоя эпителия), толщину подлежащих слоёв эпителия (как внутренние подлежащие), дермы, длину выступов эпидермиса, глубину залегания секреторных отделов сальных и потовых желез, волосяных

фолликулов, длину выводного протока сальной железы, расстояние от места открития протока сальной железы до поверхности кожи, толщину коллагеновых волокон в дерме, площадь секреторной поверхности потовых и сальных желез, площадь жировых клеток подкожной жировой клетчатки в десятикратной повторяемости. На основании первичных данных рассчитывали общую толщину кожи и эпидермиса.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных компьютерных программ STATISTICA (6.0), с принятием вероятности $p \leq 0,05$. Результаты исследования. Нами установлено, что хрячки полтавской мясной породы имеют достаточно толстую кожу с крупными широкими складками на её поверхности (рис. 1). Толщина кожи исследуемых животных в среднем составила 3177,0 мкм (lim 2610,46 - 4159,16 мкм) при среднем уровне варьирования данного признака ($Cv=15,32\%$).

Кожа хрячков включает в себя хорошо выраженные слои: эпидермис, дерму, постепенно переходящую в хорошо развитый подкожный жировой слой (гиподерму).

Эпидермис кожи исследуемых животных представлен многослойным плоским ороговевающим эпителием, хорошо развит (рис. 2), имеет среднюю толщину 79,38 мкм (lim 48,94 - 99,15 мкм), что составляет в среднем 2,53 % от общей толщины кожи. Установлено, что толщина эпидермиса хрячков полтавской мясной породы имеет средний уровень варьирования, показатель которого (Cv) составляет 20,77%.

Эпидермис образует хорошо видимые длинные выступы, внедряющиеся в дерму, как правило перпендикулярно к поверхности кожи. Их длина составляет в среднем 95,93 мкм (lim 67,7 - 118,72 мкм). Следует отметить, что данный показатель в сравнении с показателем толщины эпителия имеет более низкую групповую изменчивость, коэффициент вариации (Cv) составил 14,02%.

На вертикальных срезах кожи в эпидермисе различаются клетки рогового

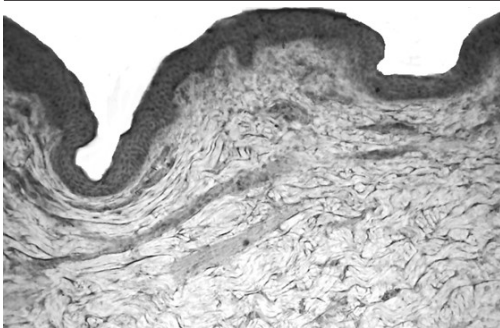


Рис. 1. Вертикальный срез кожи хрячков полтавской мясной породы (x100). (Окраска судан III и гематоксилин Караччи).

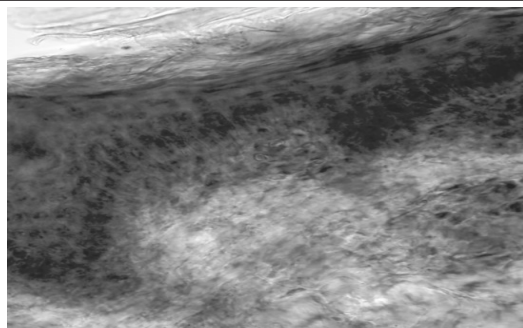


Рис. 2. Эпидермис кожи хрячков полтавской мясной породы (x400). (Окраска судан III и гематоксилин Караччи).

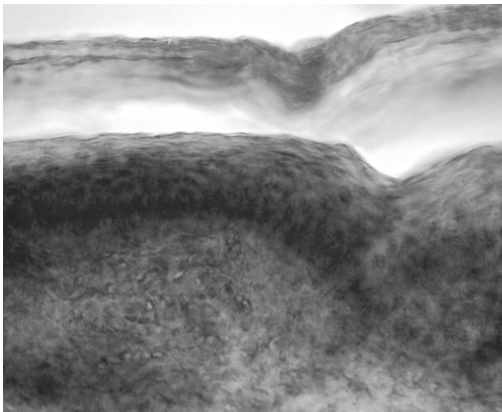


Рис. 3. Липидная смазка рогового слоя эпидермиса кожи хрячков полтавской мясной породы (x400). (Окраска судан III и гематоксилин Караччи).

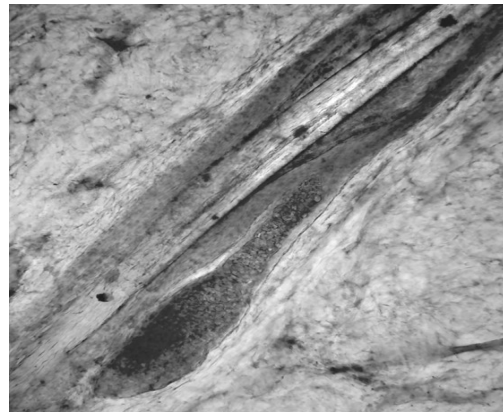


Рис. 4. Сальная железа кожи хрячков полтавской мясной породы (x400). (Окраска судан III и гематоксилин Караччи).

(внешнего) слоя и подлежащие (внутренние) слои, постепенно переходящие друг в друга. Роговой слой эпидермиса у исследуемых животных толстый, многорядный, рыхлый. Клетки этого слоя, безъядерные, в виде постепенно сгущающихся чешуек. Толщина рогового слоя достигает в среднем 17,42 мкм (lim 12,46 – 26,29 мкм), что составляет 21,95% от общей толщины эпидермиса. На отдельных участках эпидермиса наблюдаются различные по величине и толщине отслаивающиеся поверхностные слои рогового слоя. У большинства хрячков (56,25%), роговой слой имеет липидную смазку

(рис. 3). Групповая изменчивость показателя толщины рогового слоя (C_v) составила 23,37%. Подлежащие слои эпителия (внутренние) состоят из нескольких рядов клеток. В базальном ряду ядра клеток крупные, овальной формы, вытянутые перпендикулярно к поверхности кожи. По мере приближения к роговому слою ядра клеток становятся более округлыми и уменьшаются, а затем сплющиваются. Подлежащие слои преобладают в эпидермисе у хрячков полтавской мясной породы и достигают толщины в среднем 61,96 мкм или 78,05% от общей толщины эпидермиса, при групповой изменчивости (C_v) равной 25,25%.

Производными эпидермальных клеток являются сальные и потовые железы, волосяные фолликулы. Сальные железы у исследуемых животных представлены как однодольчатыми, так и многодольчатыми структурами. Их продольные срезы имеют вид нешироких полосок (рис. 4). Довольно длинный выводной проток железы (в среднем 114,6 мкм, \lim 44,76 – 179,77 мкм, $Cv=47,39\%$) открывается в волосяное влагалище в верхней трети волосяного фолликула на расстоянии в среднем 978,74 мкм от поверхности кожи (\lim 119,03 – 2077,38 мкм, $Cv=67,96\%$), что составляет 33,72% от общей толщины кожи. Глубина залегания секреторных отделов сальных желез составляет в среднем 1339,83 мкм (\lim 596,55 – 2378,06 мкм, $Cv=46,32\%$), или 41,61% от общей толщины кожи. Площадь их составляет в среднем 3273,87 мм² (\lim 654,87 – 9777,34 мкм², $Cv=81,97\%$). В коже хрячков полтавской мясной породы потовые железы представлены в виде клубков, расположенных, как правило, на уровне луковиц волосяных фолликулов. Площадь секреторного отдела потовых желез колеблется от 530,63 мм² до 3984,55 мм², составляя в среднем 1349,31 мм², при среднем значении групповой изменчивости (109,54%). В глубь кожи потовые железы идут на расстоянии до 1283,82 мкм (\lim 549,35 – 2122,26 мкм, $Cv=54,62\%$), или 41,13% от общей толщины кожи.

Волосяные фолликулы залегают в коже исследуемых животных на различном уровне с наклоном к поверхности эпидермиса. Некоторые авторы [5] считают их однотипными, а некоторые разделяют на первичные и вторичные [2].

Глубина залегания волосяных фолликулов в коже хрячков полтавской мясной породы составляет в среднем 1659,46 мкм (\lim 101,0 – 2797,35 мкм, $Cv=36,99\%$), или 57,01% от общей толщины кожи.

Дерма свиней не подразделяется на сосочковый и сетчатый слои, так как волосяные луковицы, которые являются границей названных слоев, пронизывают всю дерму насквозь и могут залежать в подкожной клетчатке [2].

Нижняя граница дермы у хрячков полтавской мясной породы имеет крупные выступы, вдающиеся в подкожную жировую клетчатку. Нами установлено, что средняя толщина дермы у исследуемых животных составляет 3097,62 мкм (\lim 2547,79 – 4077,26 мкм), при групповой изменчивости 15,64%.

В дерме преобладают пучки коллагеновых волокон, образующие сложное переплетение и составляющие основную массу дермы (рис. 5). Коллагеновые волокна в дерме образуют пучки, имеющие различное направление и образующие вязь. Некоторые коллагеновые пучки идут параллельно поверхности кожи, некоторые – идут под разными углами, некоторые образуют замкнутые крупные и мелкие петли. Между пучками коллагеновых волокон встречаются промежутки соединительной ткани и скопления жировых клеток, ввиду чего, наблюдаются черты ослабления вязи пучков коллагеновых волокон, и дерма имеет более рыхлую структуру. Толщина (в среднем) пучков коллагеновых волокон в дерме кожи хрячков полтавской мясной породы составляет 12,03 мкм (\lim 10,65 – 13,58 мкм, $Cv=5,97\%$) или 0,38% (\lim 0,27-0,47) к толщине кожи и 0,4% (\lim 0,279-0,485) к толщине дермы. Нами установлена также средняя групповая изменчивость данных показателей (15,85% и 15,52% соответственно).

Толщина подкожной жировой клетчатки хрячков полтавской мясной породы может достигать толщины в среднем 24,21 мм (\lim 24,13 – 24,3 мм, $Cv=1,64\%$). Подкожная жировая клетчатка представлена пучками коллагеновых волокон и жировыми клетками (рис. 6), средняя площадь которых достигает 4006,21 мкм² (\lim 2802,83 – 5673,87 мкм², $Cv=23,91\%$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Кожному покрову хрячков полтавской мясной породы в возрасте 6,5 месяцев характерны морфофункциональные особенности, обусловленные как результатом филогенеза данного вида животных и длительной селекцией, так и природно-климатическими и технологическими факторами.



Рис. 5. Коллагеновые волокна дермы кожи хрячков полтавской мясной породы (x400). (Окраска судан III и гематоксилин Караччи).

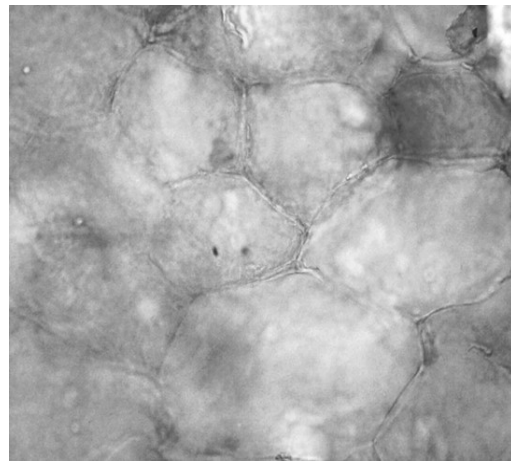


Рис. 6. Жировые клетки подкожной жировой клетчатки кожи хрячков полтавской мясной породы в возрасте 6,5 месяцев (x400). (Окраска судан III и гематоксилин Караччи).

Поверхность кожи хрячков полтавской мясной породы имеет крупные широкие складки, как и у представителей других пород домашних свиней [2]. Кожа в целом не плотная, по толщине приближается к показателям сверстников крупной белой породы (3300,0 мкм) (данные Кацы Г.Д. (2013) [3]), уступая им 3,73%.

Эпидермис кожи исследуемых животных относительно толстый, что может быть обусловлено с видовыми особенностями, когда толстый эпидермальный слой компенсирует малую оброслость кожи волосами, выполняющими защитную функцию [4]. В сравнении со сверстниками крупной белой породы (76 мкм или 2,3% от общей толщины кожи) [3] эпидермис хрячков полтавской мясной породы развит лучше, что может быть обусловлено как генотипом (породой), так и влияниями технологии содержания животных (гиподинамия, влияние факторов микроклимата, кормления и т.д.). Однако учитывая литературные данные, о том, что в постнатальной жизни копытных, преобладающим на формирование слоёв кожи является влияние внешних факторов [4], мы считаем, что причиной указанного различия, является в большей мере технологические и эколого-климатические факторы.

Проведённый анализ вариации показателей кожи (Cv) позволил выявить функциональную нагрузку каждой отдельной структуры в процессе технологического использования животных и их способности восприятия технологических факторов структурами кожи. Изученные показатели слоёв кожи имели значения изменчивости, не превышающие 33%. Коэффициенты вариации колеблются у изученных показателей слоёв кожи от 1,64% до 25,25%, что свидетельствует об однотипности животных данного стада по данным показателям особей по структуре важнейшего органа защиты и адаптации, а значит, и по способности воспринимать и реагировать на действующие внешние факторы. Наиболее физиологически активными слоями кожи хрячков, являются подлежащие слою эпителия, которые в большей степени подвергаются функциональным нагрузкам и более широко участвуют в приспособлении, о чём свидетельствует наибольший установленный показатель коэффициента вариации [8].

Следует отметить, что изменчивость показателей, характеризующих морфофункциональные особенности производных эпидермиса (сальных и потовых желёз, волосяных фолликулов) в отличии от

слоёв кожи, отличается значительным уровнем варьирования. Данные показатели не могут служить показателем породной принадлежности исследуемых животных, а свидетельствуют о дестабилизации функционирования, прежде всего потовых и сальных желез.

Обобщая полученные материалы, можно сделать заключение, что хрячки полтавской мясной породы имеют в целом хорошо развитые защитные механизмы внешних покровов, выражающиеся в толщине кожи и эпидермиса, большей генетической константности показателей слоёв кожи, активной функции сальных желез (наличие липидной смазки рогового слоя) [4]. Мы считаем, что некоторые особенности строения кожи исследуемых животных, а именно: особенности потовых и сальных желез, рыхлая кожа, утолщение эпидермиса отражают недостаточную эффективность систем данного органа (кожи) осуществлять различные функции (прежде всего терморегуляцию) в данных технологических и эколого-климатических условиях, что может привести к снижению генетически обусловленной селекционной ценности животных, их продуктивности и снижению качества сырья.

ВЫВОДЫ

Таким образом, свиньи полтавской мясной породы при содержании в условиях технологического стресса обладают специфическими особенностями структуры кожи, что имеет важное значение для разработки эффективных приемов селекции, выращивания, содержания животных, способствующих повышению функциональных возможностей высокопродуктивных животных и получения от них качественной продукции.

MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF THE SKIN OF DOMESTIC PIGS (SUS SCROFA DOMESTICUS) UNDER TECHNOLOGICAL STRESS

Garskaya N. A. - candidate of Biological Sciences, associate Professor (Lugansk State Agrarian University), **Peretiak L. G.** - candidate of Agricultural Sciences, senior researcher (Institute of Pig Breeding and Agro-industrial production of the

National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine), Zakharov A.A. - doctor of Medical Sciences, associate Professor (Lugansk State Medical University), **Grishina L.P.** - doctor of Agricultural Sciences, senior researcher (Institute of Pig Breeding and Agro-industrial production of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine)

ABSTRACT

Skin is an important organ of mammals. Information about the morphological structure of the skin of domestic pigs is fragmentary. The aim of the work is to study the morphofunctional characteristics of the skin of Poltava Meat Breed boars under the conditions of technological stress, using mathematical methods of analysis.

Research material and methods: the morphofunctional features of 6,5 months old purebred Poltava Meat Breed boars' skin covering have been researched. The research material was received as a result of control slaughtering the animals that reached 100 kg (16 skin fragments were taken from the middle of the chest side, behind the scapulae). The morphometrical characteristics of skin layers and their components were measured; the results have been processed with the use of mathematical ways of analysis.

The results: most Poltava Meat Breed young boars show well-developed defence mechanisms of their skin covering, represented by the thickness of their skin and epidermis, good genetic constancy of their skin layers' characteristics, as well as by the active functioning of their oil glands. Some features of the researched animals' skin structure, such as: particular qualities of their sweat and oil glands, doughy skin, epidermis thickening, show the poor functionality and low efficiency of the skin systems. In the current technological, ecological and climate environment the pigs tend to have problems with several major skin functions (such as thermoregulation), which may lead to the gradual worsening of the animals' genetically specific selectional value along with their productivity, and so worsen the primary products quality as well.

Conclusion. The boars of Poltava Meat Breed, raised in the environment of techno-

logical stress, have specific skin structure features. This fact is essential for developing efficient methods for selection, breeding and keeping the swines, which would help obtaining high-quality production and raising the functional capabilities of highly productive animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева, С. В. Клиническая биохимия КРС / С.В. Васильева. - СПб.: Издательство «Лань», 2017. - 188 с.
2. Зимин, П. В. Сравнительная морфология кожно-волосного покрова у некоторых видов домашних и диких копытных животных : автореф. дис....канд. вет. Наук / П.В. Зимин. - Саратов, 2006. - 21 с.
3. Кацы, Г. Д. Атлас кожи / Г.Д. Кацы. - Луганск: Элтон - 2, 2013. - 96 с.
4. Кацы, Г. Д. Кожа млекопитающих: теория и практика / Г.Д. Кацы. - Луганск: Изво «Русь», 2000. - 144 с.
5. Кацы Г.Д. Морфо-физиологическая оценка животных / Г.Д. Кацы. - Луганск: «Полиграфический центр «Максим»», 2011. - 103 с.
6. Слесаренко, Н. А. Структурно-биомеханические основы адаптивной пластичности кожного покрова пушных зверей / Н.А. Слесаренко, С.Г. Кумиров // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. - 2015. - Т. 224. - № 4. - С. 209 - 213.
7. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства / ФАО, 2010. ВИЖ РАСХН, 2010. Москва / Перевод с англ. ФАО. 2007. The state of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Richkowsky & Dafydd Pilling Rome.
8. Сэжляну, Виктор. Химия, физика и математика жизни / Виктор Сэжляну. - Бухарест: Науч. изд-во, 1969. - 517 с.
9. Сірацький, Й. З. Інтер'єр сільськогосподарських тварин / Й. З. Сірацький та ін. - К.: Вища освіта, 2009. - 280 с.
10. Chernova, O. F. Heterochrony as the basis for inter- and intraspecific diversity of skin in vertebrates / O.F. Chernova, A.V. Kiladze // Biology Bulletin Reviews. - 2019. - Vol. 9, Issue 2. - P. 174-189.
11. Cooper, D. K. C. The pathobiology of pig-to-primate xenotransplantation: a historical review / D. K. C. Cooper, M. B. Ezzelarab // Xenotransplantation. - 2016. - Vol. 23, Issue 2. - P. 83-105.
12. Elofsson, R. A novel ultrastructure on the corneocyte surface of mammalian nasolabial skin / R. Elofsson, I. Tuminaitė, R. H. H. Kröger // Journal of Mammalogy. - 2016. - Vol. 97, Issue 5. - P. 1288-1294.
13. Jiang, X. -F. Correction of hyperglycemia in diabetic rats with the use of microencapsulated young market pig islets / X. -F. Jiang, T.-L. Qian, D. Chen et al. // Transplantation Proceedings. - 2018. - Vol. 50, Issue 10. - P. 3895-3899.
14. Moyo, D. Comparison of the histology of the skin of the Windsnyer, Kolbroek and Large White pigs / D. Moyo, M. Gomes, K.H. Erlwanger // Journal of the South African Veterinary Association. - 2018. - Vol. 89. - № 1. - P. 1569.
15. Rittie, L. Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals / L. Rittie // Journal of Cell Communication and Signaling. - 2016. - Vol. 10. - Issue 2. - P. 103-120.

УДК 57.017.645:591.111.05

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.185

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК И ИХ КОРРЕЛЯЦИЯ С ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИЕЙ

Николаев С.В. - к.в.н., научный сотрудник, Институт агробиотехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра УрО РАН; Конопельцев И.Г. – д.в.н., профессор, ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет»

Ключевые слова: коровы-первотелки, лактация, биохимический состав, эндотоксикоз, воспроизводительная способность. **Keywords:** first-calf cows, lactation, biochemical composition, endotoxycosis, reproductive ability.



