СОДЕРЖАНИЕ

ВЕТЕРИНАРНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ С ТОКСИКОЛОГИЕЙ

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ЦЕОЛИТА И ШУНГИТА НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ СМЕШАННОМ МИКОТОКСИКОЗЕ *Н.Н.Мишина, Э.И.Семенов, К.Х.Папуниди, Р.М.Потехина, С.А.Танасева, О.К.Ермолаева, З.Х.Сагдеева, Д.Х.Гатауллин* 3

МОНИТОРИНГ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ СОБАК И КОШЕК РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ПЕРЕНОСИМОСТИ ИНСЕКТОАКАРИЦИДНОГО ОШЕЙНИКА «НЕОТЕРИКА ПРОТЕКТО 12» *М.В.Арисов, Е.Н.Индюхова, Е.А.Кошкарев, Г.Б.Арисова* 10

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ШУНГИТА И ЦЕОЛИТА В РАЦИОНАХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, КОНТАМИНИРОВАННЫХ КАДМИЕМ И СВИНЦОМ *Р.У.Бикташев, В.А.Конюхова, К.Х.Папуниди, И.Р.Кадиков, Г.Ш.Закирова, Д.Х.Гатауллин* 16

ИЗЫСКАНИЕ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ ИЗ КЛАССА ИНДУКТОРОВ ЦИТОКИНОВ *Н.Б.Тарасова, К.Н.Вагин, Г.В.Конюхов, Р.Н.Низамов* 21

ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ЭПИЗООТОЛОГИЯ

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ АНАЭРОБНОЙ ЭНТЕРОТОКСЕМИИ ЖИВОТНЫХ *А.Г.Спиридонов* 26

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОГОЛОВЬЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ВАКЦИНИРОВАННОГО ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ *А.П.Родионов* 30

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦИТРИНИНА НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ДИСБАКТЕРИОЗА И ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ СЕМЕЙСТВА ENTEROBACTERIACEAE *В.Н.Афонюшкин, Н.А.Донченко, Ю.Н.Козлова, Н.А.Давыдова, В.С.Черепушкина, О.А.Фролова* 35

ЭПИЗООТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ *А.В.Мищенко, В.А.Мищенко, О.Ю.Черных, В.Н.Шевкопляс, Р.А.Кривонос, А.А.Лысенко, А.Н.Чернов* 40

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ СРЕДСТВ С ЦЕЛЬЮ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ *М.О.Баратов* 47

СЕЛЕКЦИЯ И ГЕНЕТИКА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АЛЬФА-ЛАКТАЛЬБУМИНА С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И КАЧЕСТВОМ МОЛОКА КОРОВ *С.В.Тюлькин, Л.Р.Загидуллин, Т.М.Ахметов, Р.Р.Шайдуллин, Т.Х.Фаизов, И.О.Ефимова* 52

СОВМЕСТИМОСТЬ ВЫСОКОЙ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ В РАЗРЕЗЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЛЕПТИН (LEP) *Н.Ю.Сафина, Ш.К.Шакиров, Ю.Р.Юльметьева, Т.М.Ахметов* 57

ЭКОЛОГИЯ

КОНЦЕНТРАЦИЯ РАДИОНУКЛИДОВ В МЕДОНОСНЫХ РАСТЕНИЯХ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ЮЖНЫХ И ВОСТОЧНЫХ РАЙОНОВ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ *Ю.Н.Залыбина, В.С.Григорьев* 61

CONTENTS

VETERINARY PHARMACOLOGY WITH TOXICOLOGY

INFLUENCE OF THE COMPLEX OF ZEOLITE AND SHUNGIT ON THE RESISTANCE AND PRODUCTIVITY OF BROILER CHICKENS UNDER A MIXED MYCOTIXICOSIS *Mishina N.N., Semenov E.I., Papunidi K.Kh., Potekhina R.M., Tanaseva S.A., Ermolaeva O.K., Sagdeeva Z.Kh., Gataullin D.Kh.* 3

MONITORING OF SOME PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD OF DIFFERENT AGED DOGS AND CATS IN A STUDY OF TOLERANCE OF THE INSECTOACARICIDE COLLAR «NEOTERICA PROTECTO 12» *Arisov M.V., Indyuhova E.N., Koshkarev E.A., Arisova G.B.* 10

EFFICACY OF SHUNGITE AND ZEOLITE IN CHICKEN-BROILER DIETS CONTAMINATED BY CADMIUM AND LEAD *Biktashev R.U., Konuchova V.A., Papunidi K.H., Kadikov I.R., Zakirova G.Sh., Gataullin D.Kh.* 16

SEARCHING RADIOPROTECTIVE MEANS FROM THE CLASS OF INDUCERS OF CYTOKINES *Tarasova N.B., Vagin K.N., Konyukhov G.V., Nizamov R.N.* 21

VETERINARY MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND EPIZOOTOLOGY

ENZYME LINKED IMMUNOASSAY (ELISA) METHOD FOR DIAGNOSTICS OF ANIMALS ANAEROBIC ENTEROTOXEMIA *Spiridonov A.G.* 26

STUDYING OF THE IMMUNOLOGICAL STATUS OF CATTLE VACCINATED AGAINST ANTHRAX *Rodionov A.P.* 30

STUDYING THE EFFECT OF CITRININ ON OCCURRENCE OF DYSBACTERIOSIS AND MULTIRESISTANCE OF MICROORGANISMS FAMILY ENTEROBACTERIACEAE *Afonyushkin V.N., Donchenko N.A., Kozlova Yu.N., Davydova N.A., Cherepushkina V.S., Frolova O.A.* 35

EPISOTIC CHARACTERISTICS OF SMALL RUMINANTS PEST *Mishchenko A.V., Mishchenko V.A., Chernykh O.Yu., Shevkoplyas V.N., Krivonos R.A., Lysenko A.A., Chernov A.N.* 40

STUDYING THE EFFICACY OF IMMUNOSTIMULATING AGENTS TO IMPROVE THE VACCINE PROPHYLAXIS OF PIG SALMONELLOSIS *Baratov M.O.* 47

SELECTION AND GENETICS

ASSOCIATION OF POLYMORPHISM FOR ALPHA-LACTALBUMIN GENE WITH MILK PRODUCTIVITY AND MILK QUALITY OF COWS *Tyulkin S.V., Zagidullin L.R., Akhmetov T.M., Shaydullin R.R., Faizov T.H., Efimova I.O.* 52

COMPATIBILITY OF HIGH MILK PRODUCTION AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN HOLSTEIN HEIFERS IN THE CONTEXT OF LEPTIN GENE (LEP) POLYMORPHISM *Safina N.Yu., Shakirov Sh.K., Yulmeteva Yu.R., Ahmetov T.M.* 57

ECOLOGY

CONCENTRATION OF RADIONUCLIDES IN HONEY PLANTS CULTIVATED IN THE SOUTHERN AND EASTERN REGIONS OF THE SAMARA REGION *Zalybina Y.N., Grigoriev V.S.* 61

УДК 619:615.9:636.52/58

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ЦЕОЛИТА И ШУНГИТА НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ СМЕШАННОМ МИКОТОКСИКОЗЕ

Н.Н.Мишина – кандидат биологических наук, вед.н.с.; Э.И.Семенов – кандидат биологических наук, зав.лабораторией; К.Х.Папуниди – доктор ветеринарных наук, профессор, зам. директора по НИР; Р.М.Потехина – кандидат биологических наук, вед.н.с.; С.А.Танасева – кандидат биологических наук, ст.н.с.; О.К.Ермолаева – кандидат биологических наук, ст.н.с.; З.Х.Сагдеева – мл.н.с.; Д.Х.Гатауллин – кандидат сельскохозяйственных наук, зам. директора.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г.Казань (420075, г. Казань, Научный городок-2, тел. +7 (843)239-53-20, e-mail: vnivi@mail.ru).

Представлены результаты изучения влияния комбинации шунгита Зажогинского месторождения Республики Карелия и цеолита Шатрашанского месторождения Республики Татарстан при сочетанном микотоксикозе цыплят-бройлеров, на показатели естественной резистентности, рост и продуктивные качества птицы. Экспериментальная работа выполнялась в условиях вивария на базе ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». В опытах использовали цыплят-бройлеров мясного кросса «Кобб 500», массой 0,68-0,73 кг. Продолжительность эксперимента составила с 21-сут возраста до дня контрольного убоя, который произвели в возрасте 42-х суток. Птицы первой – контрольной группы получали полнорационный комбикорм, птицам второй группы для исключения влияния непосредственно самих кормовых добавок на организм птиц дополнительно вводили в основной рацион смесь шунгита и цеолита (соотношение в смеси 70:30%) в максимальной исследуемой дозировке – 0,5% от рациона. Цыплятам третьей группы скармливали токсический рацион, в четвертой и пятой группе цыплята дополнительно к токсическому рациону получали смесь сорбентов в двух дозировках – 0,5 и 0,25% от рациона, соответственно, с целью уточнения оптимальной дозировки использования кормовой добавки. Токсический рацион готовили на основе комбикормов для цыплят-бройлеров с добавлением микотоксинов: Т-2 токсин (200 мкг/кг), зеараленон (500 мкг/кг) и афлатоксин В1 (50 мкг/кг). В результате проведённых исследований было установлено, что смесь шунгита и цеолита обладает высокой эффективностью. После его применения повышается естественная резистентность организма, увеличиваются среднесуточные привесы. Наиболее экономически выгодной и оптимальной при микотоксикозе, следует считать дозу 0,5% от рациона, так как более низкая доза (0,25% от рациона) – менее эффективна.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: микотоксикозы, шунгит, цеолит, птицы, иммунитет, резистентность.