РЕФЕРАТ

Различная патология органов размножения у коров диагностируется довольно часто и возникает по причине метаболических нарушений. В работе изучена динамика биохимического состава крови у коров-первотелок (n=24) в течение лактации, а также определена корреляционная связь отдельных биохимических маркеров с оплодотворяемостью. Установлено, что после отела, у животных происходит качественное перераспределение протеинов плазмы, характеризующееся снижением альбумин-глобулинового коэффициента на 29,0...43,2%, падение на 40,9% уровня креатинина к третьему месяцу лактации, а затем его повышение на 27,9...35,3%. Концентрация мочевины к 90-му дню после отела удваивается, с последующим снижением на 33,8% к седьмому месяцу. Активность АлАТ и АсАТ первые три месяца после родов увеличивается (в 1,9 раз и на 23,7% соответственно), а к моменту запуска снижается. Коэффициент де Ритиса был наибольшим у нетелей и коров на момент запуска (4,49 и 3,95 Ед. соответственно), а наименьший на 60-90 день лактации (2,81...2,98 Ед.). Количество общих иммуноглобулинов после родов снижалось, и достигало минимальных значений к 5-му месяцу лактации (103,8 мг/л). Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) крупного и мелкого размера достигали пика концентрации к седьмому месяцу исследований (94,7 и 176,7 УЕ/л соответственно), а их отношение характеризовалось преобладанием более патогенных ЦИКов мелкого размера на 2-ом месяце лактации, с последующим их укрупнением. Концентрация веществ средней и низкой молекулярной массы (ВСНММ) в эритроцитах, была максимальной на 3-й месяц после родов (33,7 опт.ед.), затем их уровень снижался. Корреляционный анализ показал, что продолжительность от отела до оплодотворения удлиняется при увеличении коэффициента де Ритиса ($r=0,441...0,513$) и концентрации ВСНММ в эритроцитах ($r=0,336...0,438$), а укорачивается при росте активности АлАТ ($r=-0,325...-0,446$).

ВВЕДЕНИЕ

Современное молочное скотоводство характеризуется не только ежегодным повышением продуктивности коров, но и широким распространением заболеваний незаразной этиологии [8,9]. Причиной их возникновения, как правило, являются

нарушения обмена веществ, которые клинически проявляются в виде заболеваний органов размножения, молочной железы, конечностей, патологий пищеварительной, эндокринной системы и т.д. [1,6,8]. Как считает ряд авторов, нарушение метаболизма в современном скотоводстве обу-

словлено несоответствием между факторами кормления, содержания и потребностями организма, а также генетически обусловленной высокой продуктивностью, которая идет в разрез с адаптационными возможностями животного [2,4,10]. С этой позиции возникает необходимость в постоянном мониторинге состояния обменных процессов у животных при их различном физиологическом состоянии, в целях прогнозирования, своевременной диагностики и коррекции патологических состояний.

Болезни репродуктивной системы являются одними, из наиболее частых и выраженных проявлений метаболических нарушений [3,7,11]. Негативными последствиями патологий органов размножения считаются снижение оплодотворяемости и ранняя выбраковка коров по причине бесплодия [5,7]. Стоит отметить, что влияние отдельных метаболитов на плодовитость коров и телок, изучены недостаточно, и требуют дальнейших исследований.

Целью работы явилось изучение динамики биохимического состава крови у коров-первотелок в течение лактации и выявление корреляционной связи отдельных биохимических показателей с оплодотворяемостью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в 2019...2021 годах в лаборатории иммунобиохимического анализа биологических объектов Вятской ГСХА. При проведении исследований за 2-3 недели до предполагаемого отела от нетелей холмогорской голштинизированной породы получали венозную кровь и отстаивали сыворотку. Взятие крови повторяли через 30, 60, 90, 150, 270 дней после родов, а также на момент запуска. Всего в исследованиях было использовано 24 животных. В сыворотке крови определяли концентрацию общего белка, альбуминов, глобулинов, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), общих иммуноглобулинов, активность трансаминаз, щелочной фосфатазы, содержание мочевины и креатинина. Исследования проводили на биохимическом анализаторе iMagic-V7, с применением коммерче-

ских наборов фирмы «Диакон Вет». Уровень общих иммуноглобулинов определяли путем осаждения белков сыворотки 18%-ным раствором сульфита натрия с последующей оценкой оптической плотности. Концентрацию иммунных комплексов мелкого и крупного размера устанавливали преципитацией растворами полиэтиленгликоля. Также была проведена оценка уровня эндотоксикоза. С этой целью стабилизированную кровь путем центрифугирования разделяли на плазму и эритроцитарную массу. Концентрацию веществ средней и низкой молекулярной массы (ВСНММ) в плазме и эритроцитах устанавливали путем осаждения крупномолекулярных веществ 15%-ным раствором трихлоруксусной кислоты с последующим центрифугированием и измерением оптической плотности в супернатанта по методике И.П. Степановой. Статистическая обработка, оценка выборочной корреляции и достоверности сравниваемых величин проведена в программе Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

Как показали данные исследований, в послеродовом периоде у первотелок наблюдаются выраженные изменения в биохимическом составе крови. Анализируя динамику протеинов (таблица 1), можно констатировать их незначительное увеличение во второй половине лактации и к моменту запуска (на 8,2...9,4% по отношению к значениям у нетелей), однако наиболее выраженные изменения происходили в качественном составе белков сыворотки крови. Так в первый месяц после отела у коров на 18,8% снижается уровень альбуминов, значения которых на протяжении всего дальнейшего периода наблюдений были ниже, по сравнению к показателям, полученным у нетелей. Глобулиновая фракция напротив характеризовалась ростом концентрации (на 24,4...42,1%), а ее максимальные значения были зафиксированы на 210-й день лактации. Перераспределение белковых фракций способствовало снижению альбумин-глобулинового коэффициента на

Таблица 1
Динамика показателей белкового обмена у коров-первотелок в течение лактации

Показатель	До отела	Время после отела, дней					Запуск
		30	60	90	150	210	
Общий белок, г/л	68,4± 2,5	72,3± 1,1	71,1± 1,9	70,7± 0,7	74,6± 2,11,2	74,8± 1,8 2	74,0± 3,0
Альбумины, г/л	43,2± 2,5	35,1± 0,4 1	33,7± 0,71,2	35,5± 0,31,2	35,5± 1,0 2	34,6± 0,4 2	35,3± 0,6 2
Глобулины, г/л	28,3 ±1,3	37,2± 1,3 1	35,8± 1,5 2	35,2± 0,8 2	39,1± 2,5 2	40,2± 2,0 2	38,7± 2,7 2
Альбумины/ глобулины	1,55± 0,11	0,97± 0,031	1,1± 0,041,2	1,02± 0,022	0,94± 0,082	0,88± 0,052	0,95± 0,062
Креатинин, мкмоль/л	169,2 ±9,0	102,8 ±5,21	115,8 ±5,31,2	100,0 ±4,21,2	135,3 ±15,91,2	127,9 ±8,41	133,1 ±10,91
Мочевина, ммоль/л	3,1 ±0,2	5,1 ±0,21	5,1 ±0,31	6,5 ±0,31,2	5,5 ±0,51	4,3 ±0,31,2	5,5 ±0,41,2

Достоверно ($P < 0,05...0,001$) по отношению: ¹ к значениям предыдущего исследования, ² к показателям у нетелей

Таблица 2
Динамика активности ферментов в крови коров-первотелок в течение лактации

Показатель	До отела	Время после отела, дней					Запуск
		30	60	90	150	210	
АлАТ, Ед/л	15,9 ±0,9	24,7 ±1,21	26,3 ±1,72	30,0 ±1,21,2	22,3 ±2,21,2	19,0 ±0,82	16,1 ±0,41
АсАТ, Ед/л	67,8 ±1,8	81,6 ±2,21	78,3 ±2,22	86,3 ±1,31,2	74,8 ±5,31	70,3 ±5,2	64,2 ±4,2
Отношение АсАТ/АлАТ	4,49 ±0,54	3,48 ±0,191	2,81 ±0,191,2	2,98 ±0,132	3,46 ±0,221,2	3,80 ±0,30	3,95 ±0,18
Щелочная фос- фатаза, Ед/л	217,3 ±8,6	102,1 ±4,21	109,2 ±5,02	141,5 ±7,81,2	162,1 ±16,42	135,6 ±13,62	68,0 ±9,81,2

Достоверно ($P < 0,05...0,001$) по отношению: ¹ к значениям предыдущего исследования, ² к показателям у нетелей

29,0...43,2%. Качественное изменение белков, по видимости, связано с интенсивным использованием альбуминов в обменных процессах, и нарушении протеинсинтезирующей функции печени.

Динамика конечных продуктов метаболизма белков в период лактации была неоднозначной и характеризовалась снижением уровня креатинина на фоне повышения мочевины. Так уровень креатинина к третьему месяцу лактации снижался на 40,9%, после чего вновь увели-

чивался на 27,9...35,3%. Динамика мочевины наоборот характеризовалась увеличением показателя к 90-му дню лактации (более чем в два раза), с последующим снижением на 33,8% к седьмому месяцу.

Содержание в крови трансаминаз (таблица 2) характеризовалось увеличением активности АлАТ в первые три месяца лактации (в 1,9 раза), с последующим снижением до исходного значения к моменту запуска. Аналогичная динамика наблюдалась по АсАТ. Коэффициент де

Таблица 3

Динамика иммунологических показателей и уровня эндогенной интоксикации у коров-первотелок в течение лактации

Показатель	До отела	Время после отела, дней					Запуск
		30	60	90	150	210	
Общие Ig, мг/л	246,0± 44,6	185,9± 11,2	145,1± 12,61,2	117,3± 7,9 1,2	103,8± 16,7 2	151,4± 11,11,2	167,5± 22,12
ЦИК крупного размера, УЕ/мл	29,8± 3,2	40,0± 2,51	30,3± 3,01	50,6± 2,81,2	78,8± 3,21,2	94,7± 13,81,2	89,6± 7,82
ЦИК мелкого размера, УЕ/мл	61,7± 5,6	73,6± 5,7	77,1± 6,11	108,8± 6,51,2	138,6± 9,51,2	176,7± 18,71,2	128,1± 10,6 1,2
Отношение ЦИК мелкие/крупные	2,28± 0,16	1,84± 0,101	2,74± 0,181,2	2,17± 0,07 2	1,90± 0,101,2	1,94± 0,102	1,44± 0,051,2
ВНСММ в эритроцитах, опт.ед.	21,9± 0,8	25,5± 0,61	28,9± 0,8 1,2	33,7± 0,61,2	28,4± 1,81,2	27,6± 0,12	25,4± 3,12
ВНСММ в плазме опт.ед.	4,1± 0,3	3,5± 0,1	4,4± 0,31	4,6± 0,1	2,8± 0,281,2	2,8± 0,22	3,0± 0,22
Насыщенность альбуминов ВСНММ, %	9,5± 0,61	7,56± 0,361	15,07± 0,831,2	13,01± 0,381,2	7,99± 0,721	9,73± 0,521	8,54± 0,59

Достоверно (P < 0,05...0,001) по отношению: ¹ к значениям предыдущего исследования, ² к показателям у нетелей

Ритиса был наибольшим у нетелей и коров на момент запуска (4,49 и 3,95 Ед. соответственно), а наименьшим на 60-90-й день лактации (2,81...2,98 Ед.). Активность щелочной фосфатазы характеризовалась снижением более чем в 2 раза к первому месяцу после родов, с последующим увеличением к 5 месяцу лактации. Наименьшая активность фермента наблюдалась на момент запуска первотелок – 68,0 Ед.

Концентрация в крови общих иммуноглобулинов (таблица 3) после родов снижалась, и достигала минимальных значений к 5-му месяцу лактации (103,8 мг/л), в дальнейшем наблюдалось увеличение доли иммунных белков. Динамика ЦИК крупного размера в первый месяц после родов характеризовалась ростом показателя на 34,2%, с последующим снижением на 24,3% к 60-му дню лактации. Максимальные значения показателя были зафиксированы к седьмому месяцу исследований – 94,7 УЕ/мл. Концентрация

ЦИК с низкой молекулярной массой увеличивалась на протяжении всего периода лактации и достигала пика к 210 дню, составив 176,7 УЕ/мл, что в 2,9 раз больше по сравнению с показателем у нетелей. В период запуска количество ЦИКов мелкого размера снижалось на 27,5%. Отношение иммунных комплексов характеризовалось преобладанием более токсичных ЦИКов мелкого размера на 2-м месяце лактации, с последующим укрупнением комплексов антиген-антитело к моменту запуска, что указывает на постепенное разрешение иммунопатологии.

Показатели эндотоксикоза (таблица 3) в послеродовом периоде характеризовались увеличением концентрации ВСНММ в эритроцитах, максимальное значение которых было зафиксировано на 3-й месяц лактации, после чего их уровень снижался. Насыщенность альбуминов ВСНММ имела схожую динамику.

Анализ связи биохимических маркеров и продолжительности периода от отела до

Таблица 4

Коэффициенты корреляции между продолжительностью периода от отела до оплодотворения и отдельными биохимическими показателями

Показатель	До отела	Время после отела, дней		
		30	60	90
ВНСММ в эритроцитах	0,488	0,438	0,400	0,336
ВНСММ в плазме	-0,290	-0,171	0,303	0,159
Насыщенность альбуминов ВНСММ	-0,175	-0,093	0,200	0,144
Общие иммуноглобулины	0,120	0,238	-0,188	-0,259
ЦИК крупного размера	0,283	-0,349	-0,168	0,210
ЦИК мелкого размера	0,138	-0,453	-0,123	-0,144
Отношение ЦИК мелкие/крупные	-0,154	-0,285	0,040	-0,613
АлАТ	0,150	-0,446	-0,333	-0,325
АсАТ	-0,412	-0,349	0,120	0,172
Отношение АсАТ/АлАТ	-0,106	0,513	0,441	0,478
Общий белок	0,148	-0,306	0,250	0,022
Альбумины	-0,215	0,087	0,233	0,054
Глобулины	0,000	-0,274	0,218	0,001
Альбумины/глобулины	-0,101	0,333	0,132	-0,038

оплодотворения (таблица 4), показал, что у нетелей наблюдается умеренная положительная корреляция сроков оплодотворения и концентрации ВНСММ в эритроцитах (с увеличением показателя удлиняется период до оплодотворения), и отрицательная по отношению к активности аспаратаминотрансферазы. На протяжении первых трех месяцев лактации умеренная положительная корреляция наблюдалась по отношению к ВНСММ в эритроцитарной массе (0,336...0,438) и коэффициенту де Ритиса (0,441...0,513), отрицательная по отношению к АлАТ (-0,325...-0,446). В отдельные периоды исследований наблюдалась умеренная корреляция с ВНСММ плазмы (0,303 на 60 день), альбуминоглобулиновым коэффициентом (0,333 на 30 день), ЦИК крупного и мелкого размера (-0,349 и -0,453 на 30-й день), АсАТ (-0,349 на 30-й день), общим белком (-0,306 на 30-й день) и отношением ЦИКов (-0,613 на 90-й день).

Исходя из полученных данных, можно заключить, что несмотря на умеренные значения коэффициентов корреляции между биохимическими маркерами и оплодотворяемостью первотелок в отдельные периоды исследований, более выраженная связь просматривается по отношению к ВНСММ в эритроцитах, активности аланинаминотрансферазы и отношения АсАТ/АлАТ. По всей видимости, изменения в метаболизме данных химических компонентов оказывают более выраженное воздействие на репродуктивную способность у первотелок, поэтому приемы, направленные на коррекцию обмена данных веществ должны оказывать наибольший эффект на сокращение сроков бесплодия. Так же, полученные данные можно использоваться для прогнозирования возможной репродуктивной патологии.

ВЫВОДЫ

В послеродовом периоде у первотелок

наблюдаются выраженные изменения в азотистом обмене, характеризующиеся увеличением уровня глобулинов и мочевины, снижением креатинина и альбуминов. Ферментативная активность трансаминаз, ЦИК и ВСНММ с началом лактации увеличивается. Динамика иммуноглобулинов снижается на протяжении 5 месяцев после родов, а затем наоборот растет к моменту запуска. Увеличение концентрации ВСНММ в эритроцитах и коэффициента де Ритиса негативно сказывалась на воспроизводстве, тогда как увеличение активности АсАТ наоборот положительно.

DYNAMICS OF THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF BLOOD IN FIRST-CALF COWS AND CORRELATION OF BIOCHEMICAL MARKERS WITH REPRODUCTIVE FUNCTION. Nikolaev S. V.- Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, Zhuravsky Institute of Agrobiotechnologies of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Konopeltsev I. G.- Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Vyatka State Agrotechnological University

ABSTRACT

Various pathologies of the breeding organs of cows are diagnosed quite often and occur due to metabolic disorders. The dynamics of the biochemical composition of blood in first-calf cows (n=24) during lactation was studied, and the correlation of separate biochemical markers with fertilization was determined. It was found that after calving, a qualitative redistribution of plasma proteins occurs in animals, characterized by a decrease in the albumin-globulin coefficient by 29.0...43.2%, a drop in creatinine level by 40.9% by the third month of lactation, and then its increase by 27.9...35.3%. The urea concentration doubles by the 90th day after calving, followed by a decrease of 33.8% by the seventh month. The activity of АIАТ and АsАТ increases in the first three months after childbirth (by 1.9 times and by 23.7%, respectively), and decreases by the time of launch. The de RiTiS coefficient was the highest in heifers and cows at the time of launch (4.49 and 3.95 units, respectively),

and the lowest on the 60-90 day of lactation (2.81...2.98 units). The amount of total immunoglobulins after childbirth decreased, and reached minimum values by the 5th month of lactation (103.8 mg/l). Circulating immune complexes (СЕС) of large and small size reached a peak concentration by the seventh month of the studies (94.7 and 176.7 UE / l, respectively), and their ratio was characterized by the predominance of more pathogenic small-sized cells at the 2nd month of lactation, followed by their enlargement. The concentration of substances of medium and low molecular weight (VSNMM) in red blood cells was maximum at the 3rd month after delivery (33.7 opt. units), then their level decreased. Correlation analysis showed that the duration from calving to fertilization lengthens with an increase in the de Ritis effect ($r=0.441...0.513$) and the concentration of VSNMM in red blood cells ($r=0.336...0.438$), turns over with an increase in АIАТ activity ($r=-0.325...-0.446$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Baimishev M. Kh. About the relationship between blood indicators in cows and their reproductive function / M. Kh. Baimishev, S. P. Eremin, Kh. B. Baimishev, V. V. Zemlyankin, H. A. Safiullin // Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018. T. 10. № 4. P. 819-823.
2. Baimishev M. Markers of lipid metabolism and antioxidant system of organisms of cows depending on their physiological state / M. Baimishev, S. Yeremin, K. Pemyashov, H. Baimishev, I. Konopeltsev // XII International Scientific Conference on Agricultural Machinery Industry, 10-13 September 2019, Don State Technical University, Russian Federation: IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science Vol.403 (2019) 012013.
3. Konopeltsev, I. New method of gonadorelin application for treatment of cows with follicular cysts / I. Konopeltsev, Kh.B. Baymishev, A. Batrakov, G. Shiryayev, P. Anipchenko, S. Nikolaev // Reproduction in Domestic Animals. - 2018. T. 53. № S2. C. 151-152.
4. Moiseeva K. Dynamics of cholesterol and triglycerides in the serum of cows with

- liver lipidosis / К. Moiseeva, P. Anipchenko, S. Vasil'eva, et al. // *Journal of Animal Science*. 2019. Vol. 97. Is. Suppl. 3. P. 208.
5. Горпинченко, Е.А. Факторы, способствующие возникновению функциональных расстройств родополового аппарата у коров/Е.А. Горпинченко, И.С. Коба, М.Н. Лифенцова//*Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2016. № 121. С. 1818-1827.
6. Нежданов А.Г. Состояние гепатобилиарной системы у молочных коров при послеродовой гипофункции яичников/ А.Г. Нежданов, В.А. Сафонов, Г.Г. Чусова, А.М. Синёва, К.А. Лободин, В.А. Лукина, Р.Ю. Панфилов// *Ветеринария*. 2020. № 9. С. 41-46.
7. Николаев С.В. Терапевтическая эффективность озонированной эмульсии при остром эндометрите у коров-первотелок /С.В. Николаев//*Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2016. №3. С.43-49.
8. Николаев С.В. Продуктивность коров холмогорской породы с различной степенью голштинизации в условиях Республики Коми / С.В. Николаев, Н.А. Шемуранова// *Молочное и мясное скотоводство*. 2020. №2. С. 19-23. DOI: 10.33943/MMS.2020.82.49.005
9. Романенко Л.В., Волгин В.И., Федорова З.Л., Корочкина Е.А., Племяшов К.В. Состояние обменных процессов в организме высокопродуктивных молочных коров при адаптивном питании коров// *Успехи современного естествознания*. - 2015. - 3 1 (часть 7). - с. 1145-1149.
10. Синёва, А.М. Метаболический профиль крови молочных коров в динамике послеродового периода при восстановлении и депрессии овуляторной функции яичников / А.М. Синёва, А.В. Лысенко, А.Г. Нежданов, В.А. Сафонов, В.А. Лукина, К.А. Лободин, Р.Ю. Панфилов // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2020. № 1. С. 59-63.
11. Скориков В. Н. Гемоморфологический и биохимический профиль беременных коров с риском развития послеродового эндометрита/ В. Н. Скориков, В. И. Михалев, В. И. Моргунова, И. Ф. Климентьева // *Ветеринарный фармакологический вестник*. 2018. № 2(3). С. 102-106.



УДК: 636.018:591.16

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.192

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ И КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА IN VITRO

Г.С. Никитин- доц., к.вет.н. (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Ключевые слова: трансплантация эмбрионов, высокопродуктивные животные, бластоциста, ооцит, созревание ооцитов, фертилизация, капацитация, культивирование эмбрионов. **Key words:** embryo transplanted, highly productive animals, blastocyst, oocyte, oocyte maturation, fertilization, capacitation, embryo cultivation.



РЕФЕРАТ

В настоящее время трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных широко применяется в воспроизводстве во многих странах [1]. Однако, из-за не высокой эффективности и низкой приживляемости эмбрионов, в сравнении с искусственным осеменением, она используется преимущественно как дополнительный биотехнологический метод, направленный на более рациональное использование генетически ценных племенных животных и ускорения селекции, особенно в отношении племенного ядра [1–7]. Использование технологии получения эмбрионов крупного скота *in vitro* (IVP – *in vitro* produced) позволяет значительно ускорить интенсивность селекции животных и является актуальной темой для изучения [8–10]. Исследования многих ученых направлены на изучение аспектов, связанных с фолликулогенезом, стимуляцией полиовуляции, и факторов, влияющих на эмбрионы и ооциты, позволяющие увеличить эффективность данной процедуры [11–15]. Однако, современные лидеры в репродуктивных технологиях, такие как Agtech, Inc., IETS, Animal Reproduction Laboratory (Colorado State University) и другие, не дают конкретных инструкций и рекомендаций по производству эмбрионов *in vitro*, а получаемые достижения в этой сфере описываются в основном в научных публикациях.

В статье представлен обзор ключевых этапов современных биотехнологических методов ускоренного воспроизводства высокоценных сельскохозяйственных животных, включая пункцию фолликулов и аспирацию ооцитов (OPU – *ovum pick-up*), созревание ооцитов в лабораторных условиях (IVM – *in vitro* maturation), подготовку спермы и оплодотворение ооцитов (IVF – *in vitro* fertilization), культивирование эмбрионов (IVC – *in vitro* culture), а также криоконсервацию полученных эмбрионов. Представленный в публикации литературный обзор затрагивает вопросы фолликулогенеза и овогенеза животных, и некоторые принципы нейроэндокринной регуляции эстрального цикла и их взаимосвязь при использовании различных методик получения ооцитов. Публикации различных авторов по данной тематике позволили обобщить используемые методы и представить их в статье в форме сводных таблиц, в которых описаны различия температурных режимов инкубирования, условия транспортировки биоматериала, рассмотрены основные физические параметры внешней среды культивирования ооцитов, их оплодотворения и дальнейшего развития, освещены характеристики и состав различных питательных сред, описаны методы подготовки спермы для проведения оплодотворения ооцитов, а также обобщены сводные данные по калибровке рабочих растворов при центрифугировании спермы в градиентах плотности, в том числе определены некоторые закономерности криоконсервации эмбрионов различными методами.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-116-50169

ВВЕДЕНИЕ

В виду того, что для производства эмбрионов необходимо получить исходный материал в виде половых гамет, вся технология может быть условно разделена на несколько ключевых этапов. Ооциты, которые используются для последующего оплодотворения могут быть получены из фолликулов яичников коров и телок, как из боенского материала, так и хирургически с использованием трансвагинальной пункции фолликулов и последующей их аспирацией (ovum pick-up, OPU). Таким образом, первым этапом в получении эмбрионов *in vitro* является сбор ооцитов. При этом необходимо иметь ввиду некоторые физиологические особенности их строения и развития половых гамет. Яичники – это парные органы, выполняющие две основные функции: синтез половых гормонов и выработка половых гамет. Также в яичниках выделяют две основные зоны: корковую – в которой происходит фолликулогенез, овогенез, образование желтого тела (CL), а также синтез гормонов, и мозговую – которая выполняет трофическую функцию. Паренхима яичников расположена в корковой зоне и представлена фолликулами с различной степенью их развития. По данным Госдена и Телфера количество фолликулов с ооцитами при рождении телочки составляет около $1 \cdot 10^5$ [16]. В ходе роста и развития фолликулов развиваются и ооциты, которые проходят различные стадии мейоза. Таким образом, ооциты могут быть в различной стадии развития, а фолликулы, в которых они находятся, также могут быть на разных стадиях развития, что в свою очередь, непосредственно влияет на динамику их развития в культуре *in vitro*. Так, принято выделять в развитии фолликулов примордиальные, первичные, вторичные и третичные (антральные или полостные) фолликулы. Некоторые авторы выделяют две основные фазы развития фолликулов: первая – гормон независимая, в которой развитие фолликулов происходит в ответ на воздействие факторов роста через парафринную регуляцию и во многом зависит от пролиферации клеток гранулезы фолликулярной стенки [17] и вторая – гормон зависимая, в которой происходит окончательное формирование фолликула до преовуляторного состояния и в которой решающую роль играют гонадотропины – фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ) [17,18]. Однако, факторы роста оказывают влияние на развитие фолликула и во вторую фазу, модулируя его рост, также они участвуют в стимуляции пролиферации, дифференцировке и стероидогенезе фолликулярной стенки. Среди таких факторов роста выделяют группы инсулиноподобных факторов роста (IGF), эпидермальные факторы роста (EGF) и трансформирующие факторы роста (TGF). Также фолликулы могут находиться в состоянии атрезии по кистозному или аблiterationонному типу. Ооциты, полученные из антральных фолликулов по-

крыты клетками фолликулярного эпителия (гранулезы), которые называют лучистым венцом или кумулюсом, поэтому такие ооциты часто называют ооцит кумулюсный комплекс (ОКК). Некоторые авторы выделяют положительную взаимосвязь между размером фолликула и способностью ооцита к оплодотворению и дальнейшему развитию [19]. Таким образом, исследования о структурных и функциональных особенностях фолликулов позволили развить способы производства эмбрионов *in vitro*.

Некоторыми коллективами ученых были получены результаты в области культивирования паренхимы яичников с целью производства ооцитов, в ходе которых были получены данные об особенностях взаимодействия фолликулов и ооцитов [20–22]. Известно, что мейоз ооцитов у млекопитающих начинается в антенатальный период и останавливается на стадии диплотеи профазы I. Остановка мейоза сохраняется во время нахождения ооцита в примордиальном фолликуле и возобновляется одновременно с развитием фолликула. Второе деление мейоза завершается только после овуляции и проникновения сперматозоида в овоплазму. Выделяют взаимосвязь между размером ооцита и способностью проходить мейотическое деление. Так, например, при достижении ооцитом размера в 110 мкм он способен инициировать мейотическое созревание. В ходе его развития значительное влияние оказывают фолликулярная жидкость и клетки фолликулярного эпителия. По составу фолликулярная жидкость схожа с плазмой крови, однако, содержит многочисленные компоненты, влияющие на ооцит. Среди них выделяют альбумины, полипептиды, лизосомальные ферменты, ионы, аскорбиновую кислоту, стероидные гормоны, гонадотропины, ингибины, пролактин, липопротеины, гликозаминогликаны, проренин и факторы роста [23–27]. Также важную роль в развитии ооцита играет его кумулюсная оболочка, так как она находится в постоянном контакте с прозрачной оболочкой ооцита и имеет пальцеобразные отростки, которые врастают в оболочку и осуществляют обмен ионами и другими молекулами, размер которых не превышает 1 кДа. Таким образом, для успешного культивирования эмбрионов крупного рогатого скота в лабораторных условиях необходимо учитывать множество факторов на разных этапах. Основные технологические моменты данной вспомогательной репродуктивной технологии (ВРТ) будут описаны далее с учетом данных, представленных рядом авторов в научных трудах и в сравнительном аспекте.

Сбор ооцитов. Технология производства эмбрионов *in vitro* включает в себя несколько этапов, первым из которых является получение ооцитов для их последующего дозревания, оплодотворения и культивирования полученных эмбрионов до предимплантационного состояния. Получить для этой цели ооциты возможно из

боенского материала, когда отбирают яичники, транспортируют их в лабораторию и получают ооциты путем их резекции или аспирации [28,29]. Возможно использование прижизненной пункции фолликулов через влажную стенку под контролем ультразвукового оборудования. Таким образом, до помещения ооцитов в матурирующий раствор, они могут быть подвержены факторам внешней среды. Для предотвращения этих негативных воздействий принято соблюдать некоторые общие принципы и методики, которые описываются рядом авторов [30–39]. При получении ооцитов из боенских яичников обычно используют метод аспирации шприцем или метод резекции яичника лезвием с последующим промыванием и идентификацией ооцитов. В случае прижизненного получения ооцитов используют метод OPU, который заключается в использовании пункционной иглы (обычно 18-21G) в сочетании с интравинальным ультразвуковым датчиком, который позволяет визуализировать яичники и фолликулы для их пункции и аспирации. Игла соединена трубкой к аспирационному насосу и пробиркой. Важное значение играет давление при аспирации, которое должно составлять 90 – 150 мм рт. ст. или расход 20-40 мл/мин [40]. Полученные ооциты должны быть помещены в специальный раствор при определенной температуре. В таблице 1. представлены сводные данные литературных источников, в которых кратко описана методика получения ооцитов, температурный режим, а также компоненты рабочего раствора при аспирации.

Проанализировав обобщенные данные, представленные в таблице, можно отметить, что если яичники получали на бойне, то их транспортировали в лабораторию в течении не более 4-х часов. Транспортировку яичников осуществляли в подогретом физиологическом растворе. Также для транспортировки яичников используют фосфатно-буферный раствор. В случае использования OPU метода животных фиксировали в станке, производили эпидуральную блокаду и аспирировали фолликулярную жидкость, которую доставляли в лабораторию через 5 минут. Температурный режим при транспортировке яичников варьировал от 29 до 38,8°C. Рабочий раствор, в который помещали ооциты после их аспирации был произведен на основе TCM-199 или DPBS с добавлением 20 МЕ/мл гепарина и других вспомогательных компонентов. Гепарин необходим для предотвращения свертывания крови при попадании в рабочий раствор в ходе аспирации. В последующем, если ооциты промывают растворами для удаления слущенного эпителия, остатков слизи, крови и др. гепарин не используют. В некоторых публикациях ооциты промывали несколько раз матурирующим раствором, который в дальнейшем будет использован для созревания ооцитов в инкубаторе. При этом в состав таких растворов были использованы такие компоненты, как

HEPES, поливиниловый спирт, L-глутамин, фосфатный буфер, гонадотропины, факторы роста, а также антибиотические препараты – пенициллин и стрептомицин 100МЕ, или гентамицин 50 мг/мл. Таким образом, основа данных растворов представлена либо 199-й средой, либо раствором Дюльбекко с добавлением гепарина и антибиотика, а для повышения эффективности в рабочий раствор были введены вспомогательные компоненты в виде буферов, питательных веществ, гормонов и факторов роста. Так, Р. Гонзалес и соавт. в своих исследованиях определяет воздействие стресса при добавлении в матурирующий раствор плазмы крови, полученной от свиней обработанных АКТП и дальнейшего ее влияние как на сами ооциты, так и на развивающиеся потом эмбрионы [41]. При этом яичники транспортировали в 0,9% растворе хлорида натрия при температуре от 32 °С до 34 °С в течение 3-4 часов после убоя. Аспирацию проводили с использованием TCM-199, модифицированного Hepes с добавлением гидрокарбоната натрия, L-глутамина, поливинилового спирта, гепарина гентамицина. Затем полученные ооциты трижды промывали в той же среде, но без гепарина, а после отбора их один раз промывали в среде для созревания. Хотя исследования проводили на свиньях и их яичниках, основные принципы получения ооцитов и среды для созревания ооцитов очень схожи с методиками для крупного рогатого скота.

Созревание ооцитов. После получения ооцитов их исследуют с использованием стереомикроскопа при увеличении 40х. При этом ключевыми факторами, которые учитываются при определении качества ооцитов – это количество рядов кумулюсных клеток, плотность их расположения, прозрачность, а также цвет и наличие грануляции цитоплазмы ооцита [40]. Оптимальным для использования считается ооцит, который имеет как минимум пять слоев кумулюсных клеток, однако, для оценивания ооцитов используются различные системы оценки от 2-х до 4-х категорий пригодности [30,35,49].

Известно, что в процессе созревания ооцитов они подвержены воздействию гонадотропных гормонов, что послужило основанием для использования гонадотропинов и при матурации (созревании) ооцитов в культуре *in vitro*. Так, в публикации Wei Suocheng [50] были оценены показатели скорости развития ооцитов, уровни апоптоза ооцитов и экспрессия рецепторов фолликуло-стимулирующего, лютеинизирующего гормона и релизинг факторов. Установлено, что добавление 10 МЕ/мл ФСГ в матурирующую среду является оптимальным и увеличивает скорость созревания ооцитов, экспрессию рецепторов к ФСГ, ЛГ и ГНРГ и экспрессию синтеза рецепторных белков.

Проанализировав данные, представленные в таблице 2, можно отметить, что для созревания ооцитов после

их предварительного промывания их помещали в среду для созревания группами от 10 до 150 шт в объеме среды от 50 мкл до 2500 мкл. Среднее количество ооцитов при одновременном культивировании составило $53,38 \pm 39,29$, в среднем объеме $909,38 \pm 972,32$ мкл. Таким образом, проведя анализ полученных данных, средний объем среды на один ооцит составил $14,71 \pm 9,99$ мкл, а количество ооцитов на 1 мкл составило $0,1 \pm 0,07$.

Следующим немаловажным моментом, который можно выделить – это промывание ооцитов в матурирующем растворе после их переноса из раствора для проведения OPU или поиска из боенских яичников. Практически все изученные нами научные работы или публикации указывают, что промывание необходимо проводить один или два раза. Исходя из нашего опыта можно отметить, что при переносе ооцитов из предыдущего раствора в матурирующий, объемом несколько десятков микролитров это может сопровождаться сильным его разбавлением, что значительно повлияет на его состав. Степень разбавления во многом зависит и от объема используемой пипетки.

Стоит отметить, что при непосредственном переносе ооцитов без промывания могут попасть частички фолликулярной эпителии, кумулюса и другие нежелательные частицы. Следовательно однократное или двукратное промывание ооцитов матурирующим раствором является обязательной процедурой и препятствует изменению состава матурационной среды.

После промывания ооциты покрывали минеральным маслом для снижения оксидационного стресса, однако данный прием указывался не во всех публикациях. Объем используемого масла варьирует от 50 до 600 мкл и зависит как от объема внесенной матурирующей среды, так и от размера чашек Петри. Режим инкубирования мало отличался во всех случаях и, как правило, составлял 24 часа, $38,5-39^\circ\text{C}$ при 5% содержания CO_2 , кроме работ некоторых авторов, таких как Do и др. [42], которые дополнительно указывают 19% O_2 и 75% N_2 . Такой режим инкубирования предусматривает использование мультигазовых инкубаторов и направлен на повышение эффективности данной методики.

Состав матурирующей среды очень разнообразен и содержит множество компонентов в обозреваемых методиках. Однако, можно отметить, что практически во всех методах основу его составляет среда 199, содержащая соли Эрла, которые используются в газовой среде с 5% CO_2 (в других методиках при обеспечении матурации в атмосферном воздухе используется 199-я среда с солью Хенкса). Наиболее распространенной является среда 199, модифицированная буфером Hepes. Следующим по распространенности компонентом является фетальная бычья сыворотка в концентрации 5-10%. Также в составе матурирующего раствора можно

встретить такие компоненты, как пируват натрия, эстрадиол, гонадотропины, эпидермальный ростовой фактор и другие вспомогательные компоненты. В статье Avery и др., [45] указывается использование в среде для матурации препарата Suigonan, который в своем составе содержит сыворотку жеребых кобыл, богатую фолликулостимулирующим и лютеинизирующим гормонами, а также хорионический гонадотропин человека. Помимо компонентов, обеспечивающих созревание ооцитов, в данную среду вносят противомикробные и противогрибковые компоненты для предотвращения развития микроорганизмов и грибов. Как правило используют Гентамицин в концентрации 50 мг/мл или пенициллин и стрептомицин по 100 МЕ/мл.

Оплодотворение. Существует несколько способов достичь оплодотворения в лабораторных условиях, но одним из ключевых факторов является состояние гамет. В отношении ооцита важно было достичь его созревания в описанных выше условиях, но и сперматозоиды должны обладать оплодотворяющей способностью, которая у них появляется после деблокирования ферментативной активности их акросомы и ряда других метаболических изменений. Среди таких изменений выделяют капацитацию. Как известно, сперматозоиды синтезируются в извитых семенных каналах и накапливаются в хвосте придатка семенника, где находятся в состоянии анабиоза и не обладают оплодотворяющей способностью. Их активация происходит только после эякуляции за счет изменения кислотности среды при смешивании с секретом придаточных половых желез. Капацитация происходит уже после попадания эякулята или разбавленной спермы в половые пути самки. Таким образом, ряд авторов выделяет факторы, препятствующие капацитации и стимулирующие ее. Последние, вероятно, связаны со средой в половой системе самки, которая, в свою очередь, находится в динамике, и во многом зависит от стадии эстрального цикла и концентрации половых гормонов. Так, некоторые авторы отмечают негативное влияние высоких концентраций прогестерона при обеспечении капацитации *in vitro* [55–57, 57–59]. Тем не менее, механизмы капацитации изучены недостаточно широко, но уже обобщены некоторые биохимические и ультраструктурные изменения, которые приводят к устранению компонентов, расположенных на базальной мембране сперматозоидов, изменению липидного состава мембраны сперматозоидов, повышению проницаемости ионов Ca , интенсивности метаболизма других факторов. Так, было установлено, что холестерин в высокой концентрации содержится в эякуляте и при его добавлении в лабораторных условиях снижается оплодотворяю-

шая способность сперматозоидов. В свою очередь было отмечено, что сперматозоиды способны высвобождать холестерин при прохождении капациации, а некоторые вещества, такие как бычий сывороточный альбумин и липопротеины высокой плотности, могут стимулировать этот процесс. В норме они содержатся в фолликулярной жидкости и попадают в яйцевод, связываясь с холестерином и стимулируя его высвобождение. Ряд авторов [40][60] выделяют необходимость присутствия кальция, так как он депонируется в акросоме сперматозоидов. Таким образом для подготовки спермы к оплодотворению выделяют следующие способы:

Метод Swim-up (SU) [61]. Одним из используемых средств является модифицированный тирод-лактат (TALP), дополненный альбумином и пируватом. Методика основана на миграционной способности сперматозоидов во время инкубирования в специальной среде, т.е. активная фракция спермы всплывает на поверхность.

Вторым по распространенности методом является центрифугирование спермы в градиентах плотности и осаждение их активной фракции на дне конической центрифужной пробирки. Более подробно о выполнении данной методики будет описано ниже.

Также для отделения активной фракции использовали метод фильтрации спермы в предварительно промытом культуральной средой стекловолокнистом фильтре [40].

Другими методами подготовки спермы для оплодотворения являются метод миграционной седиментации, магнитной сепарации, метод микрожидкостных камер и др. [62].

Более подробно эти методы описаны в клинических рекомендациях «Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация» и в работах ряда зарубежных авторов [63–65].

В обзорной публикации Андреано Фернандеза [40], а также в рекомендациях компании «Nidacop» отмечено, что наиболее распространенным и воспроизводимым методом подготовки спермы для IVF процедуры является метод центрифугирования в градиентах плотности с использованием в качестве градиента Percoll, который представляет микроскопическую взвесь диоксида кремния, покрытую поливинилпирролидоном. Более подробное рассмотрение данного метода представлено в таблице 3. Данная методика проводится в несколько этапов. Во-первых, при использовании криоконсервированной спермы ее размораживают на водяной бане также, как и при искусственном осеменении с соблюдением темпера-

турного режима используемой методики. В дальнейшем в пробирке наслаивают два или три градиента Перколла, не смешивая их между собой. Оттаянную сперму аккуратно вносят сверху приготовленных растворов и центрифугируют. В ходе центрифугирования активная фракция спермы скапливается на дне пробирки, а растворитель, менее активные и нежизнеспособные сперматозоиды остаются в надосадочной жидкости. Ввиду некоторой токсичности Перколла и возможности его взаимодействия со сперматозоидами необходимо перенести этот осадок в промывочную среду, ресуспендировать и центрифугировать повторно. Далее опять удаляют часть надосадочной жидкости и смешанный осадок с остатками этой среды исследуют для определения концентрации. При получении нужной концентрации активной спермы ее вносят в среду для IVF для дальнейшего взаимодействия с ооцитами.