В настоящее время промышленное птицеводство развивается наиболее интенсивно, обеспечивая население высококачественной продукцией во все более короткие сроки. С применением новых ресурсосберегающих технологий, направленных на повышение продуктивности, нагрузка на организм птицы значительно возрастает, она становится высокочувствительной к неблагоприятным условиям внешней среды [1, 6]. Наибольший ущерб и падеж поголовья наносят болезни, вызываемые патогенными и условно-патогенными микробами, т.е. возникающими при снижении естественной резистентности особей [1, 16]. В этиологии данного явления лежит не только нарушение в кормлении и содержании сельскохозяйственной птицы, но и воздействие ксенобиотиков, среди которых микотоксины занимают одну из первых позиций.

Микотоксины – это низкомолекулярные ядовитые вторичные метаболиты микроскопических грибов (Fusarium, Aspergillus, Penicillium и др.), обладающих выраженным иммуноугнетающим действием на организм животных и птиц. При этом синергетическое действие нескольких одновременно присутствующих микотоксинов в рационе на уровне предельно-допустимых концентраций (ПДК) порой бывает равносильно действию одного микотоксина при его превышении ПДК в 3-5 раз [12, 16, 20].

Одним из перспективных направлений стимуляции естественной резистентности и повышения продуктивности птицы в условиях промышленной технологии является использование (сорбентов) естественного происхождения (цеолиты, бентониты, шунгит). Сорбенты – это препараты, эффективно связывающие в желудочно-кишечном тракте эндогенные и экзогенные соединения, надмолекулярные структуры и клетки с целью лечения или профилактики болезней [5, 11, 14, 19].

Есть сведения об успешном применении шунгита Зажогинского месторождения Республики Карелия [5, 12, 17], и цеолита Шатрашанского месторождения Республики Татарстан 7 в животноводстве и птицеводстве, при введении в рацион 2% от массы сухого вещества. На современном рынке, в основном, коммерчески успешными становятся комбинированные сорбенты, так как сочетание компонентов в комплексе позволяет меньше вводить сорбент в рацион животных и птиц, вкупе с равнозначной эффективностью при введении высоких дозировок каждого компонента по отдельности.

Цель исследования – изучение влияния скармливания смеси шунгита Зажогинского месторождения Республики Карелия и цеолита Шатрашанского месторождения Республики Татарстан как при сочетанном микотоксикозе цыплят-бройлеров, так и отдельно, на показатели естественной резистентности, рост и продуктивные качества птицы.

Материалы и методы. В опытах использовали цыплят-бройлеров мясного кросса «Кобб 500», живой массой 0,68-0,73 кг, в возрасте 21 сут, из которых по принципу аналогов было сформировано 5 групп по 10 голов в каждой. Экспериментальная работа выполнялась в условиях вивария на базе ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Условия содержания бройлеров были одинаковыми и соответствовали существующим рекомендациям по откорму птицы кросса «КОББ 500». Исследуемые группы птиц находились в одноярусных клетках по 5 гол, при постоянном доступе к воде и корму. Основной рацион (ОР) составили полнорационные комбикорма ОАО «Набережночелнинский элеватор». Токсический рацион (ТР) готовили на основе ОР и с добавлением микотоксинов: Т-2 токсин (200 мкг/кг), зеараленон (500 мкг/кг) и афлатоксин В1 (50 мкг/кг). Постановку эксперимента проводили в соответствии со схемой, представленной в таблице 1.

Таблица 1

Схема проведения эксперимента на цыплятах-бройлерах

Группа	Количество птиц	Особенности кормления
1	5	Основной рацион (ОР) биологический контроль
2	5	ОР + смесь шунгита и цеолита (70:30) в дозе 0,5% от рациона
3	5	Токсичный рацион (ТР)
4	5	ТР + смесь шунгита и цеолита (70:30) в дозе 0,5% от рациона
5	5	ТР + смесь шунгита и цеолита (70:30)в дозе 0,25% от рациона

Птицы контрольной группы получали полнорационный комбикорм, птицам второй группы для исключения влияния непосредственно самих кормовых добавок на организм птиц дополнительно вводили в основной рацион смесь шунгита и цеолита (70:30) в максимальной исследуемой дозировке 0,5% от рациона. Цыплятам третьей группы вскармливали токсичный рацион, в четвертой и пятой группе цыплята дополнительно к токсичному рациону получали смесь сорбентов в двух дозировках – 0,5 и 0,25% от рациона, соответственно, с целью уточнения оптимальной дозировки использования кормовой добавки.

В качестве энтерособентов в опытах использовали шунгит Зажогинского месторождения Республики Карелия и цеолит Шатрашанского месторождения Республики Татарстан.

Для экспериментальных исследований использовали кристаллические Т-2 токсин, зеараленон и афлатоксин В1, полученные в лаборатории микотоксинов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», с чистотой микотоксинов 99,8, 98,3 и 86,7%, соответственно. В качестве продуцента Т-2 токсина и зеараленона использовали гриб *Fusarium sporotrichioides* штамм 2М15, любезно предоставленный д.б.н. А.Н.Котиком, в качестве продуцента афлатоксина В1 использовали токсигенный изолят *Aspergillus flavus* из коллекции микроскопических грибов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Токсины и адсорбирующие добавки птицам вводили включением в рацион путем последовательного и ступенчатого тщательного перемешивания корма.

Продолжительность эксперимента составила 21 сут, в ходе которого регистрировали выживаемость, потребление корма и воды, состояние перьевого покрова и слизистых оболочек, изменение живой массы, и в конце опыта провели отбор крови для исследования гематологических, биохимических и показателей неспецифической резистентности организма.

Учет живой массы производился при посадке в 21-сут возрасте и в день контрольного убоя, который произвели в возрасте 42-х суток.

При изучении влияния рационов на зоотехнические, физиологические и иммунологические показатели цыплят-бройлеров изменение живой массы цыплят-бройлеров определяли путем индивидуального взвешивания всей птицы из каждой группы. Исходя из результатов взвешивания проводили расчет абсолютного, среднесуточного и относительного приростов живой массы [9], а также конверсии корма. По рекомендациям ряда авторов [13, 3], оценку состояния естественной резистентности у птиц проводили по показателям бактерицидной, лизоцимной активности сыворотки крови, фагоцитарной активности нейтрофилов, содержанию Т- и В-лимфоцитов.

Учитывая тот факт, что немаловажную роль в формировании естественной резистентности организма птиц [2] играют белки, так как они входят в состав ферментов, гормонов и выполняют энергетическую функцию, провели оценку белкового обмена, а также морфологических и биохимических показателей крови. Гематологические исследования – количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, моноцитов, лимфоцитов, тромбоцитов определяли с помощью гематологического анализатора «Mythic 18», содержание общего белка в сыворотке крови птиц проводили

с помощью биохимического анализатора «Microlab 300».Определение бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) определяли по методике Смирновой О.В., Кузьминовой Т.А. (1966) [15]. Активность лизоцима в сыворотке крови устанавливали нефелометрическим методом по В.Г. Дорофейчуку (1968) [4]. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов определяли по методике С.А.Кост и М.И.Стенко (1968) [8]. Определение уровня циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови определяли микрометодом [10]. Содержание Т- и В-лимфоцитов в периферической крови определяли с помощью метода спонтанного розеткообразования с эритроцитами козла Е-РОК. Идентификацию В-лимфоцитов проводили методом ЕАС – розеток по Фримелю Г. [18].

Обработку цифрового материала проводили методом вариационной статистики с применением критерия достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований. При длительном употреблении птицами токсичного рациона отмечали снижение потребления корма и воды, а также взъерошенность перьевого покрова. У остальных птиц, получавших энтеросорбенты, клинические признаки токсикоза не проявились.

Показатели изменения живой массы представлены в таблице 2.

Таблица 2

Данные прироста живой массы и конверсии кормов цыплят-бройлеров в ходе эксперимента

Группа	Живая масса, г		Абсолютный прирост, г	Среднесуточный прирост, г	Конверсия корма
	в начале	в конце			
1	736±12,8	2982±44,5	2246	97,7	1,60
2	750±19,1	2974±45,6	2224	96,7	1,62
3	682±26,8*	2626±41,5***	1944	84,5	1,85
4	708±26,8	2804±48,6**	2096	91,1	1,72
5	714±13,6	2740±43,6**	2026	88,1	1,78

Примечание: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Анализируя динамику живой массы, следует отметить, что живая масса цыплят в начале опыта во всех группах варьировала от 682 до 750 г. В момент контрольного убоя выявилась тенденция по снижению привеса цыплят. Так, этот показатель в группе токсичного рациона уменьшился по сравнению с контролем на 13,5% (p<0,001), а в профилактируемых группах – на 6,8 (p<0,01) и 9,8% (p<0,01), соответственно. Абсолютный и среднесуточный приросты за весь период выращивания были ниже в третьей и в пятой опытных группах. Наибольшее защитное действие сорбентов при токсичном рационе на прирост живой массы проявлялось в 4 группе, эта же тенденция сохранялась и по показателю конверсии корма. Вместе с тем, следует отметить, что каких-либо достоверных различий по скорости роста цыплят между первой и второй опытными группами нами не выявлено.

Известно, что при нормальном физиологическом состоянии организма, свойства и состав крови у сельскохозяйственной птицы относительно постоянны. Однако к тем или иным изменениям периферической крови могут привести даже незначительные сдвиги в функционировании органов и систем. Изменение морфологических показателей зависит от нарушения обмена веществ. Они же свидетельствуют об уровне естественной резистентности организма птицы. С учетом этого, изучили морфологические показатели крови подопытных цыплят-бройлеров при использовании в их рационах различных доз сорбента на фоне хронического микотоксикоза (табл. 3).