Проанализировав данные таблицы, можно выделить следующие закономерности: режим оттаивания спермы практически не отличается от аналогичного при искусственном осеменении, однако, в некоторых публикациях используют несколько меньшую температуру оттаивания, возможно для избегания значительных перепадов температуры при центрифугировании, т.к. центрифугирование проводится при комнатной температуре длительное время. Как правило используют два градиента – 45% и 90%. Режим центрифугирования составляет от 300 до 700 g. Повторное промывочное центрифугирование обычно не продолжительное и с меньшим усилием. Следует отметить, что приготовление рабочих растворов Перколла требует тщательной калибровки с измерением их плотности, а режим центрифугирования будет зависеть от вида пробирок, объема жидкости и наклона пробирок в роторе центрифуги. Таким образом, для воспроизведения данной методики необходимо сделать некоторые поправки с учетом используемого оборудования. Так, например, в инструкции к приготовлению рабочих растворов Перколла от компании «Сигма» предполагается использовать калибровочный график и вычислить плотность и объем разбавителя для приготовления первичного раствора SIP и дальнейшего приготовления растворов с необходимым процентом разбавления. Для калибровки предлагается использовать рефрактометр и определять плотность раствора SIP и конечных растворов [70]. Однако, для определения плотности указанных растворов рефрактометрическим методом необходимо перевести коэффициенты полученных значений преломления в плотность, что сильно усложняет

Таблица 1

Оценка методик получения ооцитов

Ссылка	Краткое описание метода	Темп.	Компоненты рабочих растворов
[41]	Яичники транспортировали с бойни в течении 3-4 часов, далее аспирировали ооциты с использованием раствора для аспирации и трижды промывали в том же растворе, но без гепарина.	32-34 °C	Hepes TCM-199 с добавлением 2,2 г/л NaHCO ₃ , 1 mM L-глутамина, 0,5 мг/мл поливинилового спирта, 20 ME/мл гепарина и 50 мкг/мл гентамицина.
[42]	Проводили аспирацию в станке с использованием эпидуральной блокады 4,5 мл 2% новокаином. После аспирации собранную жидкость доставляли в лабораторию в течение 5 мин. и пропускали через микрофильтр 0,22 мкм (EmSafe, Minutube, Ballarat, VIC, Австралия), а затем заливали промывочной средой, пока раствор не стал прозрачным.	-	-
[43]	Яичники привозили с бойни в физиологическом растворе в течение 2 часов. Аспирацию проводили путем пункции фолликулов.	32-38 °C	0,85% NaCl
[44]	Яичники собирали на бойне и отвозили в лабораторию. Далее фолликулы диаметром 2-8 мм аспирировали иглой 18 G с использованием обычного шприца на 10 мл. Ооциты помещали в аспирационный раствор и затем промывали трижды в матурирующем растворе.	29-33 °C	Аспирационный раствор - DPBS с добавлением 6 мг/мл BSA Промывочный раствор - DPBS, содержащем 5% FCS, и дважды в TCM 199 с добавлением 20% FCS, 1 мкг / мл эстрадиола-17β, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл мл стрептомицина, разные концентрации ФСГ и ЛГ в соответствии с планом эксперимента (среда IVM).
[45]	Использовали боенские яичники, из которых иглой 18 G аспирировали фолликулы диаметром от 3 до 15 мм и помещали их в пробирку 50 мл, содержащую 1 мл промывочной среды. После извлечения и промывки КОК один раз промывали в среде IVM.	32 - 35 °C	Промывочная среда - TCM-199 (Hepes-buffered), 20 Ед/мл гепарина. IVM среда - TCM-199 (Hepes-buffered) с добавлением 2 ME/мл PMSG-hCG, 0,2 mM Пирувата, 50 нг/мл EGF, 50 мг/мл Гентамицина и 5% эстральной сыворотки коров (ECS).
[46]	Яичники собирали с бойни и доставляли в лабораторию в физиологическом растворе при в течение 4 часов. Фолликулы диаметром от 2 до 6 мм аспирировали с помощью иглы 20 G, прикрепленной к стеклянному шприцу на 5 мл.	32 - 37 °C	Среда для аспирации состояла из TCM-199 с добавлением 10% FBS и PBS с добавлением 0,3% BSA в соотношении 1:1.
[47]	Яичники собирали на бойне и доставляли в лабораторию в течение 2-3 часов. По прибытии проверяли температуру и промывали яичники водой, затем DPBS при. Фолликулов диаметром 3-7 мм аспирировали стерильной иглой 18 G (Vetpharm, Sioux Center, IA, USA), прикрепленной к одноканальному шприцу при комнатной температуре. Ооциты с интактными слоями кумулюсных клеток отбирали под стереомикроскопом и трижды промывали в промывочной среде. Затем ооциты переносили в криопробирку объемом 1,8 мл (Nunc, Fisher, Питтсбург, штат Пенсильвания, США), содержащую IVM среду. Криопробирка объемом 1,8 мл со средой для IVM была предварительно обработана газом в течение 4-5 часов в 5% CO ₂ в воздухе при 39 °C перед переносом в нее КОК, и они были отправлены в лабораторию в переносном инкубаторе (Minutube, Tiefenbach, Германия).	32 °C, 38,8 °C	Аспирационный раствор - DPBS Промывочный раствор - TL-Hepes. IVM - M199, 10% FCS, 1 мл антибиотика / антимикотика и 10 нг/мл эпидермального фактора роста (EGF)
[48]	Яичники получали с бойни и отбирали ооциты с использованием резекции яичника лезвием №20 и затем помещали их в изоляционную среду.	-	Изоляционная среда - TCM199 с добавлением 0,1% поливинилового спирта, 25 mM HEPES, 10 mM бикарбоната натрия и 50 мг/мл сульфата гентамицина (среда для выделения, pH 7,4).

поставленную задачу. В ряде публикаций указан коэффициент преломления различных концентраций Перколла и его пересчет в плотность [71,72], благодаря которым нам удалось выразить степень разбавления, коэффициент преломления и плотность этих растворов в взаимосвязанной таблице (таб. 4).

Культивирование эмбрионов *in vitro*. Культивирование эмбрионов в искусственной среде должно воспроизводить такие же условия внешней для него среды, как и внутри организма в естественных условиях. Таким образом, важное значение в подборе питательных сред и физических факторов играет понимание метаболических изменений самого эмбриона в процессе его развития. Среди некоторых процессов энергетического обмена выделяют процессы окислительного фосфорилирования с участием пирувата и оксалаата, активно протекающие совместно с циклом трикарбоновых кислот в первые несколько суток развития зиготы. В дальнейшем после 3-х суток у эмбриона активно развиваются процессы аэробного гликолиза [73]. Аминокислоты наряду с другими веществами играют немаловажную роль в развитии эмбриона. Учеными установлена положительная взаимосвязь между наличием в составе питательных сред глицина, аланина, глутамина и других компонентов [40]. Учитывая высокую чувствительность эмбрионов к различным факторам, особое внимание уделялось качеству используемой в средах воды, осмолярности и ионному составу. Так, при подготовке сред, оценивались различные способы получения дистиллята, такие как многократное дистиллирование, ультрафильтрация и метод обратного осмоса. К примеру, осмолярность питательных сред должна находиться в пределах от 270 до 300 мОсм; синтетический секрет яичевода, используемый при культивировании, содержит 4,5 мМ ионов K^+ , а соотношение ионов K/Na составляет 0,32 +/- мМ. Питательные среды должны отвечать необходимым характеристикам, содержать нужные буферные системы и поддерживать концентрацию водородных ионов в пределах pH 7,3 – 7,4. Воздушная среда, как правило, поддерживается газовым инкубатором либо с 5% углекислого газа либо используются более сложные модели, в которых также контролируется концентрация 5% углекислого газа, 5% кислорода и 90% азота. Характеристики технологии культивирования эмбрионов представлены в таблице 5.

Как видно из таблицы 5, при культивировании эмбрионов необходимо придерживаться некоторых общих принципов. Культивирование, как и другие этапы, происходит в чашках Петри в газовом инкуба-

торе, причем некоторые исследователи выделяют большую эффективность мультигазовых инкубаторов, в которых контролируется не только уровень углекислого газа, но и кислорода с азотом. Также можно отметить, что объем культуральной среды в капле также имеет значение и составляет около 1 мкл среды на 1 культивируемый эмбрион. Аналогично, как и при выполнении других этапов, важно производить промывание эмбриона перед его культивированием от 1 до 4 раз либо в культуральной среде, либо в ее модификации. Температура культивирования, как правило, составляет 38,5 – 39 °С. В динамике развития эмбрион может выделять продукты обмена, а сама культуральная среда взаимодействует с воздушной средой и, несмотря на использование минерального масла, окисляется. В связи с этим, необходимо обновлять эту среду либо переносом эмбрионов в новые чашки Петри, либо заменяя до 50% объема предыдущей среды новой. Состав культуральных сред очень разнообразен и, зачастую, схож со средами для матурирования на основе 199 среды с добавлением дополнительных компонентов в виде фетальной сыворотки, противомикробных и противогрибковых препаратов, питательных компонентов, ростовых факторов. В настоящее время наиболее распространена среда на основе синтетического секрета яичевода (SOF), которая также может сочетаться с добавлением как фетальной сыворотки так и других вспомогательных компонентов.

Криоконсервация эмбрионов. Для криоконсервации эмбрионов широко используются специальные программируемые замораживающие приборы, такие как Freeze Control® различных модификаций, и другие приборы, обеспечивающие контролируемое снижение температуры замораживаемого объекта в сочетании с криопротекторными средами. Но, в настоящее время, существует и другая технология криоконсервации эмбрионов – витрификация. Эти методы имеют ряд преимуществ и недостатков [49,74,75]. Так, например, контролируемая заморозка требует использования меньших концентраций криопротекторов и таким образом оказывает меньшее токсическое действие на эмбрион, но при этом требуется значительно больше времени для осуществления этой методики и необходим дорогостоящий прибор [31,38]. Витрификация в свою очередь производится очень быстро, при этом нет необходимости использовать программируемый замораживатель, но для осуществления этой методики используются специальные среды, концентрация криопротектора в которых как правило более значительная. В литера-

Таблица 2

Оценка методик обеспечения созревания ооцитов

Ссылка	Краткое описание метода	Темп. Режим и газовый режим	Компоненты рабочих растворов
[46]	После однократной промывки в матурирующем растворе ооциты с нерасширенным кумулюсом и однородной цитоплазмой были помещены по 10-12 шт в капли по 50 мкл и покрыты парафиновым маслом.	24 ч, 38,5°C, 5% CO ₂	TCM-199+10% FBS, TCM-199+10% FBS+FSH-P. TCM-199+20% (фолликулярная жидкость) FF. TCM-199+40% FF. TCM-199+10% FBS+FSH-P+20% FF
[45]	После однократного промывания в матурирующем растворе ооциты помещали в данный раствор и инкубировали. Размещали 50-60 ооцитов в 0,7 мл раствора в 4-чашечных чашках Петри, или (вынуждено) по 95 ооцитов в 0,5 мл раствора.	22,5-24 ч, 38,8°C, 5% CO ₂	hepes-buffered TCM-199 с добавлением 2 МЕ/мл PMSG+hCG, 0,2 mM пирувата, 50 ng/ml EGF, 50 мг/мл Гентамицина и 5% ECS.
[41]	После однократного промывания в матурирующем растворе ооциты помещали по 40 – 55 шт в 500 мкл в четырехчашечных чашках Петри.	24 ч, 38,5°C, 5% CO ₂	TCM-199 (M-2154) с добавлением 50 нг/мл эпидермального ростового фактора, 5 mL/mL insulin-transferrin-selenite, 10 МЕ/мл сыворотки жеребых кобыл, 5 МЕ/мл хорионического гонадотропина, 1 mM L-глутамина, 1 mM пирувата, и 50 мг/мл Гентамицина
[51]	По 30 ооцитов помещали в 1,8 мл пробирки с матурирующим раствором, которые предварительно прегазировали 4-5 часов в инкубаторе при температуре 39°C.	22-23 ч, 38,8°C, 5% CO ₂	M199, 10% FCS, 1 мл антибиотика и антимикотика и 10 нг/мл EGF
[42]	До 30 ооцитов промывали дважды в 100 мкл матурирующего раствора и затем помещали в инкубатор в 150 мкл этого раствора, покрыв 600 мкл минерального масла.	22-23 ч, 38,8°C, 6% CO ₂ , 19% O ₂ and 75% N ₂ .	VitroMat®, с добавлением 0,1 МЕ/мл ФСГ, 10% v/v FBS и 4 мг/мл BSA
[52]	Ооциты промывали дважды в модифицированном фосфатно-буферном растворе (m- PBS), затем 100 – 150 ооцитов инкубировали в 2,5 мл матурирующего раствора.	21 ч, 38,5°C, 5% CO ₂	TCM199 забуференный солью Эрла с 25 mM HEPes с добавлением 5% FBS, стрептомицина и пенициллина по 100 мг/мл
[53]	50 ооцитов помещали в 500 мкл матурирующего раствора и инкубировали	39°C, 5% CO ₂	Medium 199 с добавлением 10 нг/мл EGF и 10% (v/v) FCS.
[54]	Ооциты помещали в микрокапли матурирующего раствора – 10-12 ооцитов на 150 мкл и инкубировали	22 ч, 38,5°C, 5% CO ₂	TCM- 199 с буфером HEPES, содержащая 0,2 mM Пирувата и 50 мг/мл гентамицина и 10% FBS, 0,002 AU/ml ФСГ, и 1 мг/мл эстрадиола 17β
[43]	После двукратного промывания модифицированного фосфатно-буферного раствора Дюльбекко ооциты промывали один раз матурирующим раствором и инкубировали по 60-90 ооцитов в 2,5 мл среды.	19-22 ч, 39°C, 5% CO ₂	25 mM HEPes TCM 199 с солью Эрла растворенный с 5% FCS
[44]	По 30 ооцитов помещали в 600 мкл матурирующего раствора и покрывали 300 мкл минерального масла для инкубирования	24 ч, 38,6°C, 5% CO ₂	TCM 199 растворенный с 20% (v/v) FCS, 1 мг/мл эстрадиола 17β, 100 МЕ/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина, различными концентрациями ФСГ и ЛГ в зависимости от условий эксперимента.

туре упоминается множество подходов для обеспечения витрификации эмбрионов. Так в публикации Van Hong Do «Сравнение оплодотворяемости крупного рогатого скота при подсадке реципиентам невитрифицированных и витрифицированных эмбрионов» указывается следующая методика: все манипуляции проводят на подогревательном столике при 37 °С. От одной до четырех blastocyst помещали в объем 50 мкл уравновешивающего раствора (среда TCM-199 на основе Hepes (TCM-H), содержащая 1% BSA по

весу, 7,5% DMSO и 7,5% этиленгликоля) на 3 мин. Затем blastocyst переносили в 50 мкл витрификационной среды (TCM-H, содержащий 1% мас./об. BSA, 15% об./об. DMSO и 15% об. этиленгликоля, с добавлением 0,5M сахарозы). В течение 1 мин после переноса в среду для витрификации эмбрионы загружали в устройство Суотор® (Кизазато, Токио, Япония) в минимальном объеме среды примерно 0,1 мкл с использованием стеклянной пипетки. После загрузки

Таблица 3

Оценка методов центрифугирования спермы в градиентах плотности

Ссылка	Температурный режим оттаивания спермы	Концентрация Перколла и объем градиентов	Режим первого и второго центрифугирования
[66]	37°C/60 с	90%/45%	600 g – 20 мин 200g – 20 мин
[44]	-	30%/45%	500 g – 10 мин Инкубирование при температуре 38,6 °C в 200 мкл среды для подготовки спермы
[53]	-	45%/90% по 2,5 мл	700 g – 20 мин 100 g – 10 мин
[67]	37°C/30 с	45%/90% по 2 мл	700 g – 30 мин 100 g – 10 мин
[68]	35°C/30 с	45%/90%	320 g – 30 мин
[54]	37°C/30 с	45%/90% по 2 мл	700 g – 20 мин 300 g – 5 мин (дважды)
[42]	37°C/30 с	45%/90% по 0,5 мл	300 g – 15 мин 300 g – 5 мин
[40]	-	45%/90% 30%/45%/90%	центрифугировать 30 – 40 мин
[69]	-	40%/80% по 0,5 мл	300 g – 15 мин 300 g – 5 мин

Таблица 4

Взаимосвязь плотности Перколла и коэффициентов преломления

v/v, %	Коэф. прелом, n	Плотность, г/мл	v/v, %	Коэф. прелом., n	Плотность, г/мл
0	1,3345	1,0041	51	1,3430	1,0683
3	1,3350	1,0079	54	1,3435	1,0721
6	1,3355	1,0117	57	1,3440	1,0759
9	1,3360	1,0154	60	1,3445	1,0796
12	1,3365	1,0192	63	1,3450	1,0834
15	1,3370	1,0230	66	1,3455	1,0872
18	1,3375	1,0268	69	1,3460	1,0910
21	1,3380	1,0305	72	1,3465	1,0947
24	1,3385	1,0343	75	1,3470	1,0985
27	1,3390	1,0381	78	1,3475	1,1023
30	1,3395	1,0419	81	1,3480	1,1061
33	1,3400	1,0456	84	1,3485	1,1099
36	1,3405	1,0494	87	1,3490	1,1136
39	1,3410	1,0532	90	1,3495	1,1174
42	1,3415	1,0570	93	1,3500	1,1212
45	1,3420	1,0608	96	1,3505	1,1250
48	1,3425	1,0645	99	1,3510	1,1287

Таблица 5

Оценка методов культивирования эмбрионов

Ссылка	Краткое описание метода	Темп. режим и газовый режим	Компоненты рабочих растворов
[41]	Зиготы промывались трижды в Hepes-NCSU-23 и затем помещались в культуральную среду	5% O ₂ , 5% CO ₂ , 90% N ₂	PZM
[46]	Трижды промывали в среде для культивирования и помещали в капли 50 мкл / 50 эмбрионов	38,5°C, 5% CO ₂	TCM-199, 10% фетальной сыворотки
[52]	Промывали несколько раз в культуральной среде и инкубировали со сменой 50% культуральной среды на новую каждые двое суток.	-	TCM-199, 5% фетальной сыворотки, антибиотики, и 5 мг/мл эплинифрина
[44]	Трижды промывали зиготы в среде SOF и помещали в капли культуральной среды по 25 эмбрионов на 600 мкл и покрывали минеральным маслом 300 мкл.	38,5°C, 5% O ₂ , 5% CO ₂ , 90% N ₂	SOF (синтетический секрет яйцевода) с добавлением 6 мг/мл BSA, 0,5 мг/мл миониситола, 3% (v/v) эссенциальной аминокислоты, 1% (v/v) неэссенциальной аминокислоты, 100 МЕ/мл Пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина и 100 мг/мл L-глутамина
[53]	Зиготы промывали четыре раза в PBS и затем один раз в культуральной среде и помещали в капли по 25 мкл из расчета – один эмбрион на каждый мкл среды.	38,5°C, 5% O ₂ , 5% CO ₂ , 90% N ₂	SOF + 10% фетальной сыворотки
[42]	Дважды промывали в культуральной среде с добавлением 4 мг/мл BSA, 2% фетальной сыворотки и помещали в каплю культуральной среды объемом 50 мкл покрытую 3,5 мл минерального масла.	38,8°C, 5% O ₂ , 6% CO ₂ , 89% N ₂	Культуральная среда VitroCleave®, IVF Vet Solutions
[43]	Эмбрионы культивировали по 15 шт в микрокапле и обновляли раствор каждые двое суток	39°C, 5% CO ₂ ,	Среда 199 забуферированная HEPES с добавлением 2,5-10% фетальной сыворотки и по 100 МЕ/мл стрептомицина и пенициллина.

ки эмбрионов устройство Cryotop® погружали непосредственно в жидкий азот.

Таким образом, проанализировав доступные отечественные и зарубежные литературные источники, можно сделать вывод, что производство и криоконсервация эмбрионов животных *in vitro* является очень сложной и многоэтапной процедурой, которая должна обеспечивать все необходимые физические и химические условия для развития как ооцитов, так и эмбрионов. Но, каждый этап этой технологии подчиняется общим биологическим принципам, а основные параметры жидкостных и газовых сред имеют схожую основу, хотя и отличаются в рамках вспомогательных компонентов, направленных на повышение эффективности данной методики. Представленный в публикации обзор не только обобщает некоторые принципы выполнения каждого этапа *in vitro* технологии, но и указывает на актуальные

направления для научных исследований, которые позволят в будущем разработать новые репродуктивные технологии и пути решения существующих проблем, связанных с показателями производства и приживляемости IVP эмбрионов.

Modern approaches for obtaining and cryoconservation of cattle embryos *in vitro*. Nikitin G.S. – docent, PhD of Vet. Sci. Federal state budgetary educational institution of higher education «St. Petersburg State University of veterinary medicine».

ABSTRACT

Currently, the transplantation of embryos of farm animals is widely used in reproduction in many countries. However, due to the low efficiency and low survival rate of embryos, in comparison with artificial insemination, it is used mainly as an additional biotechnological method, aimed at more rational use of genetically valuable breeding animals and accelerating selection, especially in relation to

the breeding nucleus. The use of the technology for in vitro production of cattle embryos (IVP - in vitro produced) makes it possible to significantly accelerate the intensity of animal breeding and is an urgent topic for study. Researches by many scientists are aimed at studying aspects associated with folliculogenesis, stimulation of poliovirus, and factors affecting embryos and oocytes, which can increase the effectiveness of this procedure. However, modern leaders in reproductive technologies, such as Agtech, Inc., IETS, Animal Reproduction Laboratory (Colorado State University) and others, do not give specific instructions and recommendations for the production of embryos in vitro, and the achievements in this area are described mainly in scientific publications.