Таблица 3

Гематологические показатели цыплят-бройлеров при постановке эксперимента

Группа	Эритроциты (Ч10^6 /мкл)	Лейкоциты (Ч10^3 /мкл)	Гемоглобин, (г/л)	Гематокрит, (%)	Средняя концентрация гемоглобина в одном эритроците, (г/л)	Общее количество тромбоцитов, (Ч10^3 /мкл)
1	2,1±0,009	48,5±1,86	96,5±3,91	0,3±0,009	336,7±14,2	9,8±0,41
2	2,1±0,13	59,2±1,75***	96,0±3,6	0,3±0,008	345,5±13,8	14,2±0,65***
3	2,2±0,1	32,2±1,76	96,5±3,54	0,3±0,006	351,2±11,8	9,8±0,56
4	1,7±0,11*	43,0±1,54	73,3±3,84	0,2±0,006***	338,0±12,8	10,0±0,8
5	1,8±0,08*	38,5±1,84	94,7±3,28	0,3±0,006	344,5±11,2	9,2±0,66

Примечание:* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001.

Как видно из таблицы 3, гематологические показатели претерпевали определенные изменения, однако наиболее показательной была прогрессирующая лейкопения в третьей группе, что указывает на деструктивные изменения в иммунокомпетентных органах. Введение в рацион сорбентов способствовало коррекции иммунодефицитного состояния, так лейкопения по отношению к контролю в третьей группе составила 33,6% (p<0,001), в профилактируемых четвертой и пятой группах 11,3 и 20,6%, соответственно.

Важным параметром для диагностики заболеваний, связанных с нарушением метаболизма является содержание общего белка в сыворотке крови. Белки плазмы крови выполняют множество функций. Одна из них заключается в поддержании осмотического давления, так как белки связывают воду и удерживают её в кровеносном русле. Белки плазмы образуют важнейшую буферную систему крови и поддерживают pH крови в норме. Альбумин выполняет транспортную функцию [13] (табл. 4).

Таблица 4

Показатели белкового обмена цыплят

Группа	Общий белок, г/л	Альбумины,г/л	Альбумин - глобулиновый коэффициент
1	30,7±1,24	15,7±0,71	1,0±0,05
2	33,3±1,33	17,3±0,84	1,1±0,03
3	31,0±1,26	18,0±0,68*	1,4±0,04***
4	28,7±1,06	16,7±0,88	1,4±0,04***
5	27,7±1,21*	15,7±1,1	1,3±0,06

Примечание: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001.

Из данных, представленных в таблице 4, следует, что содержание общего белка не претерпевало значительных изменений, кроме показателя в пятой группе, в то время как содержание альбуминов в сыворотке крови цыплят опытных групп было статически достоверно выше на 14,6% (p<0,05), причем не было выявлено прямо пропорциональной тенденции по корректировке нарушений белкового обмена при введении в рацион различных доз сорбентов.

Альбумины составляют 60% от общего количества белка и, как правило, развитие компенсаторной реакции в печени (одной из главной мишени микотоксинов) ведет к снижению продукции гепатоцитами альбуминов и соответственно общего белка. При оценке более достоверного показателя альбумин/глобулинового коэффициента следует отметить в сторону его повышения, причину которого необходимо еще выяснить, т.к. закономерности в изменениях не выявлено.

О состоянии гуморальной защиты организма свидетельствуют показатели лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови, о состоянии клеточных факторов иммунитета – фагоцитарная активность псевдоэозинофилов, систему гуморального иммунитета в целом показывают циркулирующие иммунокомплексы (ЦИК). Из данных таблицы 5 и 6 видно, что применение всех изучаемых доз препарата оказало положительное влияние на показатели естественной резистентности организма. Практически по всем изучаемым показателям отмечалась положительная тенденция.

Таблица 5

Показатели неспецифической резистентности птицы

Группа	Фагоцитарная активность, %	Фагоцитарное число, %	Фагоцитарный индекс, %	Фагоцитарная ёмкость, %
1	59±2,12	3,69±0,15	6,25±0,22	179,0±6,63
2	61±2,36	4,34±0,13*	7,11±0,18*	257,1±7,2***
3	54±1,88*	3,06±0,14*	5,66±0,19*	98,7±5,6***
4	59±1,98	2,54±0,11***	4,3±0,16***	109,2±5,8***
5	57±1,92	3,25±0,09*	5,7±0,12*	125,1±5,4***

Примечание: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Как видно из таблицы 5, фагоцитарная активность в третьей группе ниже контроля на 8,5% (p<0,001), при этом в группах, потреблявших с токсичным кормов и кормовые добавки изменения характеризовались широким вариативным рядом: регистрировали снижение фагоцитарной активности на 3,4% в пятой группе, у цыплят, получавших максимальную дозу смеси сорбентов, данный показатель был идентичен значению в группе контроля. Во второй группе регистрировали увеличение фагоци-

тарной активности на 3,4%. Все изменения фагоцитарной ёмкости носили статистически достоверный характер (p<0,05), так снижение данного показателя у цыплят, получавших токсичный рацион, составило 44,9%, в профилактируемых четвертой и пятой группах – на 39 и 30%, соответственно. При этом во второй группе наблюдали увеличение фагоцитарной ёмкости на 43,6%.

Таблица 6

Показатели гуморального и клеточного иммунитета у птицы

Группа	ЛАСК, %	БАСК, %	ЦИК, усл.опт.ед.	Т-лимфоциты, %	В-лимфоциты, %
1	42±2,26	21±1,2	11,8±0,48	34±1,34	20±0,94
2	54±1,88**	25±0,98*	8,6±0,52**	32±1,28	20±0,88
3	46±2,4	14±1,2**	18,4±0,46***	27±1,08**	17±0,68*
4	44±2,3	26±1,6*	10,2±3,8	31±1,33	23±0,96
5	44±2,4	25±1,4*	16,9±0,58***	33±0,98	18±0,98

Примечание: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001.

Значения лизоцимной активности сыворотки крови в опытных группах не претерпевали значительных изменений, за исключением 2 группы, где повышение данного показателя по отношению к группе контроля составило 28,6% (p<0,05). Показатель бактерицидной активности сыворотки (БАСК) крови был ожидаемо ниже в третьей группе по отношению к контролю на 33,3% (p<0,01), а в профилактируемых группах уже наблюдали повышение БАСК.

В изменении содержания циркулирующих именных комплексов также регистрировалась закономерность – в третьей группе птиц превышение контроля было более выраженным, на 55,9% (p<0,001), а в группах, получавших цеолит и шунгит, это увеличение было менее выраженным. Отмечалось характерное для микотоксикоза уменьшение содержания Т- и В-лимфоцитов на 20,6 (p<0,01) и 15,0 (p<0,01), соответственно. В профилактируемых группах наблюдали менее выраженное статистически неподтвержденное снижение данных показателей.

Заключение. Таким образом, установлено, что смесь энтеросорбентов шунгита и цеолита обладает достаточно высокой эффективностью при смешанном микотоксикозе птиц. После его применения повышается естественная резистентность организма, увеличиваются среднесуточные привесы. Наиболее экономически выгодной и оптимальной при микотоксикозе, следует считать дозу энтеросорбентов 0,5% от рациона, так как более низкая доза (0,25% от рациона) менее эффективна.

Литература

1. Бессарабов, Б.Ф. Аэрозольная дезинфекция инкубационных яиц / Б.Ф.Бессарабов // РацВетИнформ. – 2007. – № 11. – С. 14-15.

2. Болотников, И.А. Физиолого-биохимические основы иммунитета сельскохозяйственной птицы / И.А.Болотников, Ю.В.Конопатов. – Л.: Наука, 1987. – 164 с..

3. Галактионов, В.Г. Иммунология / В.Г.Галактионов. – М.: Изд-во Московского университета, 1998. – 480 с.

4. Дорофейчук, В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г.Дорофейчук // Лаб. Дело. – 1968. – № 1. – Р. 28-30.

5. Ерохин, В.В. Гематологические показатели телят при скармливании им кормовой добавки «Ковелос-Сорб» в составе рациона / В.В.Ерохин, Д.А.Юрин, С.В.Булацева // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2014. – Т. 51, № 4. – С. 153-156.

6. Иванов, А.А. Проблема микотоксикозов в птицеводстве / А.А.Иванов, Э.И.Семёнов, И.М.Егоров // Ветеринарный врач. – 2013. – № 1. – С. 2-5.

7. Влияние цеолитов на ультраструктуру печени и почек свиней / А.В.Иванов, А.О.Муллакаев, М.Н.Лежнина, А.А.Шуканов // Ветеринария. Незаразные болезни. – 2017. – № 7. –С.41-44.

8. Кост, С.А. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов / С.А.Кост, М.И.Стенко // Клиническая гематология животных. – М.: Колос, 1974. – Р. 99-100.

9. Кравченко, Н. Племенное птицеводство России / Н.Кравченко, В.Онисовец, М.Анненкова // Птицеводство. – 2004. – № 2. – С. 7-9.

10. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного статуса: практикум / А.Г.Гончаров; И.С.Фрейдлин; В.С.Смирнов [и др.]; под общ. ред. М.Г.Романцова. – Калининград: Калининград. ун-т, 1997. – 73 с.

11. Применение энтеросорбентов в животноводстве / К.Х.Папуниди, М.Я.Тремасов, А.А.Иванов [et al.] // Ветеринарный врач. - 2010. – № 5. – С. 20-22.

12. Папуниди, К.Х. Проблема сочетанных отравлений животных / К.Х.Папуниди, Э.И.Семёнов, И.Р.Кадиков // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 2. – С. 71-74.

13. Биохимия: учебник / Е.С.Северин, Т.Л.Алейникова, Л.В.Авдеева [и др.]. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 469 р.

14. Применение нового адсорбента «Мобидент» для профилатики микотоксикозов / Э.И.Семенов, С.А.Танасева, А.Р.Валиев [et al.] // Ветеринарный врач. – 2017. – № 3. – С. 30-34.