The article provides an overview of the key stages of modern biotechnological methods for accelerated reproduction of high-value farm animals, including follicle puncture and oocyte aspiration (OPU - ovum pic-up), oocyte maturation in vitro (IVM - in vitro maturation), sperm preparation and oocyte fertilization (IVF - in vitro fertilization), embryo cultivation (IVC - in vitro culture), as well as cryopreservation of the resulting embryos. The literature review presented in the publication touches upon the issues of folliculogenesis and oogenesis in animals, and some principles of neuroendocrine regulation of the estrous cycle and their relationship, when using various methods of obtaining oocytes. Publications of various authors over this topic made it possible to generalize the methods used and present them in the article at the form of summary tables, which describe the differences in temperature regimes of incubation, the conditions for transporting biomaterial, considered the main physical parameters of the external environment of oocyte cultivation; their fertilization and further development; highlights the characteristics and the composition of various nutrient media; methods for preparing sperm for oocyte fertilization are described, and summary data on the calibration of working solutions during centrifugation of sperm in density gradients are summarized, including some patterns of cryopreservation of embryos by various methods.

Funding: The reported study was funded by RFBR, project number 20-116-50169.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зиновьева Н.А., Полябин С.В., Чинаров Р.Ю. Вспомогательные репродуктивные технологии: история становления и роль в развитии генетических технологий в скотоводстве. *Сельскохозяйственная биология*, 2020, 55(2): 225–242 (doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225eng).

2. Никиткина Е.В., Пестунович Е.М., Егизарян А.В. Актуальность трансплантации эмбрионов. *Сельско-*

хозяйственные вести, 2011: 2–3.

3. Никиткина Е.В., Пестунович Е.М., Крутикова А.А., Племяшов К.В. Трансплантация эмбрионов животных: проблемы и пути решения. *Аграрная наука на современном этапе: состояние, проблемы, перспективы*, 2018: 131–135.

4. Заертяев Б.П., Никиткина Е.В., Ялуга В.Л. Эффективность биотехнологических методов в воспроизводстве и селекции молочного скота. *Разведение и генетика животных*, 1999, 31–32: 82–83.

5. Хакимов И.Н., Баймишев Х.Б., Салимова О.С., Бадалин О.В. Использование метода трансплантации эмбрионов для создания высокопродуктивных стад мясного скота. *Вестник Тюменской государственной сельскохозяйственной академии*, 2008, 2: 19–22.

6. Бригида А.В., Сорокин В.И., Ковальчук С.Н., Пантох К.С., Рукин И.В., Рожин К.А. Прогнозирование эмбриопродуктивности коров-доноров на основании эхографической характеристики яичников. *Сельскохозяйственная биология*, 2018, 53(4): 753–761 (doi: 10.15389/agrobiology.2018.4.753rus).

7. Singina G.N., Sergiev P.V., Lopukhov A.V., Rubtsova M.P., Taradajnic N.P., Ravin N.V., Shedova E.N., Taradajnic T.E., Polejaeva I.A., Dozev A.V., Brem G., Dontsova O.A., Zinovieva N.A. Production of a Cloned Offspring and CRISPR/Cas9 Genome Editing of Embryonic Fibroblasts in Cattle. *Biochemistry, biophysics, and molecular biology*, 2021, 496(1): 48–51 (doi: 10.1134/S1607672921010099).

8. Wright R.W., Curtis J.L. Cattle Embryo Transfer Procedure. *Journal of Range Management*, 1992, 45(5): 510 (doi: 10.2307/4002916).

9. Kafi M., McGowan M.R. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. *Animal Reproduction Science*, 1997, 48(2–4): 137–157 (doi: 10.1016/S0378-4320(97)00033-X).

10. Seidel G.E., Seidel S. Training manual for embryo transfer in cattle. *Animal Reproduction Laboratory, Colorado State University, USA*, 2004.

11. Martens G., Nohner H.P., Leiding C., Schneider F., Becker F., Nuernberg G., Kanitz W. 326 Optimizing frequency of fsh application for superovulatory treatment in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, CSIRO Publishing, 2005, 17(2): 313 (doi: 10.1071/rdv17n2ab326).

12. Naranjo C., Fernando M.P., Felipe C.S., Rodolfo A.A. Concepción Embryo production after superovulation of bovine donors with a reduced number of FSH applications and an increased eCG dose. *Theriogenology*, 2020, 141: 168–172 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.09.018).

13. Mikkola M., Taponen J. Embryo yield in dairy cattle after superovulation with Folltropin or Pluset. *Theriogenol-*

- ogy, 2017, 88: 84–88 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.09.052).
14. Kasimanickam R., Kasimanickam V., Kastelic J. P., Ramsey K. Metabolic biomarkers, body condition, uterine inflammation and response to superovulation in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, 2020, 146: 71–79 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.02.006).
15. Sikora M., Król J., Nowak M., Stefaniak T., Aurbertsson G., Kozdrowski R. The usefulness of uterine lavage and acute phase protein levels as a diagnostic tool for subclinical endometritis in Icelandic mares. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2016, 58(1): 50 (doi: -016-0233-4).
16. Gosden R.G., Telfer E. Numbers of follicles and oocytes in mammalian ovaries and their allometric relationships. *Journal of Zoology*, 1987, 211(1): 169–175 (doi: 10.1111/j.1469-7998.1987.tb07460.x).
17. Monniaux D., Monget P., Besnard N., Huet C., Pisselet C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. *Theriogenology*, 1997, 47(1): 3–12 (doi: 10.1016/S0093-691X(96)00334-2).
18. Pamish J.J., Kim C.L., Bae I.H. Current concepts of cell-cycle regulation and its relationship to oocyte maturation, fertilization and embryo development. *Theriogenology*, 1992, 38(2): 277–296 (10.1016/0093-691X(92)90236-K).
19. Pavlok A., Lucas-Hahn A., Niemann H. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Molecular Reproduction and Development*, 1992, 31(1): 63–67 (doi: 10.1002/mrd.1080310111).
20. Eppig J.J., Schroeder A.C. Capacity of mouse oocytes from preantral follicles to undergo embryogenesis and development to live young after growth, maturation, and fertilization in vitro. *Biology of Reproduction*, 1989, 41(2): 268–276 (doi: 10.1095/biolreprod41.2.268).
21. Daniel S.A.J., Armstrong D.T., Gore-Langton R.E. Growth and development of rat oocytes in vitro. *Gamete Research*, 1989, 24(1): 109–121 (doi: 10.1002/mrd.1120240113).
22. Nayudu P.L., Osborn S.M. Factors influencing the rate of preantral and antral growth of mouse ovarian follicles in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1992, 95(2): 349–362 (doi: 10.1530/jrf.0.0950349).
23. Bellin M.E., Ax R.L. Chemical characteristics of follicular glycosaminoglycans. *Advances in experimental medicine and biology*, 1987, 219: 731–735 (doi: 10.1007/978-1-4684-5395-9_51).
24. Concentrations of High Density Lipoproteins Vary Among Follicular Sizes in the Bovine [Electronic resource]. URL: https://www.researchgate.net/publication/19480669_Concentrations_of_High_Density_Lipoproteins_Vary_Among_Follicular_Sizes_in_the_Bovine (accessed: 12.03.2021).
25. Brantmeier S.A., Grummer R.R., Ax R.L. Concentrations of High Density Lipoproteins Vary Among Follicular Sizes in the Bovine. *Journal of Dairy Science*, 1987, 70(10): 2145–2149 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(87)80266-7).
26. Alterations in intrafollicular levels of different molecular mass forms of inhibin during development of follicular- and luteal-phase dominant follicles in heifers | Request PDF [Electronic resource]. URL: https://www.researchgate.net/publication/14415221_Alterations_in_intrafollicular_levels_of_different_molecular_mass_forms_of_inhibin_during_development_of_follicular_and_luteal-phase_dominant_follicles_in_heifers (accessed: 12.03.2021).
27. Andersen M.M. et al. Protein composition in the fluid of individual bovine follicles. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1976, 48(1): 109–118 (doi: 10.1530/jrf.0.0480109).
28. Магпалер Д.В., Голубец Л.В., Дешко А.С., Хромов Н.И. Некоторые аспекты трансвагинальной аспирации ооцитов крупного рогатого скота. *Fam News*, 2018: 33–36.
29. Сметанина И.Г., Татарина Л.В. Влияние сыворотки крови на созревание ооцитов и развитие эмбрионов крупного рогатого скота in vitro. *Проблемы биологии продуктивных животных*, 2018: 45–53 (doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2018.3.45-53).
30. Ротарь Л.Н., Souza J.F. Морфологическая характеристика ооцит-кумулосных комплексов *Bos taurus* и *Bos indicus* разного направления продуктивности. *Российская сельскохозяйственная наука*, 2019, 3: 64–67 (doi: 10.31857/s2500-26272019364-67).
31. Denisenko V.Y., Kuzmina T.I. Mobilization of Ca²⁺ from intracellular stores in *Sus scrofa* domesticus oocytes after vitrification and thawing. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine, Academy of Sciences of Ukraine*, 2018, 28(2): 120–130 (doi: 10.15407/cryo28.02.120).
32. Lojkić M., Getz I., Samardžija M., Matković M., Bacić G., Karadžole T., Macesić N., Folnožić I., Spoljarić B. Effect of cysteamine supplementation during in vitro culture of early stage bovine embryos on blastocyst rate and quality. *Acta Veterinaria Bmo*, 2012, 81(3): 229–234 (doi: 10.2754/avb201281030229).
33. De Ávila A.C.F.C.M., Da Silveira J.C. Role of extracellular vesicles during oocyte maturation and early em-

- bryo development. *Reproduction, Fertility and Development*, 2019, 32(2): 56–64 (doi: 10.1071/RD19389).
34. Azam A., Shahzad Q., Asma-Ul-Husna Q., Ejaz R., Fouladi-Nashta, Ali A., Khalid M., Ullah N., Akhtar T., Akhter S. Supplementing α -Linolenic acid in the in vitro maturation media improves nuclear maturation rate of oocytes and early embryonic development in the Nili Ravi buffalo. *Animal Reproduction, Colegio Brasileiro de Reproducao Animal*, 2017, 14(4): 1161–1169 (10.21451/1984-3143-AR859).
35. Coleman N.V., Shagiakhmetova G.A., Lebedeva I.Y., Kuzmina T.I., Golubev A.K. In vitro maturation and early developmental capacity of bovine oocytes cultured in pure follicular fluid and supplementation with follicular wall. *Theriogenology*, 2007, 67(5): 1053–1059 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.10.019).
36. Xia P., Rutledge J., Armstrong D.T. Expression of glycine cleavage system and effect of glycine on in vitro maturation, fertilization and early embryonic development in pigs. *Animal Reproduction Science*, 1995, 38(1–2): 155–165 (doi: 10.1016/0378-4320(94)01345-M).
37. Accogli G., Douet C., Ambrusi B., Martino N.A., Uranio M.F., Deleuze S., Dell'Aquila M.E., Desantis S., Goudet G. Differential expression and localization of glycosidic residues in in vitro- and in vivo-matured cumulus-oocyte complexes in equine and porcine species. *Molecular Reproduction and Development*, 2014, 81(12): 1115–1135 (doi: 10.1002/mrd.22432).
38. El-Shalofy A.S., Moawad A.R., Darwish G.M., Ismail S.T., Badawy A.B.A., Badr M.R. Effect of different vitrification solutions and cryodevices on viability and subsequent development of buffalo oocytes vitrified at the germinal vesicle (GV) stage. *Cryobiology*, 2017, 74: 86–92 (doi: 10.1016/j.cryobiol.2016.11.010).
39. El-Shalofy A.S., Moawad A.R., Darwish G.M., Ismail S.T., Badawy A.B.A., Badr M.R. Effects of highly dispersed silica nanoparticles on the cryoresistance of the bovine cumulus-oocyte complexes. *Cryobiology*, 2018, 85: 176 (doi: 10.1016/j.cryobiol.2018.10.215).
40. Fernández A., Díaz T., Muñoz G. Producción in vitro de embriones bovinos. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 2007, 48(1): 51–60.
41. González R., Sjunnesson Y.C.B. Effect of blood plasma collected after adrenocorticotrophic hormone administration during the preovulatory period in the sow on oocyte in vitro maturation. *Theriogenology*, 2013, 80(6): 673–683 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.06.017).
42. Do V., Catt S., Amaya G., Batsiokis M., Walton S., Taylor-Robinson A.W. Comparison of pregnancy in cattle when non-vitrified and vitrified in vitro-derived embryos are transferred into recipients. *Theriogenology*, 2018, 120: 105–110 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.07.027).
43. Goto K., Kajihara Y., Kosaka S., Koba M., Nakanishi Y., Ogawa K. Pregnancies after co-culture of cumulus cells with bovine embryos derived from in-vitro fertilization of in-vitro matured follicular oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1988, 83(2): 753–758 (doi: 10.1530/jrf.0.0830753).
44. Xiao X., Zi X.D., Niu H.R., Xiong X.R., Zhong J.C., Li J., Wang L., Wang Y. Effect of addition of FSH, LH and proteasome inhibitor MG132 to in vitro maturation medium on the developmental competence of yak (*Bos grunniens*) oocytes. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2014, 12(1): 1–7 (doi: 10.1186/1477-7827-12-30).
45. Avery B., Ströbech L., Jacobsen T., Bøgh I.B., Greve T. In vitro maturation of bovine cumulus-oocyte complexes in undiluted follicular fluid: Effect on nuclear maturation, pronucleus formation and embryo development. *Theriogenology*, 2003, 59(3–4): 987–999 (doi: 10.1016/S0093-691X(02)01139-1).
46. Chauhan M.S., Palta P., Das S.K., Katiyar P.K., Madan M.L. Replacement of serum and hormone additives with follicular fluid in the IVM medium: Effects on maturation, fertilization and subsequent development of buffalo oocytes in vitro. *Theriogenology*, 1997, 48(3): 461–469 (doi: 10.1016/S0093-691X(97)00255-0).
47. Nedambale T.L., Dinnyés A., Groen W., Dobrinsky J.R., Tian X.C., Yang X. Comparison on in vitro fertilized bovine embryos cultured in KSOM or SOF and cryopreserved by slow freezing or vitrification. *Theriogenology*, 2004, 62(3–4): 437–449 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2003.10.020).
48. Yang Y., Kanno C., Sakaguchi K., Katagiri S., Yanagawa Y., Nagano M. Theca cells can support bovine oocyte growth in vitro without the addition of steroid hormones. *Theriogenology*, 2020, 142: 41–47 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.09.037).
49. Яремчук И.М., Шаловило С.Г., Шаран Н.М. Усовершенствование среды для размораживания эмбрионов крупного рогатого скота. *Институт биологии животных УААН, г. Львов, Украина*, 2003, 1(2): 170–173.
50. Suocheng W., Zhuandi G., Li S., Haojin L., Lujun L., Yingying D. Maturation rates of oocytes and levels of FSHR, LHR and GnRHR of COCs response to FSH concentrations in IVM media for sheep. *Journal of Applied Biomedicine*, 2017, 15(3): 180–186 (doi: 10.1016/j.jab.2017.01.001).
51. Nedambale T. L., Dinnyés A., Groen W., Dobrinsky J. R., Tian X. C., Yang X. Comparison on in vitro fertilized bovine embryos cultured in KSOM or SOF and cryopreserved by slow freezing or vitrification. *Theriogenology*, 2003, 62: 437–449 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2003.10.020).
52. Otoi T., Yamamoto K., Koyama N., Tachikawa S., Suzuki T. Cryopreservation of Mature Bovine Oocytes by Vitrification in Straws. *Cryobiology*, 1998, 37(1): 77–85 (doi: 10.1006/cryo.1998.2103).
53. Enright B.P., Lonergan P., Dinnyes A., Fair T., Ward F.A., Yang X., Boland M.P. Culture of in vitro produced bovine zygotes in vitro vs in vivo: Implications for early embryo development and quality. *Theriogenology*, 2000, 54(5): 659–673 (doi: 10.1016/S0093-691X(00)00381-2).

54. Abdalla H., Shimoda M., Hara H., Morita H., Kuwayama M., Hirabayashi M., Hochi S. Vitrification of ICSI- and IVF-derived bovine blastocysts by minimum volume cooling procedure: Effect of developmental stage and age. *Theriogenology*, 2010, 74(6): 1028–1035 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.04.033).
55. Bruinje T.C., Gobikrushanth M., Colazo M.G., Ambrose D.J. Dynamics of pre- and post-insemination progesterone profiles and insemination outcomes determined by an in-line milk analysis system in primiparous and multiparous Canadian Holstein cows. *Theriogenology*, 2017, 102: 147–153 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.05.024).
56. Bruinje T.C., Ambrose D.J. Technical note: Validation of an automated in-line milk progesterone analysis system to diagnose pregnancy in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 2019, 102(4): 3615–3621 (doi: 10.3168/jds.2018-15692).
57. Martins J.P.N., Wang D., M. N., Rossi G.F., Martini A.P., Martins V.R., Pursley J.R. Level of circulating concentrations of progesterone during ovulatory follicle development affects timing of pregnancy loss in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(11): 10505–10525 (doi: 10.3168/jds.2018-14410).
58. Nyman S., Gustafsson H., Berglund B. Extent and pattern of pregnancy losses and progesterone levels during gestation in Swedish Red and Swedish Holstein dairy cows. *Acta veterinaria Scandinavica*, 2018, 60(1): 68 (doi: 10.1186/s13028-018-0420-6).
59. Bruinje T.C., Colazo M.G., Ribeiro E.S., Gobikrushanth M., Ambrose D.J. Using in-line milk progesterone data to characterize parameters of luteal activity and their association with fertility in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(1): 780–798 (doi: 10.3168/jds.2018-14654).
60. Stringfellow D.A., Seidel S.M., Society I. embryo transfer. *Manual of the International Embryo Transfer Society*, 3rd rev, ed. 1998.
61. Parrish J.J., Susko-Parrish J.L., Leibfried-Rutledge M.L., Critser E.S., Eyestone W.H., First N.L. Bovine in vitro fertilization with frozen-thawed semen. *Theriogenology*, 1986, 25(4): 591–600 (doi: 10.1016/0093-691X(86)90143-3).
62. Beydola T., Shama R., Lee W., Agarwal A. Sperm preparation and selection techniques. In *Male Infertility Practice*, 2013: 244–251.
63. Henkel R.R., Schill W.B. Sperm preparation for ART. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2003, 1: 1 - 22 (doi: 10.1186/1477-7827-1-108).
64. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen – 5th ed. Moscow: CJSC “Publishing house”, 2010.
65. Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация. Москва, 2019.
66. (PDF) USING PERCOLL AND SWIM-UP METHODS FOR BOVINE IN VITRO FERTILIZATION [Electronic resource]. URL: https://www.researchgate.net/publication/338221625_USING_PERCOLL_AND_SWIM-UP_METHODS_FOR_BOVINE_IN_VITRO_FERTILIZATION (accessed: 25.03.2021).
67. Ribrio I.T.P.B., Lucia N.M., Emilie C., Carmen A., Joanna M.G.S.F., Vicente J.F.F., Pascal M. Combination of oviduct fluid and heparin to improve monospermic zygotes production during porcine in vitro fertilization. *Theriogenology*, 2015, 86(2): 495–502.
68. Guerreiro B.M., Batista E.O.S., Vieira L.M., Sá Filho M.F., Rodrigues C.A., Castro Netto A., Silveira C.R.A., Bayeux B.M., Dias E.A.R., Monteiro F.M., Accorsi M., Lopes R.N.V.R., Baruselli P. S. Plasma anti-mullerian hormone: An endocrine marker for invitro embryo production from Bos taurus and Bos indicus donors. *Domestic Animal Endocrinology*, 2014, 49(1): 96–104 (doi: 10.1016/j.domaniend.2014.07.002).
69. Storage and Stability [Electronic resource]. URL: www.nidacon.com (accessed: 02.06.2021).
70. How to make and use gradients of Percoll | Sigma-Aldrich [Electronic resource]. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/cell-separation-media/gradients-of-percoll.html> (accessed: 02.06.2021).
71. Sejelid R., Pertofi H. Separation of monocytes by density gradients of Percoll. *Methods for Studying Mononuclear Phagocytes*, 1981: 201–205.
72. Hester R.B., Walker W.S. Separation of murine mononuclear phagocytes by density gradients of Percoll // *Methods for Studying Mononuclear Phagocytes*. Elsevier, 1981. P. 195–200 (doi: 10.1016/b978-0-12-044220-1.50028-3).
73. Rocha-Frigoni N., Leao B., Feliciano M., Vicente W., Oliveira M. In vitro production of sheep embryos: advances and challenges. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 2014, 38: 103–109.
74. Корниенко Е.В., Романова А.Б., Попов Д.В., Маленко Г.П. Витрификация эмбрионов крупного рогатого скота без блестящей оболочки в триацетат целлюлозном полом волокне. *Ветеринария, зоотехния и биология*, 2017, 12: 35–44.
75. Машталер Д., Хромов Н. Сравнительная эффективность криоконсервации эмбрионов КРС витрификации и программной полученных методом in vitro. *Генетика и селекция*, 2013, 1: 51–58.