15. Смирнова, О.В. Определение бактерицидной активности сыворотки сыворотки крови методом фотонефелометрии / О.В.Смирнова, Т.А.Кузьмина // ЖМЭИ – 1966. - № 4. – С. 8-11.

16. Проблема микотоксикозов животных / М.Я.Тремасов, А.В.Иванов, К.Х.Папуниди, Э.И. Семенов // Ветеринарный врач. – 2010. – № 5. – С. 16-19.

17. Тремасова, А.М. Фармако-токсикологическое обоснование использования природного минерала шунгита и препаратов на его основе, наносорбентов полисорбин и полисорб в ветеринарии: дис. ... д-ра биол.наук. 06.02.02.-06.02.03 / А.М.Тремасова. – Казань, 2014. – 351 л.

18. Фримель, Г. Иммунологические методы / Г.Фримель. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.

19. Хаитов, Р.М. Иммунология: учебник / Р.М.Хаитов, Г.А.Игнатьева, И.Г.Сидорович. – М.: Медицина, 2000. – 432 с.

20. Systemic Anaphylaxis Due to Combined Mycotoxicosis in Wister Rats / E.I.Semenov, N.N.Mishina, S.A.Tanaseva [et al.] // Indian Vet. J. – 2018. – № 95 (06). – P. 16-19

INFLUENCE OF THE COMPLEX OF ZEOLITE AND SHUNGITE ON THE RESISTANCE AND PRODUCTIVITY OF BROILER CHICKENS UNDER A MIXED MYCOTOXICOSIS

Mishina N.N. – Candidate of Biological Sciences; Semenov E.I. – Candidate of Biological Sciences; Papunidi K.Kh. – Doctor of Veterinary Science, professor; Potekhina R.M. – Candidate of Biological Sciences; Tanaseva S.A. – Candidate of Biological Sciences; Ermolaeva O.K. – Candidate of Biological Sciences; Sagdeeva Z.Kh. – junior researcher.

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnivi@mail.ru).

The article presents the results of studying the effect of a combination of shungite of the Republic of Karelia Zazhoginsky Deposit and zeolite of the Republic of Tatarstan Shatrashan Deposit at combined broiler chickens mycotoxicosis on the indexes of natural resistance, growth and productive qualities of poultry. The experimental work was carried out in vivarium conditions on the basis of FSBI "FCTRB-VNIVI. The broiler chickens meat cross "Cobb 500" with live weight 0.68-0.73 kg were used in the experiments. The duration of the experiment was from 21 days of age to the day of the control slaughter, which was performed at the age of 42 days. Birds of the first control group were taken complete feed; in order to exclude the influence of feed additives on the birds' body, the second group birds were additionally introduced into the main diet a mixture of shungite and zeolite (the ratio in the mixture was 70:30%) in the maximum examined dosage of 0.5% of the diet. Chickens of the third group were fed a toxic diet, the fourth and the fifth groups chickens in addition to the toxic diet took a mixture of sorbents in two dosages – 0.5 and 0.25% of the diet, respectively, in order to determine the optimal dosage of the feed additive. The toxic diet was prepared on the basis of feed mixtures for broiler chickens with the addition of mycotoxins: T-2 toxin (200 µg/kg), zearalenone (500 µg/kg) and aflatoxin B1 (50 µg/kg). As a result of the research, the mixture of shungite and zeolite was found to have a high efficacy. After its application, the natural resistance of the body increases, the average daily weight gain increases. At mycotoxicosis, the most cost-effective and optimal dose it should be considered a dose of 0.5% of the diet, because a lower dose (0.25% of the diet) proved to be less effective.

KEYWORDS: mycotoxicosis, shungite, zeolite, birds, immunity, resistance

References

1. Bessarabov, B.F. Aerozolnaya dezinfektsiya inkubatsionnykh yaits Aerosol disinfection of hatching eggs / B.F.Bessarabov // RatsVetInform. – 2007. – № 11. – P. 14-15.

2. Bolotnikov, I.A. Fiziologo-_biokhimicheskie osnovy immuniteta selskokhozyaistvennoy ptitsy [Physiological and biochemical basics of immunity of poultry] / I.A.Bolotnikov, Yu.V.Konopatov. – L.: Nauka, 1987. – 164 p.

3. Galaktionov, V.G. Immunologiya [Immunology] / V.G.Galaktionov. – M.: Izd-vo Moskovskogo universiteta, 1998. – 480 p.

4. Dorofeichuk, V.G. Opredelenie aktivnosti lizotsima nefelometricheskim metodom [Determination of lysozyme activity by nephelometric method] / V.G.Dorofeichuk // Laboratornoe delo. – 1968. – №1. – P. 28-30.

5. Erokhin, V.V. Gematologicheskie pokazateli telyat pri skarmlivanii im kormovoy dobavki «Kovelos_Sorb» v sostave ratsiona [Hematological indexes of calves when feeding them fodder additive "Cavelos-Sorb" as a part of a diet] / V.V.Erokhin, D.A.Yurin, S.V.Bulatseva // Izvestiya Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2014. – Vol. 51, № 4. – P. 153-156.

6. Ivanov, A.A. Problema mikotoksikozov v ptitsevodstve [The problem of mycotoxicosis in poultry breeding] / A.A.Ivanov, E.I.Semenov, I.M.Egorov // Veterinarny vrach. – 2013. – № 1. – P. 2-5.

7. Vliyanie tseolitov na ultrastrukturu pecheni i pochek sviney [The influence of zeolites on the ultrastructure of pig liver and kidneys] / A.V.Ivanov, A.O.Mullakaev, M.N.Lezhnina, A.A.Shukanov // Veterinariya. Nezaraznye bolezni. – 2017. – № 7. – P.41-44.

8. Kost, S.A. Opredelenie fagotsitarnoy aktivnosti leikotsitov [Determination of the phagocytic activity of leukocytes] / S.A.Kost, M.I.Stenko // Klinicheskaya gematologiya zhivotnykh. – M: Kolos, 1974. – P. 99-100.

9. Kravchenko, N. Plemennoe ptitsevodstvo Rossii [Breeding poultry of Russia] / N.Kravchenko, V.Onisovets, M.Annenkova // Ptitsevodstvo. – 2004. - № 2. – P. 7-9.

10. Osnovy klinicheskoy immunologii i metodologicheskie podkhody k otsenke immunnogo statusa:_ praktikum [Fundamentals of clinical immunology and methodological approaches to the evaluation of immune status: practical book] / A.G.Goncharov, I.S.Freydlin; V.S.Smirnov [et al.]; edited by M.G.Romantsov / Kaliningrad: Kaliningradskiy universitet. – 1997. – 73 p.

11. Primenenie sorbentov dlya profilaktiki narusheniya obmena veschestv i toksikozov zhivotnykh: monografiya [The use of sorbents for the prevention of metabolic disorders and toxicosis of animals: monograph] / K.Kh.Papunidi, E.I.Semenov, I.R.Kadikov [et al.] – Kazan: FGBNU «FCTRB-VNIVI», 2018. – 224 p.

12. Papunidi, K.Kh. Problema sochetannykh otravleniy zhivotnykh [The problem of combined poisoning of animals] / K.Kh.Papunidi, E.I.Semenov, I.R.Kadikov // Veterinariya i kormlenie. – 2018. – № 2. – P. 71-74.

13. Biokhimiya: uchebnik [Biochemistry: a textbook] / E.S.Severin, T.L.Aleynikova, L.V.Avdeeva [et al.]. – M.: GEOTAR-MED, 2004. – 469 p.

14. Primenenie novogo adsorbenta "Mobident" dlya profilaktiki mikotoksikozov [Application of a new adsorbent "Mobident" for prevention of mycotoxicosis] / E.I.Semenov, S.A.Tanaseva, A.R.Valiev [et al.] // Veterinarny vrach. – 2017. – №. 3. – P. 30-34.

15. Smirnova, O.V. Opredelenie bakteritsidnoy aktivnosti syvorotki krovi metodom fotonefelometrii [Determination of bactericidal activity of blood serum by the method of photonephelometry] / O.V.Smirnova, T.A.Kuzmina // Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii I immunologii. – 1966. – № 4. – P. 8-11.

16. Problema mikotoksikozov zhivotnykh [The problem of mycotoxicosis in animals] / M.Ya.Tremasov. A.V.Ivanov., K.Kh.Papunidy, E.I.Semenov // Veterinarny vrach. – 2010. – №. 5. – P. 16-19.

17. Tremasova, A.M. Farmako -toksikologicheskoe obosnovanie ispolzovaniya prirodnogo minerala shungita i preparatov na ego osnove nanosorbentov “Polisorbin” i “Polisorb” v veterinarii: dis. ... d-ra biologicheskikh nauk [Pharmaco-toxicological grounds for using a natural mineral shungite and products based on it, nanosorbent “Polisorbin” and “Polysorb” in veterinary medicine: ... dis. for Doctor. of Biology. – 06.02.03 / A.M.Tremasova. – Kazan, 2014. – 351 l.

18. Frimel, G. Immunologicheskie metody [Immunological methods] / G.Frimel. – M.: Meditsina, 1987. – 472 p.

19. Haitov, R.M. Immunologiya: uchebnik [Immunology: a textbook] / R.M.Haitov, G.A.Ignatyeva, I.G. Sidorovich. – M.: Meditsina, 2000. – 432 p.

20. Systemic Anaphylaxis Due to Combined Mycotoxicosis in Wister Rats / E.I.Semenov, N.N.Mishina, S.A.Tanaseva [et al.] // Indian Vet. J. – 2018. – № 95 (06). – P. 16-19.

УДК 619:615.015.5.284:636.7/.8

МОНИТОРИНГ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ СОБАК И КОШЕК РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ПЕРЕНОСИМОСТИ ИНСЕКТОАКАРИЦИДНОГО ОШЕЙНИКА «НЕОТЕРИКА ПРОТЕКТО 12»

М.В.Арисов – доктор ветеринарных наук, зав. лабораторией; Е.Н.Индюхова – кандидат биологических наук, н.с.; Е.А.Кошкарев – аспирант; Г.Б.Арисова – кандидат ветеринарных наук, н.с.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И.Скрябина», г. Москва (117218, г.Москва, ул.Б.Черемушкинская, 28, e-mail: zxcv3980@yandex.ru).

Представлены результаты исследования переносимости комплексного инсектоакарицидного лекарственного препарата для ветеринарного применения «Неотерика Протекто 12» (имидаклоприд, пирипроксифен и этофенпрокс) на целевых видах животных – собаках и кошках. Для изучения безопасности препарата в исследование включены собаки и кошки 1-3-летнего возраста, в том числе щенки и котята 3-5-мес. возраста. Были созданы 3 группы: контрольная и 2 опытные. Животным первой опытной группы надевали по одному ошейнику соответствующей длины (терапевтическая доза). Животным второй опытной группы надевали по 3 ошейника соответствующей длины (трехкратно увеличенная терапевтическая доза). Контрольным животным препарат не применяли. Собаки, кошки, щенки и котята опытных групп носили ошейники в течение 6 месяцев. В результате изучения переносимости при ежедневном наблюдении за животными в течение экспериментального периода было установлено, что общее состояние собак, щенков, кошек и котят опытных и контрольных групп существенно не изменялось: все животные находились в удовлетворительном состоянии, были подвижны, активны, охотно принимали корм и пили воду, не отмечалось отклонений физиологических функций, каких-либо токсических явлений, условные рефлексы были сохранены. Препарат «Неотерика Протекто 12», применяемый в терапевтической и трехкратно увеличенной терапевтической дозах, не оказывает отрицательного влияния на физиологический статус домашних животных разных возрастных групп. Исследования продемонстрировали хорошую переносимость препарата. Значимость настоящего исследования состоит в том, что изучено влияние терапевтической и трехкратно увеличенной терапевтической доз на организм тех видов животных, на которых ориентировано применение препарата в ветеринарной практике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лекарственный препарат, полимерная лента, ошейник, пестицид, имидаклоприд, пирипроксифен, этофенпрокс, безопасность, переносимость, кошки, собаки.

Основа профилактики и лечения животных, пораженных арахноэнтомозами – применение широкого ассортимента инсектоакарицидных препаратов. Существует множество форм их применения: средства выпускают в виде спреев, аэрозолей, капель, шампуней, эмульгирующих концентратов, полимерных лент, в форме таблеток для орального применения и др. [2, 3, 4]. Ошейники, пропитанные инсектоакарицидными активными компонентами, удобны в применении и обладают длительным сроком защитного действия [1]. Лекарственный препарат для ветеринарного применения «Неотерика Протекто 12» в форме полимерной ленты (инсектоакарицидного ошейника) применяют кошкам и собакам для лечения и профилактики арахноэнтомозов, вызываемых блохами, вшами, власоедами, иксодовыми клещами, а также для защиты животных от нападения двукрылых кровососущих насекомых и профилактики трансмиссивных заболеваний (бабезиоз, боррелиоз, дирофиляриоз).

Полимерная лента – первая форма средств защиты от эктопаразитов, появившаяся на рынке ветеринарных препаратов. Эффективность инсектоакарицидных ошейников обусловлена тем, что действующие вещества, заключенные в порах полимерной ленты, постепенно распределяются по поверхности кожи и шерсти животных, обеспечивая защиту от эктопаразитов [9]. Направленный выбор материалов для создания полимерных инсектоакарицидных изделий обусловлен природой полимерной основы, структурой материала, возможностью включения в его состав тем или иным способом активных веществ, способных сохранять свою специфическую активность и проявлять ее в течение заданного срока.

Несбалансированное кормление, отсутствие лечения зараженных собак и кошек, нарушение сроков профилактических инсектоакарицидных обработок – все это свидетельствует о высоком риске заражения домашних животных эктопаразитами.

Следует отметить, что инсектоакарициды, которые включают одно действующее вещество, как правило, недостаточно эффективны. Комбинации действующих веществ с различным механизмом действия более надежны и уменьшают развитие резистентности у эктопаразитов к различным препаратам [12].

Известно, что при разработке качественного лекарственного препарата для защиты от эктопаразитов, помимо эффективности, важную роль играет безопасность применения препарата целевым видам животных [5, 7].

Одним из известных комплексных препаратов в форме полимерной ленты является «Рольф Клуб 3D», содержащий в качестве действующих веществ фипронил, пирипроксифен, D-цифенотрин (для собак) и этофенпрокс (для кошек). Многолетние экспериментальные исследования препаратов серии «РольфКлуб 3D», применяемых в виде капель, спрея и полимерной ленты, доказали безопасность использования собакам и кошкам (в трех- и пятикратно повышенных дозах, не отмечено отклонений клинического состояния животных, а также в морфогематологических и биохимических показателях крови и физико-химических параметрах мочи) [3].

Кроме того, при исследовании переносимости комплексного противопаразитарного препарата «Инспектор ошейник» на основе фипронила, пирипроксифена и ивермектина в форме полимерной ленты на собаках и кошках было установлено, что препарат при ежедневном ношении животными в рекомендуемой терапевтической и двукратно увеличенной терапевтической дозах в течение 45 сут не оказывает отрицательного влияния на общее состояние животных, их физиологический статус и поведение, а также не влияет на физиолого-биохимические показатели крови [5].

Однако проблема безопасной и эффективной профилактики арахноэнтомозов у домашних животных постоянно находится в центре внимания практикующих ветеринарных специалистов и ведется поиск новых комбинаций действующих веществ. Научно-исследовательская компания Neoterica GmbH (Германия) разработала стабильную фармакологическую композицию из имидаклоприда, этофенпрокса и пирипроксифена, которая обладает выраженным инсектоакарицидным эффектом, в форме полимерной ленты – «Неотерика Протекто 12».

Имидаклоприд – один из наиболее эффективных и широко используемых инсектицидов, не уступающий по эффективности пиретроидам и превосходящий по этому показателю фосфорорганические и карбаматные инсектициды [11]. Этот инсектицид был впервые представлен в США в 1994 году. Имидаклоприд относится к группе хлороникотиниловых инсектицидов, механизм действия которых основан на взаимодействии с ацетилхолиновыми рецепторами членистоногих и нарушении передачи нервных импульсов, что приводит к гибели насекомых от конвульсий и паралича [13]. Он не оказывает раздражающего действия на слизистые оболочки и кожные покровы, также не обладает аллергизирующим и раздражающим действием на дыхательные пути.

Этофенпрокс по химическому строению относится к пиретроидам (не содержащим сложноэфирные группы) [10]. Данный пестицид обладает инсектоакарицидной и репеллентной активностью, оказывает нокдаун-эффект при первом контакте насекомых и иксодовых клещей с шерстью обработанного животного (до прикрепления). Его действие обусловлено блокированием проведения нервного импульса у эктопаразита за счет изменения проницаемости мембран, что приводит к парализующему эффекту.

Пирипроксифен – пестицид, инсектицид кишечного и контактного действия из группы аналогов ювенильного гормона, регулирующего рост и развитие насекомых [10]. Вещество подавляет эмбриогенез и влияет на нормальный цикл метаморфоза насекомых (яйцо-личинка-куколка-взрослая особь). Он нарушает процессы синтеза хитина и линьки личинок, препятствует развитию полноценных куколок и вызывает гибель насекомых на преимагинальных фазах развития, что приводит к прекращению восполнения популяции эктопаразитов.

Цель работы – изучение переносимости комбинированного лекарственного препарата для ветеринарного применения «Неотерика Протекто 12» на собаках и кошках разных возрастных групп.

Материалы и методы. Исследование переносимости препарата проводили на 15 беспородных собаках 1-2-летнего возраста и 15 беспородных щенках 3-5-месячного возраста, а также на беспородных кошках 2-3-летнего возраста и котятах 3-5-месячного возраста, содержащихся в боксах. Отобранным животным были присвоены индивидуальные номера, позволяющие их идентифицировать в любой момент опыта. Животные по принципу аналогов (с учетом возраста, массы и физиологического статуса) были разделены на три группы по 5 в каждой. Необходимость исключения животных из опыта в период проведения исследований отсутствовала.

Все животные содержались в условиях, которые соответствовали зоогигиеническим нормам. Ежедневный рацион собак и кошек состоял из доступного сухого корма, количество которого рассчитывали в соответствии с нормами кормления, обеспечивающими поддержание их оптимального физиологического состояния. Доступ к воде был не ограничен. Животных не подвергали обработке другими лекарственными препаратами.

В исследованиях использовали опытный образец препарата «Неотерика Протекто 12». Использовали ошейник для крупных и средних собак длиной 75 см и 65 см, для кошек и мелких собак – 40 см. После вскрытия упаковки ошейник разворачивали и надевали на животное, подгоняя по размеру так, чтобы между шеей и ошейником оставался промежуток в 1-1,5 см, затем закрепляли фиксатором. Животным первых опытных групп надевали по одному ошейнику соответствующей длины (терапевтическая доза). Животным вторых опытных групп надевали по 3 ошейника соответствующей длины (трехкратно увеличенная терапевтическая

доза). Контрольным животным препарат не применяли. Собаки и щенки, кошки и котята носили ошейники в течение 6 месяцев.

В процессе опыта за животными вели ежедневное наблюдение, отмечая их общее состояние, поведение, аппетит. Вес у котят и щенков контролировали утром перед кормлением.