УДК 636.62

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.206

РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ РЕМОУТНЫХ САМОК СТАУДАРТНОЙ ЧЕРНОЙ НОРКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ В ПЕРИОД ВЫРАЩИВАНИЯ

Н.Н. Лоенко – к.с.-х.н., вед. науч. сотр. отдела звероводства и кролиководства, В.Н. Куликов – к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник отдела звероводства и кролиководства, И.П. Люднов – мл. научн. сотр.отдела звероводства и кролиководства
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»

Ключевые слова: стандартная черная норка, ремонтные самки, основное стадо, рационы кормления, переваримые питательные вещества, обменная энергия, живая масса, воспроизводство, адаптация, продуктивность.

Key words: standard black mink, replacement females, main herd, feeding rations, digestible nutrients, metabolizable energy, live weight, reproduction, adaptation, productivity.



РЕФЕРАТ

Целью исследований было изучить влияние разного энергетического уровня кормления ремонтных самок коротковолосой норки в период выращивания (июль-август) на формирование их будущей воспроизводительной способности. Опыты проведены на ремонтных самках коротковолосой стандартной черной норки в зверохозяйстве АО «Племенной зверосовхоз «Салтыковский» Московской области. Для ремонтных самок норки с целью изучения последующей воспроизводительной способности уточняли уровень энергетического питания в июле-августе. В этот период в опытной группе ограничили уровень кормления (по энергии) на 10,0%. После окончания опыта (конец августа) норки были переведены на кормление по существующим энергетическим нормам (2007 г.). В период выращивания (июнь-ноябрь) ремонтных самок норки содержание переваримых питательных веществ в 100 ккал ОЭ составило, г: протеина – 7,6-9,9; жира – 3,7-4,9; углеводов – 2,9-5,1, при углеводно-жировом соотношении (по калорийности): 1:1,4-4,0. Из оставленных на племя ремонтных самок норки, в соответствии с типом кормления в июле-августе, сформировали две группы для последующей оценки показателей воспроизводства во втором опыте. Установлено, что потребность самок в питательных веществах в период воспроизводства и лактации обеспечивается содержанием углеводов и жира в рационе 13,2-16,4% и 39,1-38,1% от калорийности корма (при соотношении 1:2,3-3,0) и уровнем протеина в среднем 10,1-10,6 г на 100 ккал ОЭ. Полученные результаты свидетельствуют, что при адаптации коротковолосой норки к существующей технологии кормления в условиях современной кормовой базы снижение уровня энергетического питания ремонтных самок в период роста в июле-августе (на 10% ниже рекомендуемых норм) удовлетворяет потребность племенных растущих самок, обеспечивает формирование у них высокой воспроизводительной способности: плодовитость на 6,37±0,44 щенка и выход молодняка 5,24±0,43 щенка на основную самку. Позволяет снизить затраты на корма в этот период на 10,3%.

ВВЕДЕНИЕ

По данным анализа динамики поголовья норок, разводимых в племенных хозяйствах Российской Федерации, общее поголовье норок стандартной черной породы насчитывает более 21,8 тыс. самок (18,2%) от общей численности самок норок в племенных заводах [1].

Критерием успешности физиологической адаптации животных является оптимальное физиологическое состояние, сохранение гомеостаза в процессе взаимодействия со средовыми факторами, поддержание высокой продуктивности. Воздействие природных и антропогенных факторов среды (изменение уровня кормления в разные сезоны года, качество кормов, ветеринарные и зоотехнические мероприятия и др.) сказывается на физиологическом состоянии животных, что, несомненно, оказывает влияние на жизнеспособность и продуктивность животных [2, 3]. Как известно, ремонтному молодняку, предназначенному для основного стада (для племенных целей), для нормального формирования воспроизводительной функции требуется умеренный энергетический уровень кормления [4-8]. Для адаптации короткошестой норки к существующей технологии кормления в условиях современной кормовой базы России необходимо уточнить её потребность в энергии, обеспечивающую реализацию генетического потенциала, проводить оценку физиологического состояния организма в различные биологические периоды.

Цель исследований: изучить влияния разного энергетического уровня кормления ремонтных самок короткошестой норки в период выращивания (июль-август) на формирование их будущей воспроизводительной способности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели провели два научно-хозяйственных опыта в АО «Племенной зверосовхоз «Салтыковский» (Московская область).

В первом опыте в июне на норковой ферме сформировали две группы молодняка ремонтных самок короткошестой

стандартной черной норки, по 40 гол. в каждой, с учетом их средней живой массы, даты рождения и происхождения. Перед началом опыта, в начале августа и в конце августа, перед его окончанием, а также через 2 месяца на 1 ноября самки каждой группы были взвешены с точностью 10 г. Первая группа – контрольная получала количество кормосмеси с уровнем энергии, рекомендованным для получения конечной живой массы зверей к 1 ноября до 1,5 кг [9]; вторая группа – опытная – с пониженным уровнем энергии на 10%. Количество корма дозировали по группам. После окончания опыта (конец августа) норки обеих групп перевели на кормление по энергетическим нормам [9].

В ноябре, в соответствии с типом кормления в июле-августе, из оставленных на племя ремонтных самок норки сформировали две группы для последующей оценки показателей воспроизводства во втором опыте. На начало гона в контрольной и опытной группах было 38 и 37 самок, соответственно. По окончании опыта проведен учет показателей воспроизводства самок (покрытых, шенившихся самок; плодовитость; выход молодняка на основную самку; сохранность молодняка).

Перед завершением опыта оценили рост молодняка до отсадки от матерей. В опытной и контрольной группах отобрали щенков с учетом даты рождения, пола и величины помета самок. В контрольной группе щенков было 47 самцов и 40 самок, в опытной группе – 40 и 46 щенков, соответственно. Живую массу измеряли в возрасте 38-40 дней.

В течение опытов самки и щенки получали общехозяйственный рацион. Для проведения полного зоотехнического анализа отобрали средние пробы кормосмеси. Содержание в кормосмесях сырых питательных веществ определено методом полного зоотехнического анализа [10]. Проведен анализ фона кормления норки.

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с

использованием компьютерной программы Microsoft Excel и t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В первом опыте в период выращивания (июнь-ноябрь) ремонтных самок фактическое содержание питательных веществ в кормосмеси составило, г на 100 ккал обменной энергии (ОЭ): протеина – 7,6-9,9; жира – 3,7-4,9; углеводов – 2,9-5,1, при углеводно-жировом соотношении (по калорийности): 1:1,4-4,0.

Анализ данных по живой массе ремонтных самок норок показал, что живая масса животных обеих групп на начало августа была одинаковой, однако к началу сентября в опытной группе она снизилась на 88,0 г (на 8,9%) по сравнению контрольной группой и составила 1180,8±16,8 г против 1262,7±20,6 г ($p < 0,01$). Спустя 2 месяца после завершения опыта, при переводе самок на кормление по энергетическим нормам, к 1 ноября живая масса зверей в группах была практически одинаковой 1461,8±27,9 и 1492,1±28,7 г, соответственно. Абсолютный прирост живой массы за этот период наблюдения в опытной группе был выше, чем в контрольной на 112,2 г, относительный – на 8,7% (23,3% против 14,6%). Пониженный уровень энергетического питания ремонтных самок коротковолосяй норки (на 10% ниже рекомендованных норм [9]) в июле-августе (220-260 ккал на

гол./сут.) обеспечивает получение планируемой живой массы к 1 ноября – 1,5 кг.

Во втором опыте установлено, что потребность самок в питательных веществах в период воспроизводства и лактации обеспечивается за счет содержания углеводов и жира в рационе 13,2-16,4% и 39,1-38,1% от калорийности корма (при соотношении 1:2,3-3,0) при уровне протеина в среднем 10,1-10,6 г на 100 ккал ОЭ, что соответствует принятым нормам [9].

Среднесуточная калорийность потребленного корма самками в январе-марте составила 240,0 ккал ОЭ на голову, в апреле-мае 430,0 ккал ОЭ.

Данные по щенению самок приведены в таблице.

В опытной группе после гона пала 1 самка, в контрольной и опытной группах всего ошенилось 35 и 36 самок, соответственно. Анализ результатов воспроизводства самок показал, что в опытной группе не было непокрытых и пропустовавших самок, за счёт этого выход молодняка был выше на 0,13 щенка.

Перед отсадкой щенков от матерей установили, что живая масса самцов и самок в обеих группах была практически одинаковой и составила: в контрольной группе – 327,1±8,6 г и 300,4±9,6 г, в опытной – 330,8±9 г и 286,2±6,3 г, соответственно.

Таблица
Результаты воспроизводства молодых самок коротковолосяй норки (M±m)

Показатели	Группа	
	контрольная	опытная
n	38	37
Пало самок, %	-	2,70
Холостых самок, %	2,63	-
Пропустовало самок, %	5,26	-
НБР самок, %*	-	2,7
Мертворожденных щенков, %	2,39	1,35
Плодовитость, гол.	5,97±0,28	6,37±0,44
Отход щенков до регистрации, %	4,4	8,5
Выход молодняка на основную самку, гол.	5,13±0,40	5,24±0,43

*Неблагополучно родившая самка

Пониженный уровень энергетического питания ремонтных самок коротковолосяной норки в период роста в июле-августе (на 10% ниже рекомендуемых норм) и последующий перевод их на кормление по рекомендуемым нормам в сентябре и последующие месяцы удовлетворяет потребность племенных растущих самок и обеспечивает формирование у них высокой воспроизводительной способности. Полученные результаты согласуются с ранее полученными данными по увеличению репродуктивных показателей у ремонтных самок и самцов норки, песцов и лисиц (уменьшение пропусков самок и увеличение показателя выхода щенков) при снижении энергетического уровня питания в период роста в июле-сентябре [4-8].

Умеренное ограничение рациона норки в осенний период исключает экстремальные колебания массы тела на протяжении всего периода воспроизводства, повышает размер их помета и восстановление массы после лактации, а у молодых самок уменьшает повреждение ДНК [11].

Экономическая эффективность при снижении уровня энергетического питания ремонтных самок коротковолосяной норки в июле-августе за счет снижения затрат на корма в этот период на 10,3% и от увеличения выхода щенков составила 128,7 руб. на 1 самку (в ценах 2019-2020 гг.)

ВЫВОДЫ

Исследованиями установлено, что при адаптации коротковолосяной норки к существующей технологии кормления в условиях современной кормовой базы снижение уровня энергетического питания ремонтных самок в период роста в июле-августе (на 10% ниже рекомендуемых норм) удовлетворяет потребность племенных растущих самок и обеспечивает формирование у них высокой воспроизводительной способности: плодовитость на $6,37 \pm 0,44$ щенка и выход молодняка $5,24 \pm 0,43$ щенка на основную самку. Позволяет снизить затраты на корма в этот период на 10,3%.

Reproductive capacity of repairing standard black mink females in

dependence of the food energy level during the growing period. N.N. Loenko – Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher of the Department of Animal Breeding and Rabbit Breeding, V.N. Kulikov – Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher of the Department of Animal Breeding and Rabbit Breeding, I.P. Ludnov – Junior Researcher, Department of Animal Breeding and Rabbit Breeding. Federal State Budget Scientific Institute «Scientific Research Institute of Fur - Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V.A. Afanas'ev».

ABSTRACT

Studying the effect of different energy levels of feeding of replacement female short-haired minks during the rearing period (July-August) on the formation of their future reproductive capacity was the aim of the research. The experiments were carried out on replacement females of short-haired standard black mink in the animal farm of the Saltykovsky Tribal Fur Farm JSC, Moscow Region. The level of energy supply in July-August was specified for replacement females mink in order to study the subsequent reproductive ability. During this period, the feeding level (in terms of energy) was limited by 10.0% in the experimental group. After the end of the experiment (end of August), the minks were transferred to feeding according to the existing energy norms (2007). The content of digestible nutrients in 100 kcal of MA was: protein – 7.6-9.9 g; fat – 3.7-4.9 g; carbohydrates – 2.9-5.1 g, with a carbohydrate-fat ratio (by calorie content): 1: 1.4-4.0 during the rearing period (June-November) of replacement female minks. Two groups were formed for the subsequent assessment of reproduction indicators in the second experiment from the replacement female minks left for the tribe, in accordance with the type of feeding in July-August. It was found that the nutritional requirements of females during reproduction and lactation is covered by the carbohydrates and fat content in the diet of 13.2-16.4% and 39.1-38.1%, respectively, of the caloric content of the feed (with a ratio of 1: 2.3-3.0) and a protein level on

average of 10.1-10.6 g per 100 kcal MA. The results obtained indicate that during adaptation of the short-haired mink to the existing feeding technology under the modern food base conditions, a decrease in the energy nutrition level of replacement females during the growth period in July-August (by 10% below the recommended norms) satisfies the nutritional requirements for breeding growing females, ensures the formation of high reproductive ability: fertility per 6,37±0,44 puppy and output of young animals 5,24±0,43 puppies per main female. It allows to reduce feed costs by 10.3% during this period.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демина Т.М., Корсунь А.В., Лоевко Н.Н. Характеристика стад клеточных пушных зверей в хозяйствах Российской Федерации в 2019-2020 гг.: монография. Москва: Типография РПК «Репрайм», 2020 (выпуск 20). – 100 с.
2. Тютюнник Н.Н. Актуальные проблемы экологической физиологии и биохимии животных, введенных в зоокультуру // Современные проблемы и методы экологической физиологии и патологии млекопитающих, введенных в зоокультуру: материалы 4 международного симпозиума. – 2009. – С. 65-69.
3. Квартникова Е.Г., Куликов В.Н., Кровина Е.В., Кудрявцев В.Б., Ковальчук Н.П. Необходимость адаптации коротковолосяй норки к отечественной кормовой базе // Кролиководство и звероводство. – №4. – 2018. – С. 19-24.
4. Чепрасов В.Д. Уровень энергии и протеина в рационах самок норок в периоды их выращивания и размножения: Автор. Диссертации. – М., 1977. – 28 с.
5. Перельдик Н.Ш., Милованов Л.В., Ерин А.Т. Кормление пушных зверей – М.: Агропромиздат, 1987. – 351 с.
6. Глухов В.Л. Особенности кормления молодняка лисиц // Кролиководство и звероводство. – №5. – 1988. – С. 15.
7. Лоевко Н.Н. Репродуктивная способность ремонтных самок серебристых песцов в зависимости от уровня энергетического питания // Сельскохозяйственная биология. – 1995. – Т. 30. – № 2. – С. 67-72.
8. Демина Т.М., Растимешина О.В. Репродуктивные качества самцов норок при комплексном выращивании и нормированном кормлении // Сельскохозяйственная биология. – 1998. – Т. 33. – № 6. – С. 76-80.
9. Нормы кормления и нормативы затрат кормов для пушных зверей и кроликов / под ред. Н.А. Балакирева, В.Ф. Кладовщикова. Справочное пособие. М.: Россельхозакадемия, 2007. – 185 с.
10. Зоотехнический анализ кормов / Петухова Е.А., Бессарабова Р.Ф., Халенева Л.Д., Антонова О.А. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1989. – 239 с.
11. Boudreau L., Benkel B., Astatkie T., Rouvinen-Watt K. Ideal body condition improves reproductive performance and influences genetic health in female mink. Anim Reprod Sci. 2014 Feb.; 145 (1-2): 86-98.

УДК 611.65:636.92

ДИНАМИКА РОСТА И РАЗВИТИЯ ЯИЧНИКОВ КРОЛЬЧИХ С МОМЕНТА РОЖДЕНИЯ ДО ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ

Николаев С.В.-асп. УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

Ключевые слова: кролик, гистология, яичник, фолликул, структура.
Keywords: rabbit, histology, ovary, follicle, structure.



РЕФЕРАТ

Морфологическое изучение репродуктивной системы, в частности особенностей структурного строения и возрастной динамики развития яичников у крольчих в постнатальном онтогенезе имеет огромное теоретическое и практическое значение для решения задач воспроизводства поголовья. Знание биологических особенностей в различные периоды онтогенеза позволяют определять естественное состояние яичников, при этом своевременно диагностировать патологии различного характера.

В работе объектом исследований выступили кролики, предметом – яичники. При проведении гистологических исследований яичников крольчих в возрастном аспекте определяли следующие показатели: диаметр шаров «Пфлюгера», площадь примордиальных фолликулов и диаметр ядер ооцитов, площадь первичных, вторичных и третичных фолликулов, площадь их ооцитов с диаметром ядер, толщину теки и блестящей оболочки вторичных и третичных фолликулов, диаметр гемокапилляров. Проведение исследований осуществлялось в условиях кролиководческого хозяйства Витебской области Республики Беларусь, прозектория и лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

При гистологическом исследовании яичников установлено, что при рождении крольчихи имеют несформированный, в плане структурного строения яичник, свое классическое дефинитивное строение приобретают только к месячному возрасту. Плановость роста отмечается до четырех месячного возраста, где уже наблюдается полностью сформированные структурные элементы железы, однако пускать в случку крольчиху в данном возрасте не целесообразно, ввиду отсутствия достаточно окрепшего организма для вынашивания потомства. Таким образом, результаты исследований углубляют, расширяют и дополняют данные по возрастной морфологии пушных зверей и могут являться критерием для их оценки в практической ветеринарной медицине и в кролиководстве в целом.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время развитие кролиководства является одним из перспективных направлений, ведь помимо пушнины крольчатина является весьма полезным диетическим продуктом питания. Для повышения эффективности ведения кролиководства немаловажное значение имеет ведение племенной работы, которая неразрывно связана с репродукцией животных [2].

Целью исследования явилось изучение особенностей строения яичников крольчих и динамика их развития в постнатальном онтогенезе. При знании особенностей строения, а также физиологических особенностей строения яичников крольчих в разные физиологические периоды позволяет определить их нормальное состояние, что в свою очередь помогает своевременно организовывать подготовку

гона и проведение племенной работы в кролиководческих хозяйствах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведение исследований осуществлялось в прозектории и лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО «Витебская академия «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Был проведен убой 25 особей кроликов. Предметом исследований служили яичники. Морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятым методикам [4]. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3 – 5 – 7 мкм на санном микротоме. Для изучения гистологической картины срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону [4, 5].

Абсолютные измерения структурных компонентов яичников кроликов осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели ВХ-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra20» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell^A».

Терминология описываемых гистологических структур яичников приводилась в соответствии с Международной ветеринарной гистологической номенклатурой.

Все цифровые данные, полученные при проведении экспериментальных исследований, были обработаны статистически с помощью компьютерной программы «Microsoft Office Excel».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При гистологическом исследовании яичников новорожденных крольчат нами установлены видовые и возрастные особенности. Так, на момент рождения формирование яичника еще не окончено, в отличие от большинства млекопитающих [1, 6], у кролика стадия оогенеза захватывает и начало постнатального периода жизни. На момент рождения в яичниках кроликов совершается переход от оогониальной стадии к стадии ооцита. Снаружи яичник покрыт поверхностным эпителием кубической формы, который располагается над белочной оболочкой. Под ней находятся два слоя уплощенных клеток с

палочковидными ядрами и далее «гнезда» половой ткани, состоящие из половых клеток округлой и овоидной формы. Их ядра с хорошо заметными крупными гранулами хроматина. Кортикальная зона очень узкая, основную массу коры составляют «пфлюгерские мешки» или «шары Пфлюгера». На данной стадии развития отсутствуют процессы фолликулярного созревания, данный факт говорит о том, что для яичника крольчат в период новорожденности характерен гипопластический тип строения. В паренхиме яичника выделяют две зоны – корковую и мозговую. В корковой зоне прослеживаются тяжи коллагеновых волокон, идущих от белковой оболочки и достигающие мозгового вещества. Между коллагеновыми волокнами, в пределах корковой зоны располагаются «шары Пфлюгера» диаметр которых составляет $47,51 \pm 5,19$ мкм. Эти структуры образованы плоскими фолликулярными клетками и содержат внутри несколько делящихся ооцитов. Оставшаяся структурная часть яичника представлена мозговым веществом, которое образовано соединительной тканью и полиморфными клетками. Мозговое вещество делится на две не резко разграниченные зоны: внешнюю, состоящую из полигональных клеток, и глубокую, состоящую из клеток неправильной формы, которые простираются до ворот яичника. Клетки плотно прилегают друг к другу, между ними многочисленные мелкие кровеносные сосуды, диаметр которых составляет $7,86 \pm 0,58$ мкм. На отдельных гистологических срезах в мозговом веществе встречаются «пфлюгерские мешки».