До начала опыта, через 2 и 6 мес после начала применения препарата у собак и кошек брали кровь для исследования ряда параметров, характеризующих состояние внутренних органов и систем организма – морфогематологические и биохимические показатели. Подсчет форменных элементов крови и гемоглобина проводили на гематологическом анализаторе «Medonic CA–620», СОЭ определяли по Панченкову, активность щелочной фосфатазы – с помощью наборов фирмы «Лабсистем» (Финляндия), активность аланинаминотрансферазы – с использованием наборов фирмы «Коне» (Финляндия), аспартатаминотрансферазы – с помощью набора фирмы «Reanal» (Венгрия), общий белок – рефрактометрически; мочевину - энзиматический с уреазой, общий билирубин - фотометрический метод, креатинин - по методу Поппера.

Данные обрабатывали статистически с использованием программы «Student-200».

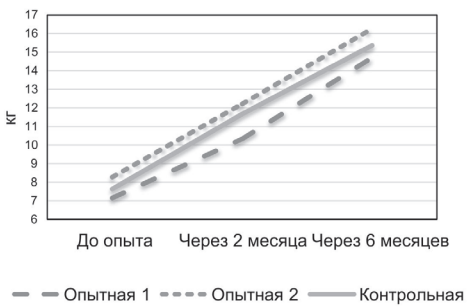

Рис. 1. Контроль массы тела щенков.

Выявлена положительная динамика роста у щенков и котят при постоянном ношении инсектоакарицидного ошейника на протяжении 6 месяцев.

Важное значение имеет биохимический анализ крови, поскольку определение ключевых продуктов метаболизма является чувствительным и тонким индикатором состояния обменных процессов в организме животного [8].

Оценку функционального состояния печени проводили по содержанию в крови активности аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и общего билирубина.

Через 6 мес применения комплексного инсектоакарицида «Неотерика Протекто 12» в крови щенков значения активности аспартатаминотрансферазы (в 1-й опытной группе 29,6±3,4 ЕД/л, во 2-й опытной группе – 26,4±2,9 ЕД/л, в контроле – 27,4±2,7 ЕД/л), аланинаминотрансферазы (в 1-й опытной группе – 36,8±2,8

Результаты исследований. Крупным достижением ветеринарной науки явилось введение в практику различных лекарственных препаратов, рассчитанных на благоприятное существование особей. Однако, использование всех этих средств требует всесторонний контроль за физиологическим состоянием животных, особенно щенков и котят [8]. Следует отметить, что ранний постнатальный период включает в себя множество физиолого-биохимических перестроек и характеризуется интенсивностью морфофункционального созревания. Поэтому особенно ценны результаты исследования переносимости препаратов на молодых животных.

Переносимость комплексного препарата на основе имидаклоприда, пирипроксифена и этофенпрокса изучена на котятах и щенках 3-5-мес возраста. Длительное ношение полимерной ленты не оказало отрицательного влияния на организм молодых животных. Результаты исследований показали, что у щенков и котят на протяжении всего периода наблюдений не было выявлено нарушений в поведении, приеме корма и воды. Они были подвижными и активными.

Контроль массы тела у молодняка является важным параметром, который отражает рост и развитие организма. При изучении переносимости лекарственного препарата учитывали массу тела животных (рис. 1-2).

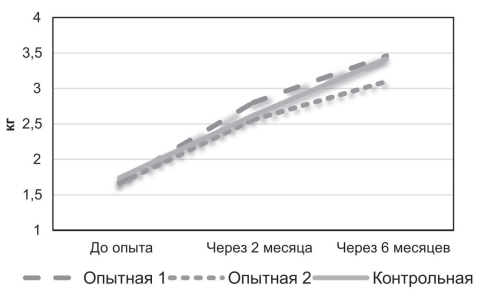

Рис. 2. Контроль массы тела котят.

ЕД/л, во 2-й опытной группе – 41,2±3,9 ЕД/л, в контроле – 35,4±4,0 ЕД/л) не превышали референтных значений. Значение общего билирубина в крови у щенков 2-й опытной группы через 2 мес после ношения ошейника составило 3,2±0,1 ммоль/л (в контроле 5,1±0,9ммоль/л), через 6 мес – 9,5±0,8 ммоль/л (в контроле 5,8±0,5 ммоль/л). Таким образом, нарушений в работе печени с учетом вышеуказанных показателей не выявлено.

Креатинин – конечный продукт в цепочке метаболического распада креатинфосфата. Из организма выводится с мочой, поэтому является важным показателем деятельности почек. При мониторинге креатинина в крови у собак 3-5-месячного возраста на 2-й и 6-й мес во время ношения инсектоакарицидного ошейника в терапевтической и повышенной терапевтической дозах отклонений данного показателя от физиологической нормы не выявлено. Уровень общего белка в крови собак 3-5-месячного воз-

раста также не превышал референтных значений на 2-й и 6-й мес во время ношения инсектоакарицидного ошейника.

Результаты исследования ряда биохимических показателей крови котят 3-5-месячного возраста представлены в таблице 1.

Таблица 1

Биохимические показатели крови котят, (n=5;P⩾0,05)

Показатель	1 опытная группа		2 опытная группа		Контрольная группа	
	до опыта	через 6 мес	до опыта	через 6 мес	до опыта	через 6 мес
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	24,2±4,1	25,8±2,9	33,0±2,5	31,2±3,9	25,4±2,3	33,8±2,8
АСТ, ЕД/л	23,0±2,8	21,6±1,4	21,8±2,3	25,4±2,8	22,4±1,9	25,2±2,3
АЛТ, ЕД/л	37,6±2,3	29,6±1,4	32,8±3,4	43,4±3,3	32,8±2,7	43,0±3,5
Креатинин, мкмоль/л	83,2±2,7	90,2±4,7	93,0±4,2	99,4±3,9	93,6±4,4	99,6±3,4
Мочевина, ммоль/л	8,4±0,8	7,9±0,9	8,9±0,6	7,6±0,6	8,9±0,6	9,2±0,3
Общий белок, г/л	66,6±2,1	67,2±2,2	70,6±2,1	65,4±2,0	66,6±2,0	61,4±1,9
Общий билирубин, ммоль/л	7,4±0,8	8,4±0,6	5,7±0,8	5,6±0,5	4,8±0,5	4,8±0,6

На протяжении всего исследования биохимические показатели крови (щелочная фосфатаза, АСТ, АЛТ, общий билирубин, мочевина, креатинин, общий белок) котят опытных и контрольных групп достоверно не отличались и находились в пределах физиологической нормы до и после начала применения комплексного препарата.

Анализ морфогематологических показателей крови щенков, котят 3-5-месячного возраста статистически значимых изменений не выявил.

При оценке внешнего вида, поведения, потребления корма и воды, характера двигательной активности, реакции на внешние раздражители не выявлено отрицательного влияния терапевтической и трехкратно увеличенной терапевтической доз инсектоакарицидного ошейника на собак и кошек 1-3-летнего возраста.

Результаты исследования некоторых биохимических показателей крови животных представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Биохимические показатели крови собак, (n=5; P⩾0,05)

Показатель	1 опытная группа		2 опытная группа		Контрольная группа	
	до опыта	через 6 мес	до опыта	через 6 мес	до опыта	через 6 мес
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	32,4±3,0	28,0±3,7	38,2±4,4	45,4±4,4	33,2±8,3	31,8±2,6
АСТ, ЕД/л	28,8±3,8	25,6±3,5	27,8±3,3	27,4±4,3	27,8±3,2	20,4±2,2
АЛТ, ЕД/л	31,2±4,9	37,2±5,2	39,4±1,8	39,0±3,6	46,8±2,8	43,8±3,1
Креатинин, мкмоль/л	62,4±7,0	67,0±6,0	69,0±6,3	80,2±6,8	65,2±7,4	88,8±6,2
Мочевина, ммоль/л	5,6±0,8	7,4±0,6	6,7±0,5	6,8±0,7	6,7±0,4	6,5±0,4
Общий белок, г/л	62,6±2,4	63,2±1,7	63,8±2,9	65,2±2,6	64,6±2,2	63,6±3,2
Общий билирубин, ммоль/л	4,2±0,5	7,9±0,4	5,5±0,9	7,9±0,8	6,0±1,0	6,1±0,8

На протяжении всего исследования биохимические показатели сыворотки крови (щелочная фосфатаза, АСТ, АЛТ, общий билирубин, мочевина, креатинин, общий белок) животных опытных и контрольных групп достоверно не отличались и находились в пределах физиологической нормы до и после начала применения препарата.

В результате изучения переносимости при ежедневном наблюдении за животными в течение экспериментального периода было установлено, что общее состояние собак, щенков, кошек и котят опытных и контрольных групп существенно не изменялось: все животные находились в удовлетворительном состоянии, были подвижны, активны, охотно принимали корм и пили воду, не отмечалось отклонений физиологических функций, каких-либо токсических явлений, условные рефлексы были сохранены.

При проведении морфогематологических показателей крови животных установлено, что количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина и скорость оседания эритроцитов у животных опытных и контрольных групп статистически не различа-

Таблица 3

Биохимические показатели крови кошек, (n=5; P⩾0,05)

Показатель	1 опытная группа		2 опытная группа		Контрольная группа	
	до опыта	через 6 мес	до опыта	через 6 мес	до опыта	через 6 мес
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	33,2±3,2	43,2±5,2	36,2±3,9	37,2±4,7	39,6±4,9	40,8±4,0
АСТ, ЕД/л	24,2±3,0	23,2±2,7	21,2±1,9	27,6±1,8	18,6±3,1	23,4±3,0
АЛТ, ЕД/л	37,8±1,5	42,6±2,1	32,0±1,8	51,2±2,5	29,4±3,0	33,4±2,9
Креатинин, мкмоль/л	109,4±9,1	106,4±6,9	98,0±5,1	86,2±4,8	93,2±5,6	102,8±6,3
Мочевина, ммоль/л	7,3±0,7	6,7±0,4	8,8±0,7	7,6±0,4	8,5±0,3	6,9±0,4
Общий белок, г/л	67,6±1,8	66,2±3,9	61,8±1,9	68,4±2,8	61,6±2,8	69,6±1,7
Общий билирубин, ммоль/л	5,4±0,9	4,7±0,7	7,6±0,6	7,8±1,3	8,0±0,9	6,2±0,8

лись и находились в пределах физиологической нормы, как до начала опыта, так и на 2 и 6 месяц после начала применения препарата.