Установлено, что к месячному возрасту, яичники самок кроликов структурно развиты и дальнейшее их развитие проходит стремительно. Яичник крольчат месячного возраста покрыт однорядным кубическим эпителием, кора яичника становится более дифференцирована, при этом мозговое вещество выражено слабее. Белочная оболочка тоньше по отношению к корковой зоне. Под ней расположены ооциты. Глубже в паренхиме коры видно большое количество примор-

диальных фолликулов, которые располагаются на протяжении всего яичника, особенно много их отмечается со стороны внутреннего и наружного края яичника. Их площадь составляет $829,49 \pm 104,54$ мкм². Примордиальные фолликулы окружают плоско-кубические фолликулярные клетки. Ядра ооцитов сравнительно большие с сетчато и радиально расположенными плохо окрашенными хромосомами. Диаметр ядер ооцита составляет $14,21 \pm 2,65$ мкм. Помимо примордиальных фолликулов в коре яичника наблюдаются первичные и вторичные фолликулы. Первичный фолликул представлен ооцитом первого порядка, с площадью $3189,57 \pm 973,47$ мкм², окруженным двумя слоями призматических фолликулярных клеток, диаметр ядра $21,27 \pm 7,14$ мкм. Средняя площадь первичного фолликула составляет $11781,4 \pm 6124,86$ мкм².

Далее первичный фолликул претерпевает изменения, которые заключаются в росте блестящей оболочки толщиной $4,21 \pm 0,9$ мкм, затем формируется зернистая оболочка, которая продуцируется фолликулярными клетками, а снаружи фолликула формируется внешняя соединительнотканная оболочка размером $59,53 \pm 9,73$ мкм, между фолликулярными клетками образуются полости, заполненные фолликулярной жидкостью. Такой фолликул определяется как вторичный и его площадь равна $21020,18 \pm 12949,29$ мкм². Площадь ооцита составляет $5347,05 \pm 1816,26$ мкм², а диаметр его ядра $20,75 \pm 3,21$ мкм. При слиянии полостей, заполненных фолликулярной жидкостью, вторичный фолликул трансформируется в третичный, на ранней стадии развития, площадь которого равна $25990,47 \pm 8912,59$ мкм². В данный период хорошо дифференцируется тека фолликула $65,45 \pm 7,69$ мкм. Снаружи третичный фолликул покрыт базальной мембраной и соединительнотканной оболочкой, которая в свою очередь состоит из внутренней и наружной частей теки. Сам ооцит площадью $4126,03 \pm 1207,14$ мкм², покрыт блестящей оболочкой толщиной $5,02 \pm 0,69$ мкм. Диаметр ядра ооцита $19,93 \pm 5,24$ мкм.

Наши исследования показали, что примордиальные, первичные и вторичные фолликулы располагаются преимущественно в корковой зоне, а вот мозговую зону заполняют ранние антральные третичные фолликулы. При этом большую часть объема железы занимают вторичные фолликулы. Помимо бурно протекающего фолликулогенеза, в яичниках месячных крольчих ярко выражен процесс атрезии. Диаметр атретических фолликулов $624,09 \pm 112,58$ мкм, он заключается в деформации яйцеклетки и перерождении фолликулярных клеток. Диаметр гемокapилляров в данный возрастной период составляет $15,78 \pm 5,12$ мкм ($p < 0,01$). Все фолликулы имеют округло-овальную форму.

К двух месячному возрасту яичник кроликов уже имеет четкое разделение на корковую и мозговую зоны. Снаружи яичник покрыт однорядным кубическим эпителием, в некоторых местах эпителий становится ложно многоклеточным. Белочная оболочка в гистологических срезах отчетливо видна в виде фибробластов, по средствам коллагеновых пучков связанных между собой. В корковом веществе располагаются преимущественно примордиальные фолликулы площадью $851,78 \pm 115,79$ мкм², большая их часть сосредоточена компактными группами на полюсах яичника, по краям количество примордиальных фолликулов незначительно, как в возрасте 1-го месяца, если же оценивать по общему объему примордиальных фолликулов, можно констатировать, что он равен предыдущему возрасту.

Диаметр ядра ооцита первого порядка составляет $14,34 \pm 0,73$ мкм, оно покрыто слоем плоско-кубического эпителия. Первичные и вторичные фолликулы чаще располагаются на границе корковой и мозговой зоны сосредотачиваясь на полюсах, редко можно наблюдать 1 – 2 в центре железы. Размер и форма их не всегда одинаковы. Их площадь составляет $11402,00 \pm 4002,31$ мкм² и $114607,48 \pm 22558,52$ мкм² ($p < 0,001$) соответственно. Ооцит первого порядка

первичного фолликула составляет $3204,40 \pm 1960,92$ мкм², во вторичном фолликуле – $7363,70 \pm 502,82$ мкм², диаметр их ядер $21,47 \pm 5,15$ мкм и $21,83 \pm 4,52$ мкм соответственно. Толщина блестящей оболочки вторичных фолликулов равна $5,42 \pm 0,88$ мкм, толщина теки – $62,44 \pm 4,6$ мкм. В толще мозговые вещества яичника располагается от 8 до 12 крупных третичных фолликула площадью – $628433,09 \pm 123440,43$ мкм² ($p < 0,001$) что в 24 раза превышает показатель структурных элементов месячных крольчат. Как правило, третичные фолликулы располагаются на протяжении всего яичника. Основную массу составляют антральные фолликулы. Толщина их теки составляет $74,04 \pm 7,59$ мкм, блестящей оболочки $5,43 \pm 0,79$ мкм. Площадь ооцита равна $6233,68 \pm 1853,29$ мкм² ($p < 0,05$) с диаметром ядра – $22,36 \pm 5,57$ мкм. Часть вторичных фолликулов преобразованы в атретические диаметром – $633,12 \pm 63,58$ мкм, они наблюдаются только в центре железы. Диаметр гемокапилляров в этот возрастной период равен $20,27 \pm 3,44$ мкм.

К трем месяцам железа снаружи покрыта однорядным кубическим эпителием. Белочная оболочка в гистологических срезах сохраняет свое структурное строение. Под ней со стороны внутреннего края яичника сосредоточено большое количество примордиальных фолликулов различной формы и размеров площадью $922,58 \pm 125,32$ мкм², покрытых плоско-кубическим эпителием. Диаметр ядра в ооците составляет – $14,09 \pm 2,41$ мкм. Со стороны наружного края яичника больше располагается первичных и вторичных фолликулов с их площадью $14602,16 \pm 8110,70$ мкм² и $168283,93 \pm 64009,75$ мкм² ($p < 0,05$). Размер вторичного фолликула превышает аналогичный показатель предыдущего возрастного периода на 32%. Площадь ооцита первого порядка в первичном фолликуле составляет $3671,69 \pm 1695,06$ мкм², диаметр ядра $22,53 \pm 7,53$ мкм, у вторичного фолликула ооцит имеет площадь $7500,83 \pm 2049,85$ мкм², а диаметр его ядра $23,54 \pm 4,82$ мкм. При этом бле-

стящая оболочка у вторичного фолликула толщиной $6,85 \pm 0,73$ мкм, толщина же теки – $67,32 \pm 16,85$ мкм. Центральная часть яичника заполнена преимущественно третичными фолликулами в количестве от 4 до 15 штук площадью – $626172,09 \pm 146667,46$ мкм². Ооцит составляет $6347,27 \pm 1616,06$ мкм², диаметр ядра $26,05 \pm 7,12$ мкм, тека и блестящая оболочка толщиной $73,24 \pm 8,09$ и $7,07 \pm 0,39$ мкм соответственно. В центральной части железы присутствуют атретические фолликулы в количестве трех – четырех штук диаметром $716,41 \pm 54,58$ мкм, в некоторых случаях данные фолликулы наблюдались на полюсах яичника. Присутствует одно или два желтых тела с диаметром $436,61 \pm 54,81$ мкм, располагаясь ближе к полюсам железы. Диаметр гемокапилляра – $28,14 \pm 4,56$ мкм. Определено, что в данной возрастной группе основную массу яичника представляют вторичные и третичные фолликулы. Однако, на отдельных гистологических срезах, наблюдалась картина, в которой вторичные фолликулы преобладали в своей массе над остальными структурными элементами и заполняли практически все пространство железы.

По достижению крольчихами четырех месячного возраста они переходят в стадию половозрелости. К этому периоду покровный эпителий яичников сменяется с кубического на плоско-кубический. Также происходит утолщение белочной оболочки. Примордиальные фолликулы располагаются, в основном, на внутреннем и наружном краях яичника в 2 – 3 ряда, их количество снижается в сравнении с предыдущим возрастным периодом. Диаметр ядра примордиального фолликула равен $13,99 \pm 1,03$ мкм, а площадь самого фолликула – $1169,8 \pm 143,97$ мкм². Отмечено, что первичные и вторичные фолликулы располагаются преимущественно в центральной части железы, а вот третичные фолликулы на периферии, практически под капсулой со стороны внутреннего края яичника. Площадь ооцита первого порядка первичного фолликула равна $5261,38 \pm 2074,91$ мкм², вторичного

9561,33±1921,28 мкм², при общей их площади – 19575,52±8494,33 мкм² и 266552,95±106910,08 мкм² (p<0,05) соответственно. Диаметр ядра первичного фолликула равен 23,37±4,96 мкм, вторичного – 25,66±8,00 мкм соответственно. Толщина блестящей оболочки у вторичного фолликула составляет – 6,63±1,07 мкм, а теки 83,75±23,23 мкм. Также в четырех месячном возрасте впервые появляются классические, предовуляторные третичные фолликулы. В этих фолликулах в отличие от антральных третичных появляется выпячивание внутрь фолликула или по другому – яйценосный бугорок. Установлено, что на отдельных гистологических срезах отмечалось незначительное количество фолликулов на всех своих стадиях развития, при этом были обнаружены лишь единичные первичные, вторичные и третичные фолликулы. В других же срезах третичные фолликулы преобладали в количестве до 8 штук в одном гистологическом препарате, площадь которых составляла – 630454,11±221629,99 мкм², площадь ооцита – 6817,40±1708,76 мкм², диаметр ядра – 29,09±6,11 мкм, толщина теки – 79,41±15,95 мкм, блестящей оболочки – 7,72±1,77 мкм. Атретических фолликулов незначительное количество 850,07±135,17 мкм в диаметре. Желтых тел до пяти штук (в одном гистологическом препарате) с диаметром 657,47±48,55 мкм. В данный возрастной период начинает развиваться обширная сеть кровеносных и лимфатических сосудов. Диаметр гемокapилляров составляет 28,20±2,69 мкм.

ВЫВОДЫ

Таким образом на момент рождения яичники крольчат имеют соединительно-тканый тип строения и только по достижению месячного возраста в паренхиме появляется большинство структурных элементов. Планомерный рост и развитие структур яичника проходит до четырех месячного возраста, в это же время появляются единичные предовуляторные фолликулы, что свидетельствует об его definitiva строения. Из этого следует, что

к четырех месячному возрасту, самки кроликов становятся половозрелыми, однако из-за недостаточно окрепшего организма таких животных допускать к случке не рекомендуется.

Dynamics of ovarian growth and development from birth to puberty. Nikolaev S.V. postgraduate student of the UO «Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine»

ABSTRACT

The morphological study of the reproductive system, in particular the peculiarities of the structural and age dynamics of ovarian development in rabbits in postnatal ontogenesis, is of great theoretical and practical importance for solving the problems of livestock reproduction. Knowledge of biological features during various periods of ontogenesis allows you to determine the natural state of the ovaries, and diagnosing pathologies of various nature only in a timely manner.

Rabbits were the object of research, and ovaries were the object. When performing histological studies of rabbit ovaries in the age aspect, the following indicators were determined: the diameter of Pfluger balls, the area of primordial follicles and the diameter of oocyte nuclei, the area of primary, secondary and tertiary follicles, the area of their oocytes with a diameter of nuclei, the thickness of the teka and shiny shell of secondary and tertiary follicles, the diameter of hemocapillars. Research was carried out in the conditions of the rabbit-breeding farm of the Vitebsk region of the Republic of Belarus, the prosector and laboratory of the Department of Pathological Anatomy and Histology of the Vitebsk Order of the Badge of Honor of the State Academy of Veterinary Medicine.

A histological examination of the ovaries found that at birth rabbits have an unformed ovary in terms of structural structure, they acquire their classical definitive structure only by monthly age. The regularity of growth is noted up to four months of age, where fully formed structural elements of the gland are already observed, but it is not advisable to let rabbit in the case at this age, due to the lack of a sufficiently strong

body for carrying offspring. Thus, the research results deepen, expand and supplement the data on the age morphology of fur animals and can be a criterion for their assessment in practical veterinary medicine and in rabbit breeding as a whole.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диндяев, С.В. Клиническая морфология женской репродуктивной системы / С.В. Диндяев // Учебно-методическое пособие для студентов медицинского института под редакцией профессора Ю.В. Погорелова. – Иваново: Ивановский ГМИ, 1994. С. 32-46.
2. Калугин, Ю. А. Биологические особенности кроликов / Ю. А. Калугин. – Москва : ФГБОУ ВПО МГАВМБ. - 2012. - 36 с.
3. Краткий атлас по биологии индивидуального развития : учебное издание / Г. Т.

Маслова [и др.]. – Минск : БГУ, 2008. – 108 с.
4. Организация гистологических исследований, техника изготовления и окраски гистопрепаратов: учебно-методическое пособие / В. С. Прудников, И. М. Луппова, А. И. Жуков, Д. Н. Федотов. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 28 с.
5. Федотов, Д. Н. Общая ветеринарная гистология : учебно-методическое пособие для студентов по специальностям 1 - 74 03 02 «Ветеринарная медицина», 1 - 74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза» / Д. Н. Федотов. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 58 с.
6. Хаджалов, А. И. Гистоморфология яичника суслика в постнатальном развитии и условиях зимней спячки / А. И. Хаджалов, Р. Т. Царвулкова-Денкова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – Ленинград, 1977. – Т. 73, вып. 10. – С. 105–110.



ХИРУРГИЯ

УДК 617.57/.58-002.3-002.44-085:636.32/.38
DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.217

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ОВЕЦ С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ ЯЗВАМИ ДИСТАЛЬНОГО ОТДЕЛА КОНЕЧНОСТЕЙ

Финагеев Е.Ю.-асп.каф. «Общей и частной хирургии имени К.И. Шакалова», Стекольников
А.А.- д.вет. н., проф., академик РАН
ФГБОУ ВО СПбГУВМ

Ключевые слова: овцы, патология, гнойно-некротическая язва, порошок, терапия, эффективность. **Keywords:** sheep, pathology, purulent-necrotic ulcer, powder, therapy, effectiveness.



РЕФЕРАТ

На сегодняшний день, заболевания дистального отдела конечностей у продуктивных животных имеют повсеместное и широкое распространение. В овцеводстве данная патология иногда принимает массовый характер, поражая от 38 до 83% животных в неблагополучных хозяйствах. Проблема заключается в том, что болезни копыт сильно затрудняют выпас животных, и, как следствие, снижается продуктивность и сохранность поголовья овец. Данная статья посвящена новому способу терапии овец с гнойно-некротическими язвами дистального отдела конечности.

Сегодня существует большое разнообразие способов и методов лечения заболеваний пальцев у овец в зависимости от степени и характера поражения. Но, несмотря на такое количество способов терапии, все они имеют преимущества и недостатки и не могут быть шаблонно применены без учета физиологического состояния животного, условий его содержания, этиологии и патогенеза заболевания, а также особенностей реактивности организма данного вида животного на травму и инфекцию. Поэтому предложено новое лекарственное средство для лечения овец с гнойно-некротическими язвами в области пальцев.

Технологическая простота изготовления препарата и доступность входящих в его состав компонентов, позволяют ветеринарным врачам самостоятельно готовить предлагаемое нами лекарственное средство непосредственно в условиях хозяйств или ферм в необходимом для работы количестве.

С целью апробации работы, в животноводческих хозяйствах Ростовской области, были образованы опытные и контрольные группы. Полученные результаты показали, что

Таким образом, предложенный нами новый лекарственный препарат не только прошел производственную апробацию, но и показал свою высокую экономическую и терапевтическую эффективность. А также, при применении нового способа терапии гнойно-некротических язв дистального отдела конечности у овец, выздоровление наступало у 100% овец на 10+2 день. Все три схемы лечения эффективны и с терапевтической, и с экономической точки зрения.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день хирургическая патология дистального отдела конечностей у продуктивных животных имеет повсеместное и широкое распространение, а в овцеводстве она иногда носит массовый характер поражения от 38 до 83% животных в неблагополучных хозяйствах. Это затрудняет выпас животных, снижает продуктивность и сохранность поголовья овец [2,4].

К числу таких заболеваний относятся гнойно-некротические поражения в области пальцев. Они возникают в результате глубоких нервно-дистрофических расстройств и являются следствием воздействия экзогенного и эндогенного факторов, к которым относятся: механические повреждения (раны, сдавливания, повторные ушибы), продолжительная мацерация, внедрение кератолитической и гноеродной микрофлоры, а также на фоне неполноценного, однообразного кормления и несоблюдения зооигиенических и карантинных мероприятий. Сегодня существует большое разнообразие способов и методов лечения овец с заболеваниями пальцев, учитывающие степень и характер поражения, однако все они имеют преимущества и недостатки и не могут быть шаблонно применены без учета физиологического состояния животного, условий его содержания, этиологии и патогенеза заболевания, а также особенностей реактивности организма данного вида животного на травму и инфекцию. Поэтому изыскание и внедрение в производство новых эффективных препаратов и способов лечения овец с заболеваниями дистального отдела конечностей является актуальным направлением исследований в современной ветеринарной медицине [1, 3, 5].

Целью нашего исследования являлась разработка и научное обоснование применения нового лекарственного препарата при лечении овец язвенными процессами в области пальцев.

Для достижения данной цели нами были поставлены следующие задачи:

1. Провести производственную апроба-

цию нового лекарственного препарата при лечении овец с гнойно-некротическими поражениями в области пальцев.

2. Определить его терапевтическую эффективность при данной патологии.

3. Провести оценку экономической эффективности предлагаемого способа лечения овец.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования выполнялись на базе овцеводческих ферм ЛПХ Магомедова Миллеровского района, СПК «Экспресс» Белокалитвинского района, ООО «Южное» Сальского района и КФХ Базаева, Р. З. Дубовского района Ростовской области.

Для лечения овец с гнойно-некротическими язвами в области пальцев мы предложили новое лекарственное средство. Нами поставлена цель изготовить препарат из дешевых и доступных в условиях производства компонентов, обладающих не только бактерицидным действием, но и стимулирующим процесс заживления патологического очага. Исходя из доступности лекарственных средств, мы выбрали три компонента: сульфат меди, борную и янтарную кислоты. При изготовлении препарата нами учитывался механизм действия его компонентов, обеспечивающих метаболический, иммуномодулирующий и антибактериальный эффекты. В первых поисковых опытах нами было изготовлено три препарата, получен Патент на изобретение № 2728552 [6].

1. Сульфат меди – 50 г, борная кислота – 40 г, янтарная кислота – 5 г;

2. Сульфат меди – 50 г, борная кислота – 40 г, янтарная кислота – 10 г;

3. Сульфат меди – 50 г, борная кислота – 40 г, янтарная кислота – 15 г.

В процессе эксперимента составы, содержащие 10 г и 15 г янтарной кислоты, оказывали схожее терапевтическое действие, поэтому в дальнейших исследованиях мы остановились на первом и втором вариантах препарата.

Технологическая простота изготовления препарата и доступность входящих в

Таблица 1

Схема лечения подопытных животных

Группы овец	Применяемые лекарственные средства
Контрольная группа n=10	Сульфат меди – 50,0 Борная кислота – 50,0 Межпальцевая блокада по А.И. Зыкову
1 опытная группа n=10	Сульфат меди – 50,0 Борная кислота – 40,0 Янтарная кислота – 5,0 Межпальцевая блокада по А.И.Зыкову
2 опытная группа n=10	Сульфат меди – 50,0 Борная кислота – 40,0 Янтарная кислота – 10,0 Межпальцевая блокада по А.И.Зыкову

его состав компонентов позволяют ветеринарным врачам самостоятельно готовить предлагаемое нами лекарственное средство непосредственно в условиях хозяйств или ферм, и в необходимом для работы количестве.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Для определения терапевтической эффективности нового лекарственного средства были сформированы три опытные группы животных, четвертая группа являлась контрольной. В каждую группу включали по 10 животных со сходными клиническими проявлениями заболевания. Общее состояние больных овец было удовлетворительное, отмечалась хромота типа опирающейся конечности, они в последнюю очередь подходили к кормушкам, а при выпасе шли в конце стада. Таких животных отлавливали и помещали в изолятор, для которого отвели отдельное помещение с чистой и сухой подстилкой. Каждая группа овец находилась в отдельном станке, их содержание и кормление было аналогичным.

В начале лечения проводили осмотр больной конечности, расчистку и обрезку копытцевого рога тщательно удаляли мертвые ткани. Это создавало благоприятные условия для последующей терапии, снижая возможность резорбции токсических продуктов жизнедеятельности микроорганизмов и интоксикацию организма животного, а также обеспечивало условия для эффективного действия лекарствен-

ных препаратов на патологический очаг.