Заключение. Таким образом, исследования продемонстрировали хорошую переносимость препарата. Значимость настоящего исследования заключается в том, что изучено влияние терапевтической и трехкратно увеличенной терапевтической доз на организм тех видов животных, на которых ориентировано применение препарата в ветеринарной практике. Коме того, применение повышенной терапевтической дозы лекарственного препарата для ветеринарного применения «Неотерика Протекто 12» не повлияло отрицательно на морфогематологические и биохимические показатели крови собак и кошек разных возрастных групп.

Литература

1. Паразитология и инвазионные болезни животных / М.Ш.Акбаев, Ф.И.Василевич, Р.М.Акбаев [и др.]; под ред. М.Ш.Акбаева. – М.: КолосС, 2008. – 776 с.

2. Арисов, М.В. «Инспектор» спрей – основа успешной борьбы с отодектозом и ктеноцефалидозом собак и кошек / М.В.Арисов, Д.Н.Шемяков, Е.Н.Индюхова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2014. – № 9. – С. 23-27.

3. Арисов, М.В. «РольфКлуб 3D» капли, спрей, ошейники – эффективные препараты против эктопаразитозов собак и кошек / М.В.Арисов, Т.С.Катаева, Н.В.Данилевская // Vet Pharma. – 2015. – № 2 (24). – С. 38-44.

4. Арисов, М.В. Антигельминтная эффективность препаратов «Гельминтал С» и «Гельминтал К» «SPOT-ON»: миф или реальность / М.В.Арисов, Е.Н.Индюхова, В.А.Степанов // Ветеринарный врач. – 2014. – № 6. – С. 44-47.

5. Исследование переносимости комплексного противопаразитарного препарата «Инспектор ошейник» / М.В.Арисов, И.Г.Гламаздин, А.И.Демин, В.В.Артемов // Российский паразитологический журнал. – 2016. – Т. 38, вып. 4. – С. 547-553.

6. Арисова, Г.Б. Разработка и первичные испытания нового инсектоакарицидного препарата при арахноэнтомозах собак / Г.Б.Арисова, А.В.Логанов, М.В.Арисов // Российский паразитологический журнал. – 2011. – № 3. – С. 86-90.

7. Данилевская, Н. Конъюктивин – изучение безопасности при длительном применении препарата на лабораторных животных / Н.Данилевская, Р.Тухфатова, Т.Абгалина // VetPharma. – 2012. – № 3. – С. 32-36.

8. Физиология и этология животных / В.Ф.Лысов, Т.В.Ипполитова, В.И.Максимов, Н.С.Шевелев; под ред. проф. В.И.Максимова. – М.: «КолосС», 2012. – 605 с.

9. Панфилов, А.В. Инсектоакарицидные средства в форме ошейника / А.В.Панфилов // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2009. – № 2. – С. 12.

10. Попов, С.Я. Основы химической защиты растений / С.Я.Попов, Л.А.Дорожкина, В.А.Калинин; под ред. профессора С.Я.Попова. – М.: Арт-Лион, 2003. – 208 с.

11. Рославцева, С.А. Неоникотиноиды – новая перспективная группа инсектицидов / С.А.Рославцева // Агрохимия. – 2000. – № 1. – С. 49-52.

12. Соколянская, М.П. Проблема кросс-резистентности насекомых и клещей к инсектицидам и акарицидам / М.П.Соколянская, Д.В.Амирханов // Вестник БГАУ. – 2010. – № 1. – С. 12-18.

13. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors / K.Matsuda [et al.] // Trend Pharmacol Sci. – 2001. – Vol. 22 (11). – P. 573-580.

MONITORING OF SOME PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD OF DIFFERENT AGED DOGS AND CATS IN A STUDY OF TOLERANCE OF THE INSECTOACARICIDE COLLAR «NEOTERICA PROTECTO 12»

Arisov M.V. – Doctor of Veterinary Sciences; Indyuhova E.N. – Candidate of Biological Sciences; Koshkarev E.A. – postgraduate student; Arisova G.B. – Candidate of Veterinary Sciences.

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitological of Animals and Plants named after K.I.Skryabin", Moscow (e-mail:zxcv3980@yandex.ru).

The study results of tolerance of complex insectoacaricide preparation for veterinary use "Neoteric Protecto 12" (imidacloprid, pyriproxifen and ethofenprox) on target species of animals – dogs and cats – are presented. To examine the safety of the preparation the study included 1-3 years dogs and cats, including puppies and kittens of 3-5 months of age. 3 groups were created – control and 2 experimental respectively. Animals of the first experimental group wore a single collar of appropriate length (therapeutic dose). Animals of the second experimental group wore 3 collars of appropriate length (threefold increased therapeutic dose). Control animals were not given the preparation. Dogs, cats, puppies and kittens of the experimental groups wore the collars for 6 months. As a result of tolerance study of daily observed animals during the experimental period it was found that the general state of all groups of dogs, puppies, cats and kittens did not change significantly: all the animals were in a satisfactory condition, were mobile, active, willingly took food and drank water, there were no abnormalities of physiological functions, no any toxic phenomenon, conditioned reflexes were retained. The preparation "Neoteric Protecto 12" which is used in therapeutic and in threefold increased therapeutic doses, has no negative effect on physiological status of pets of different age groups. The studies have shown a good tolerance of the preparation. The significance of this study is that the effect of therapeutic and threefold increased therapeutic doses are studied to the body of those animals on whom the use of the preparation in veterinary practice is focused .

KEYWORDS: medicinal preparation, polymer tape, collar, pesticide, imidacloprid, pyriproxyfen, ethofenprox, safety, tolerance, cats, dogs.

References

1. Parazitologiya I invazionnye bolezni zhivotnykh [Parasitology and Invasive Animal Diseases] / M.Sh.Akbaev, F.I.Vasilevich, R.M.Akbaev [et al.]; edited by. M.Sh.Akbaev. – M.: KolosS, 2008. – 776 p.

2. Arisov, M.V. "Inspektor" sprey – osnova uspeshnoy borby s otodektozom I ktenotsefalidozom sobak I koshek ["Inspector" spray is the basis for a successful control against Otodectosis and Ctenocephalides of dogs and cats] / M.V.Arisov, D.N.Shemyakov, E.N.Indyukhova // Veterinariya, zootekhniya I biotekhnologiya. – 2014. – №. 9. – P. 23-27.

3. Arisov, M.V. "RolfKlub 3D" kapli, sprey, osheyniki – effektivnye preparaty protiv ektoparazitozov sobak I koshek ["RolfClub 3D" drops, spray and collars are effective preparations against ectoparasitosis of dogs and cats] / M.V.Arisov, T.S.Kataeva, N.V.Danilevskaya // VetPharma. – 2015. – №. 2 (24). – P. 38-44.

4. Arisov, M.V. Antigelmintnaya effektivnost preparatov "Gelmintal C" I "Gelmintal K" "SPOT-ON:" mif ili realnost [Anthelmintic efficacy of preparations "Gelmintal C" and "Gelmintal K" "SPOT-ON": myth or reality] / M.V.Arisov, E.N.Indyukhova, V.A.Stepanov // Veterinarny vrach. – 2014. – №. 6. – P. 44-47.

5. Issledovanie perenosimosti kompleksnogo protivoparazitarnogo preparata "Inspektor osheynik" [The study of tolerance of complex antiparasitic preparation "Inspector Collar"] / M.V.Arisov, I.G.Glamazdin, A.I.Demin, V.V.Artemov // Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal. – 2016. – Vol. 38, Issue. 4. – P. 547-553.

6. Arisova, G.B. Razrabotka I pervichnye ispytaniya novogo insektoakaritsidnogo preparata pri arakhnoentomozakh sobak [Development and initial tests of a new insectoacaricide preparation for dog arachnoentomosis] / G.B.Arisova, A.V.Loganov, M.V.Arisov // Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal. – 2011. – №. 3. – P. 86-90.

7. Danilevskaya, N.V. Konyuktivin – izuchenie bezopasnosti pri dlitelnom primenenii preparata na laboratornykh zhivotnykh [Konjuktivin - safety study with prolonged use of the preparation on laboratory animals] / N.V.Danilevskaya, R.Tukhfatova, T.Abgalina // VetPharma. – 2012. – № 3. – P. 32-36.

8. Fiziologiya I etologiya zhivotnykh [Physiology and Ethology of Animals]. V.F.Lysov, T.V.Ippolitova, V.I.Maksimov, N.S.Shevelyov; edited by prof. V.I.Maksimov. – M.: KolosS, 2012. – 605 p.

9. Panfilov, A.V. Insektoakaritsidnye sredstva v forme osheynika [Insectoacaricidal means in the form of a collar] / A.V.Panfilov // Rossiyskiy zhurnal "Problemy veterinarnoy sanitarii, gigieny I ekologii". – 2009. – №. 2. – P. 12.

10. Popov, S.Ya. Osnovy khimicheskoy zaschity rasteniy [Fundamentals of a chemical plant protection] / S.Ya.Popov, L.A.Dorozhkina, V.A.Kalinin; edited by prof. S.Ya.Popov. – M.: Art-Lion, 2003. – 208 p.