С целью восстановления и улучшения нейротрофических процессов в пораженных тканях пальцев у овец проводили новокаиновую блокаду по А. И. Зыкову. Между пальцами у крупного и мелкого рогатого скота проходят дорсальные и пальмарные нервы 3 и 4 пальцев, иннервирующие ткани венчика, основы кожи внутренних стенок и подошвы. Поэтому данная блокада проводится при наличии патологических процессов в области пальцев и копытца. При проведении блокады используют 0,5% раствор новокаина, к которому при гнойных процессах добавляют антибиотик. Мы использовали бензилпенициллина натриевую соль. Затем на язвенную поверхность наносили лекарственный препарат в соответствии со схемой опыта, представленной в таблице 1.

Лекарственное средство наносили на патологический очаг и накладывали защитную повязку. В процессе эксперимента определяли динамику течения заболевания животных в опытных группах. Клиническая оценка заживления гнойно-некротических язв в области пальцев у овец представлена в таблице 2.

Исходя из полученных в опыте данных, наиболее интенсивный рост грануляционной ткани и эпителизация очага происходили у животных во второй опытной группе, что составило 4 и 10 дней соответственно. В контрольной и

Таблица 2
Динамика заживления гнойно-некротических язв у овец опытных групп

Показатели	Группы животных		
	контрольная группа n=10	1 опытная группа n=10	2 опытная группа n=10
Появление грануляций (дни)	5	4	3
Заполнение дефекта грануляциями (дни)	12	8	4
Эпителизация дефекта (дни)	18	14	10

Таблица 3
Сроки заживления гнойно-некротических язв в области пальцев у овец в эксперименте

Группы животных	Применяемый состав	Состояние тканей в очаге воспаления	Средняя продолжительность заживления дефектов у животных (дни)	Количество обработок
Контрольная группа	Сульфат меди - 50г Борна кислота - 50г	Заживление происходило под фибринозно-тканевым струпом, появление единичных грануляций отмечалось на 5-6 сутки. Они не равномерно покрывали поверхность дефекта, при пальпации легко кровоточили	18	5
1 опытная группа	Сульфат меди - 50г Борна кислота - 40г Янтарная кислота - 5г	Очищение очагов поражения происходило медленнее, отмечали появление здоровых грануляций ярко-красного цвета, плотной консистенции на четвертый – шестой день, заживление дефекта также сопровождалось образованием фибрино-тканевого струпа	14	4
2 опытная группа	Сульфат меди - 50г Борна кислота - 40г Янтарная кислота - 10г	Заживление происходило под фибринозно-тканевым струпом с образованием мелкозернистых, ярко-красного цвета. плотной консистенции. грануляци, покрытых слизисто-гнойным экссудатом	10	3

первой опытной группах процессы роста грануляций и эпителизация дефектов происходили более длительное время.

Сроки 100% заживления гнойно-некротических язв в области пальцев у овец представлены в таб. 3.

В результате проведенных нами исследований была установлена высокая терапевтическая эффективность предлагаемого нами препарата, в состав которого входит сульфат меди – 50 г., борная кислота – 40 г. и янтарная кислота – 10 г. Заживление гнойно-некротических язв во второй опытной группе, где применялся этот порошок, происходило в течение 10 дней. В первой опытной группе, где в состав используемого препарата входило 5 г. янтарной кислоты, процессы грануляции и эпителизации патологического очага происходили медленнее, и заживление дефекта завершалось к 14 дню. В контрольной группе, где в состав препарата янтарная кислота не была включена, сроки заживления язвы составили 18 дней, т. е. его терапевтическая эффективность оказалась наименее выраженной из трех сравниваемых препаратов.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты показали, что все 3 схемы лечения эффективны с терапевтической точки зрения, так как получено 100% выздоровление животных. Тем не менее, по необходимой длительности лечения, схема, примененная во второй опытной группе, показала наилучший результат.

Таким образом, предложенный нами новый лекарственный препарат прошел производственную апробацию, показал свою высокую терапевтическую эффективность. При его применении выздоровление наступало у 100% овец на 10 день за счет его антисептического, антигипоксического, метаболического, иммуномодулирующего действия на ткани в очаге поражения.

METHOD OF TREATMENT OF SHEEP WITH PURULENT-NECROTIC ULCERS OF THE DISTAL EXTREMITIES. Finageev E. -graduate student, Stekolnikov A. A.-Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences “ St. Petersburg State University of Veterinary Medicine”.

ABSTRACT

To date, diseases of the distal extremities in productive animals are widespread. In

sheep breeding, this pathology sometimes takes on a massive character, affecting from 38 to 83% of animals in problematic farms. The problem is that hoof diseases greatly complicate the grazing of animals, and, as a result, the productivity and safety of the sheep population decreases. This article is devoted to a new method of therapy of sheep with purulent-necrotic ulcers of the distal limb.

Today, there is a wide variety of ways and methods of treating finger diseases in sheep, depending on the degree and nature of the lesion. But, despite such a number of methods of therapy, they all have advantages and disadvantages and cannot be used in a template without taking into account the physiological state of the animal, the conditions of its maintenance, the etiology and pathogenesis of the disease, as well as the characteristics of the reactivity of the body of this type of animal to injury and infection. Therefore, we have proposed a new drug for the treatment of sheep with purulent-necrotic ulcers in the finger area.

The technological simplicity of manufacturing the drug and the availability of its components allow veterinarians to independently prepare the drug we offer directly in the conditions of farms and in the quantity necessary for work.

In order to test the work, experimental and control groups were formed in the livestock farms of the Rostov region.

The results obtained showed that all three treatment regimens are effective both from a therapeutic and economic point of view.

Thus, the new drug proposed by us, has not passed production testing, but also showed its high economic and therapeutic effectiveness. And also, when using a new method of therapy for purulent-necrotic ulcers of the distal limb in sheep, recovery occurred in 100% of sheep on 10+2 days.

ЛИТЕРАТУРА

1.Болезни овец и коз : практическое пособие / А. И. Ятусевич, А. А. Белко, Е. Л. Братушкина [и др.] ; Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2013. –

- 520 с. – ISBN: 978-985-512-754-4. – Текст : непосредственный.
2. Гнойно - гнилостное поражение тканей пальцев овец / А. Н. Елисеев, С. М. Коломийцев, А. И. Бледнов [и др.]. – Текст непосредственный // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 1. – С. 63-66.
3. Дмитриев, А.Ф. Болезни овец : учебное пособие / А. Ф. Дмитриев, А. Н. Кононов, В. В. Соловьев ; под общ.ред. А. Ф. Дмитриева ; Ставропольский государственный аграрный университет. – Ставрополь : Агрус, 2014. – 168 с. – Режим доступа: по подписке. – URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=277479> (дата обращения: 03.11.2020). – ISBN 978-5-9596-1010-4. – Текст : электронный.
4. Елисеев, А. Н. Распространенность гнилостного распада копытцевого рога у овец в условиях безвыгульного содержания / А. Н. Елисеев, В. А. Толкачев, Д. Л. Кучерук. – Текст непосредственный // Роль и место инноваций в сфере агропромышленного комплекса : материалы Всероссийской (национальной) науч.-практ. конф. (Курск, 20 ноября 2019 г.), посвящ. 100-летию со дня рождения профессора А. А. Сысова. – Курск : КГСХА, 2020. – С. 95-100.
5. Здоровье овцы начинается с копыт / Э. Веремей, В. Руколь, В. Журба, В. Ходас. – Текст непосредственный // Белорусское сельское хозяйство. – 2014. – № 5. – С. 83-87.
6. Патент № 2728552 С1 Российская Федерация, МПК А61К 33/22, А61К 33/34, А61К 31/194. Способ лечения раневого и язвенного процесса в области пальцев крупного и мелкого рогатого скота : № 2019143474 : заявл. 19.12.2019 : опубл. 30.07.2020 / И. И. Михайлова, Т. Р. Лещенко, О. Н. Михайлова [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Донской государственный аграрный университет".

УДК 617:636.32/.38(470.61)

DOI:10.17238/issn2072-2419.2021.3.223

ХИРУРГИЧЕСКАЯ ПАТОЛОГИЯ У ОВЕЦ В ХОЗЯЙСТВАХ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Финагеев Е.Ю.- асп. каф. «Общей и частной хирургии имени К.И. Шакалова», Стеколь-
ников А.А.-д. вет. н., проф., академик РАН,
ФГБОУ ВО СПбГУВМ

Ключевые слова: распространение, незаразная патология, овцы, дистальный отдел конечностей, причины. **Key words:** distribution, non-infectious pathology, sheep, distal extremities, causes.



РЕФЕРАТ

Состояние овцеводства в России связано с макроэкономической ситуацией в стране. Сельскохозяйственное производство призвано обеспечить продовольственную безопасность государства, однако наличие различных заболеваний животных тормозит развитие животноводства. В овцеводстве Ростовской области в последнее десятилетие сложилась крайне сложная ситуация, что привело к резкому сокращению поголовья животных. Научные исследования выполнялись на базе овцеводческих ферм в хозяйствах Миллеровского, Белокалитвинского, Сальского, Дубовского районов Ростовской области.

Положение осложняет наличие различной незаразной, в том числе хирургической патологии, к которой относятся заболевания пальцев. Предрасполагающими факторами возникновения хирургической патологии дистальных отделов конечностей были погрешности кормления и нарушение минерального обмена веществ в организме овец. У овец эта патология регистрируется часто, сопровождается снижением шерстной и мясной продуктивности на 40%, молочной на 60%. В связи с этим нами был проведен анализ незаразных болезней овец в хозяйствах Ростовской области. На основании осмотра и общего клинического обследования поголовья овец в хозяйствах Ростовской области был проведен анализ выявленной незаразной патологии. Проведенные нами исследования позволили выявить имеющуюся незаразную патологию у овец и ее распространение в хозяйствах Ростовской области. Мы установили максимальную заболеваемость животных хирургическими процессами, что составило 59% от всей незаразной патологии. Из этого количества 49,5% заболеваний приходится на дистальные отделы конечностей в том числе гнойно – некротические поражения. В процессе обследования нами были определены ведущие причины возникновения заболеваний в области пальцев.

ВВЕДЕНИЕ

Состояние овцеводства в России связано с макроэкономической ситуацией в стране. В благоприятные периоды отмечается увеличение численности животных, а в кризисные годы сокращение поголовья овец [3]. В овцеводстве Ростовской области в последнее десятилетие сложилась крайне сложная ситуация, что привело к резкому сокращению поголо-

вья животных. Положение осложняет наличие различной незаразной, в том числе хирургической патологии, к которой относятся заболевания пальцев. У овец эта патология регистрируется часто, сопровождается снижением шерстной и мясной продуктивности на 40%, молочной на 60%. У животных возникают проблемы с воспроизводительной способностью овцематок и баранов-

производителей, снижается упитанность молодняка, что сопровождается его выбраковкой и падежом. Это наносит значительный экономический ущерб хозяйствам [1, 2, 4, 5].

В связи с этим целью наших исследований было установить распространение незаразной, в том числе хирургической патологии у овец, определить ее виды и причины возникновения.

Для достижения данной цели нами были поставлены следующие задачи:

1. Провести анализ незаразной патологии у овец в хозяйствах Ростовской области.

2. Определить виды хирургической патологии и ее распространение.

3. Провести анализ ведущих причин заболевания животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования выполнялись на базе овцеводческих ферм в хозяйствах Миллеровского, Белокалитвинского, Сальского, Дубовского районов Ростовской области.

По результатам клинического обследования поголовья овец нами был прове-

ден анализ незаразной патологии животных, в том числе хирургической. При последующей ортопедической диспансеризации выявили овец с заболеваниями в области пальцев и определили характер имеющихся поражений.

Обследование животных с заболеваниями в области дистального отдела конечностей проводили по общепринятой методике. После сбора анамнеза определяли клинический статус больных овец, осматривали конечности в состоянии покоя, учитывали характер опирания о почву и частоту переступания, определяли состояние копыт, локализацию патологического очага и его характер.

Результаты и обсуждения. На основании осмотра и общего клинического обследования поголовья овец в хозяйствах Ростовской области был проведен анализ выявленной незаразной патологии. Его результаты представлены в рисунке 1.

Нами диагностировались заболевания органов желудочно-кишечного тракта, дыхания, однако наиболее распространена была хирургическая патоло-



Рис. 1 - Соотношение болезней незаразной этиологии у овец

Таблица 1

Результаты ортопедической диспансеризации овец в хозяйствах Ростовской области

Виды патологий в области пальцев	Миллеровский район	Белокалитвинский район	Сальский район	Дубовский район
Ссадины и царапины	5	7	10	4
Трещины стенки	-	4	5	6
Раны подошвы	18	15	7	9
Гнойное воспаление межпальцевой железы	15	3	4	-
Гиперплазия межпальцевой кожной складки	19	8	2	-
Отслоение копытцевой стенки	26	6	4	1
Гнойно-некротические язвы	41	14	8	1
Итого	124	57	40	21

Примечание. Данные приведены на основании собственных исследований

гия составляющая 59% от всех незаразных заболеваний. Из хирургических процессов 4,7% овец были с различными травмами, 2% с болезнями кожи, 1,4% с поститами, 49,5% в патологией дистального отдела конечностей.

В период исследований нами установлена наибольшая заболеваемость пальцев у овец в Миллеровском районе (21%), чему способствовали природно-климатические условия. Значительное количество осадков и повышенная влажность почвы способствовали мацерации и повреждению копытцевого рога. Восточнее заболеваемость снижалась, так в Белокалитвинском районе выявили - 14,1%, в Сальском районе – 12,9% и в Дубовском районе лишь – 2,8% больных животных, что по нашему мнению связано с малоснежной зимой и наступившей засухой в весенне-летний период. Это позволило снизить негативное воздействие внешней среды на область пальцев и уменьшить заболеваемость овец.

Для определения видов патологии дистального отдела конечностей нами была проведена ортопедическая диспансеризация овец. В результате которой установили наличие травматических повреждений и их отдаленных последствий. Полученные результаты представлены в таблице 1.

При анализе полученных результатов было отмечено, что наиболее тяжелая обстановка по заболеваемости овец регистрировалась в личном подсобном хозяйстве Магомедова Миллеровского района, что напрямую связано с условиями содержания животных. Мы наблюдали различную клиническую картину заболеваний пальцев у овец, отмечали ухудшение общего состояния, снижение аппетита, в тяжёлых случаях незначительное повышение общей температуры тела. На ранних стадиях болезни регистрировали мацерацию и набухание копытцевого рога и прилегающих участков кожи, что способствовало травмированию копытца. В области мякши, подошвы и аксиальной стенки копытцевый рог был тусклым, мягкий. При расчистке и обрезке копытным ножом рог подошвы легко отделялся в виде небольших кусочков. Патологические изменения копытцевого рога, часто сопровождались хромотой типа опирающейся конечности.

При анализе основных причин возникновения заболеваний дистального отдела конечностей мы обратили внимание на нарушения зооигиенических условий содержания животных, выпас овец проводился на засоренных участках, по низкой стерне. Поение животных из естественных водоемов осуществлялось в участках с большим количе-

ством камыша. Перечисленные факторы приводили к различным механическим повреждениям, мацерации мягких тканей в области пальцев, что способствовало внедрению возбудителей хирургической инфекции и развитию заболеваний.

Предрасполагающими факторами возникновения хирургической патологии дистальных отделов конечностей были погрешности кормления и нарушение минерального обмена веществ в организме овец.

ВЫВОДЫ

Таким образом, проведенные нами исследования позволили выявить имеющуюся незаразную патологию у овец и ее распространение в хозяйствах Ростовской области. Мы установили максимальную заболеваемость животных хирургическими процессами, что составило 59% от всей незаразной патологии. Из этого количества 49,5% заболеваний приходится на дистальные отделы конечностей в том числе гнойно – некротические поражения. В процессе обследования нами были определены ведущие причины возникновения заболеваний в области пальцев.

Surgical pathology in sheep at the farms of the rostop region. Finageev E.Y. - graduate student, Stekolnikov A. A.- Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences «St. Petersburg State University of Veterinary Medicine».

ABSTRACT

The state of sheep breeding in Russia is associated with the macroeconomic situation in the country. Agricultural production is designed to ensure the food security of the state, but the presence of various animal diseases inhibits the development of animal husbandry. In the last decade, an extremely difficult situation has developed in sheep breeding in the Rostov region, which has led to a sharp reduction in the number of animals. Scientific research was carried out on the basis of sheep farms in the farms of the Millerovsky, Belokalitvinsky, Salsky, Dubovsky districts of the Rostov region.

The situation is complicated by the presence of various non-infectious, including surgical pathologies, which include diseases of the fingers. The predisposing factors for the emergence of surgical pathology of the distal extremities were feeding errors and impaired mineral metabolism in the body of sheep. In sheep, this pathology is often

recorded, accompanied by a decrease in wool and meat productivity by 40%, milk productivity by 60%. In this regard, we carried out an analysis of non-communicable diseases of sheep in the farms of the Rostov region. Based on the examination and general clinical examination of the sheep population in the farms of the Rostov region, an analysis of the revealed non-infectious pathology was carried out. Our studies allowed us to identify the existing non-infectious pathology in sheep and its distribution in the farms of the Rostov region. We have established the maximum morbidity of animals from surgical processes, which amounted to 59% of all non-infectious pathology. Of this number, 49.5% of diseases occur in the distal extremities, including purulent - necrotic lesions. During the examination, we identified the leading causes of diseases in the area of the fingers.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бектемиров, М. А. Копытная гниль овец / М. А. Бектемиров. – Текст : непосредственный // Ветеринария. – 1983. – № 2. – С. 40-42.
2. Елисеев, А. Н. Частота регистрации гнойно-гнилостного распада рога подошвы у овец в сезонном и возрастном аспектах / А. Н. Елисеев, В. А. Толкачев, Д. Л. Кучерук. – Текст непосредственный // Инновационная деятельность науки и образования в агропромышленном производстве : материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Курск, 28 февраля 2019 г.). – Курск : КГСХА, 2019. – С. 31-37.
3. Ерохин, С. А. Состояние, динамика и тенденции в развитии овцеводства в мире и в России / С. А. Ерохин, Е. А. Карасев, С. А. Ерохин. – Текст непосредственный // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2019. – № 3. – С. 3-6.
4. Здоровье овцы начинается с копыт / Э. Веремей, В. Руколь, В. Журба, В. Ходас. – Текст непосредственный // Белорусское сельское хозяйство. – 2014. – № 5. – С. 83-87.
5. Характеристика заболеваний пальцев у овец в хозяйствах Ростовской области / Е. Ю. Финягеев, И. И. Михайлова, Т. Р. Лещенко, А. В. Васильев. – Текст : непосредственный // Актуальные проблемы и методические подходы к диагностике, лечению и профилактике болезней животных и птиц : материалы междунар. науч.-практ. конф., 7 февраля 2020 года. – Персиановский : Донской ГАУ, 2020. – С. 113-117.

КАРОФЕРТИН

Carofertin

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ
НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ
ФУНКЦИИ ЖИВОТНЫХ



МЕШОК МОРКОВИ В ОДНОМ ФЛАКОНЕ!

β-КАРОТИН 10 МГ/МЛ

- нормализация полового цикла
- стимуляция оплодотворения
- снижение эмбриональной смертности
- сокращение периода субинволюции матки
- повышение иммунитета новорожденных животных

Применение: в/м, п/к

Производитель:

"Sanochemia Pharmazeutika AG", Австрия



Разработчик:

"Alvetra u. Werfft GmbH", Австрия

ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ В СТРАНАХ ЕВРАЗИЙСКОГО ЭКОНОМИЧЕСКОГО СОЮЗА:

ГК НЕВА-ВЕТ ТЕЛ./ФАКС В СПБ (812) 596-37-75 VETARTEKA.RU

Номер регистрационного удостоверения: ОМО-3-3.15-2585 ПВИ-3-10.9/02984



гельмимакс

Таблетки для кошек и собак

НОВОЕ СЛОВО В ЛЕЧЕНИИ ГЕЛЬМИНТОЗОВ




Гельмимакс — принципиально новый антигельминтик.
Действует на 13 видов гельминтов.

- Надёжно уничтожает половозрелых гельминтов и их личинок не только в кишечнике, но и во всем организме.
- Может назначаться уже с 3-х недельного возраста.
- Удобная таблетка, самая маленькая в своём классе.
- Возможность деления таблетки на 4 части обеспечивает максимальную точность дозирования.



Моксидектин — новейший макроциклический лактон, уничтожающий круглых гельминтов. Максимальная эффективность при высочайшей безопасности. Быстрое всасывание из просвета кишечника и быстрая элиминация.

Празиквантел — надёжнейшее средство против ленточных гельминтов. Дозировка соответствует европейским стандартам эффективности и безопасности.

 Аромат запечённой курицы  Высочайший уровень безопасности  Широкое ассортиментное предложение

 **apicenna**
Ветеринарная фармацевтика

 www.apicenna.ru
 [apicenna_veterinary](#)

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. НЕОБХОДИМО ПРОКОНСУЛЬТИРОВАТЬСЯ СО СПЕЦИАЛИСТОМ.

МВВ

Редакция журнала
«Международный вестник
ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург,
Черниговская 5, СПбГУВМ.
Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm_vestnik@mail.ru