11. Roslavtseva, S.A. Neonikotinoidy – novaya perspektivnaya gruppa insektitsidov [Neonicotinoids are a new promising group of insecticides] / S.A.Roslavtseva // Agrokhimiya. – 2000. –№. 1. – P. 49-52.

12. Sokolyanskaya, M.P. Problema kross-rezistentnosti nasekomykh I kleschey k insektitsidam I akaritsidam [The problem of cross-resistance of insects and mites to insecticides and acaricides] / M.P.Sokolyanskaya, D.V.Amirkhanov // Bulletin of the BSAU. – 2010. – №. 1. – P. 12-18.

13. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors / K.Matsuda [et al.] // Trend Pharmacol Sci. – 2001. – Vol. 22 (11). – P. 573-580.

УДК 619:615.9:636/5.087/72(470.22) (470.41)

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ШУНГИТА И ЦЕОЛИТА В РАЦИОНАХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, КОНТАМИНИРОВАННЫХ КАДМИЕМ И СВИНЦОМ

Р.У.Бикташев – доктор сельскохозяйственных наук, доцент, вед.н.с.; В.А.Конюхова – кандидат биологических наук, с.н.с.; К.Х.Папуниди – доктор ветеринарных наук, профессор, зам.директора; И.Р.Кадиков – доктор биологических наук, зав. лаб.; Г.Ш.Закирова – кандидат ветеринарных наук, вед.н.с.; Д.Х.Гатауллин – кандидат сельскохозяйственных наук, зам. директора.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» г.Казань (420075, Казань, Научный городок-2; тел. +7 (843) 239-53-49,e-mail: vnivi@mail.ru).

Представлены результаты опыта на цыплятах-бройлерах кросса Кобб-500. Применение высокодисперсных (1-10 мкм) сорбентов шунгита Зажогинского месторождения Республики Карелия и цеолита Шатрашанского месторождения Республики Татарстан на фоне сочетанной контаминации рационов 0,5 ПДК кадмия и 0,5 ПДК свинца позволяет предотвратить накопление кадмия и свинца в печени и мышцах бройлеров. Доза внесения энтеросорбентов составляет 0,5% от массы корма как в отдельности, так и в комбинации. Длительное применение сорбентов в этих дозах не влияет на обмен микроэлементов и способствуют полному проявлению генетического потенциала продуктивности птицы и получению высококачественной продукции. Применение шунгита в дохе 0,5% в неконтаминированных кормах позволяет повысить продуктивность бройлеров на 10,2% (P<0,001), так как шунгит обладает бактерицидными, окислительными и восстановительными свойствами. Конверсия корма в этом случае снижается до 1,45 кг/кг прироста. Применение цеолита в неконтаминированных кормах не дает такого эффекта – конверсия корма составляет 1,62 кг/кг прироста.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цыплята-бройлеры, рационы, кадмий, свинец, шунгит, цеолит, печень, мышцы.

В последние годы проводятся интенсивные исследования возможности применения энтеросорбентов для профилактики токсикозов животных и птицы при контаминации кормов тяжелыми металлами и микотоксинами [1, 3, 5, 7, 8, 10,11, 12, 13]. Исходя из этого, целью наших исследований явилось изучение влияния введения в рационы цыплят-бройлеров высокодисперсных шунгита и цеолита как в отдельности, так и в комбинации на продуктивность птицы, конверсию корма, концентрацию металлов в печени и мышцах на фоне контаминации рационов кадмием и свинцом.

Материалы и методы. Проведен опыт на цыплятах-бройлерах кросса Кобб-500, сформированных в 8 групп по пять особей в каждой группе (табл.1).

Таблица 1

Схема опыта

Группа	Характеристика рациона
1	Основной рацион (ОР)+0,5 ПДК Cd+0,5 ПДК Pb
2	ОР+0,5 ПДК Cd+0,5 ПДК Pb+0,25% шунгита+0,25% цеолита
3	ОР+0,5 ПДК Cd+0,5 ПДК Pb+0,5% шунгита+0,5% цеолита
4	ОР+0,5 ПДК Cd+0,5 ПДК Pb+0,5% шунгита
5	ОР+0,5 ПДК Cd+0,5 ПДК Pb+0,5% цеолита
6	ОР+0,5% шунгита
7	ОР+0,5% цеолита
8	ОР – биологический контроль

В качестве энтеросорбентов использовали высокодисперсные (1-10 мкм) шунгит Зажогинского месторождения Республики Карелия и цеолит Шатрашанского месторождения Республики Татарстан. Опыт проведен в период с 28 апреля по 21 мая 2018 года. В ходе опыта использовали полнорационные комбикорма ОАО «Набережночелнинский элеватор» (ГОСТ Р 51851-2001). Доступ птицы в корму и воде был свободным. Птицу взвешивали в начале и конце опыта индивидуально. В конце опыта бройлеров декапитировали, брали пробы печени и мышечной ткани для проведения исследований содержания металлов. Анализы на содержание металлов осуществляли методом атомно-абсорбционной спектрометрии по ГОСТ 39178-96.

Результаты исследований. Данные по изучению влияния препаратов на прирост массы тела и содержание металлов в печени и мышцах бройлеров представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Прирост живой массы цыплят-бройлеров в ходе опыта, г (M±m)

Живая масса	Группа							
	1	2	3	4	5	6	7	8
в начале опыта	642±4,5	772±8,4	732±4,5	752±4,5	738±4,5	762±8,4	762±4,5	736±11,4
в конце опыта	2702±26	2978±24	2952±14	3022±26	3004±13	3238±18***	2988 ±20	2982 ±17
Прирост всего:	2060±16**	2206±26	2220±15***	2270±10	2266±13	2476±21***	2226±28	2246±21
среднесуточный	89,6±5,9	95,9±20,2	96,5±5,2	98,7±3,9	98,5±0,5	107,7±1,2	96,8±2,4	97,7±6,6
Затраты корма, кг/кг прироста	1,75	1,63	1,62	1,59	1,59	1,45	1,62	1,6

Примечание: * – P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001.

Таблица 3

Содержание металлов в печени и мышцах бройлеров, M±m (n=5)

Группа	Металлы, мг/кг							
	Cd	Pb	Cu	Zn	Fe	Mn	Co	Ni
1-печень	0,077±0,01	0,34±0,04	4,07±0,30	20,3±0,9	63,9±4,7	1,57±0,1	<0,02	0,126±0,02
1-мышцы	0,068±0,01	0,26±0,05	2,05±0,12	13,0±1,2	13,8±2,99	0,230±0,08	<0,02	0,364±0,14
2-печень	0,072±0,02	0,17±0,01	4,25±0,31	20,5±0,4	74,6±12,2	1,56±0,07	<0,02	0,375±0,11
2-мышцы	0,040±0,02	0,13±0,01	1,76±0,41	10,7±0,9	9,8±2,2	0,16±0,03	<0,02	0,282±0,04
3-печень	0,045±0,005	0,13±0,04	4,60±1,36	20,0±0,4	65,5±5,2	1,67±0,33	<0,02	0,439±0,14
3-мышцы	0,019 ±0,005	0,07±0,02	1,55±0,09	11,6±2,2	11,3±2,51	0,48±0,12	<0,02	0,276±0,08
4-печень	0,037±0,006	0,09±0,03	4,23±0,21	19,2±1,3	64,9±10,2	1,47±0,14	<0,02	0,268±0,12
4-мышцы	0,014±0,000	0,02±0,03	1,56±0,16	10,0±0,9	11,6±0,8	1,15±0,01	<0,02	0,306±0,08
5-печень	0,035±0,030	0,22±0,04	4,24±0,33	19,7±1,0	73,6±11,0	1,48±0,15	<0,02	0,135±0,05
5-мышцы	0,009±0,009	0,00±0,00	1,49±0,09	11,1±0,9	21,2±5,0	0,14±0,01	<0,02	0,346±0,03
6-печень	0,017±0,004	0,04±0,02	4,34±0,78	17,6±1,2	74,8±15,0	1,59±0,23	<0,02	0,334±0,13
6-мышцы	0,003±0,00	0,004±0,00	1,53±0,15	12,3±1,6	23,7±7,8	0,16±0,01	<0,02	0,389±0,08
7-печень	0,005±0,003	0,032±0,00	4,69±0,65	18,9±1,7	99,1±40,0	1,35±0,03	<0,02	0,328±0,17
7-мышцы	0,000±0,00	0,000±0,00	1,82±0,13	11,9±2,9	16,6±9,9	0,13±0,01	<0,02	0,280±0,16
8-печень	0,017±0,004	0,26±0,02	4,28±0,24	19,2±0,1	69,4±0,6	1,97±0,06	<0,02	0,118±0,01
8-мышцы	0,002±0,006	0,04±0,00	1,99±0,25	14,0±0,2	8,9±0,8	0,10±0,02	<0,02	0,265±0,06
Норма								
Печень	0,3	0,6	-	-			-	-
Мышцы	0,05	0,5	5,0	70,0				

Из таблицы 2 видно, что максимальный прирост живой массы имели бройлеры 6-й группы (2476 г), которые получали основной рацион, обогащенный высокодисперсным шунгитом в дозе 0,5% что выше биологического контроля на 230 г (P<0,001), то есть на 10,2%. Соответственно, бройлеры этой группы на 1 кг прироста затратили 1,45 кг комбикорма. Следует отметить, что в отличие от цеолита шунгит обладает сорбционными, бактерицидными, каталитическими и восстановительными свойствами, что способствовало его использованию в водообработке для очистки сточных вод от многих неорганических и органических веществ (тяжелые металлы, аммиак, нефтепродукты, пестициды, фенолы, поверхностно-активные вещества и др.). Кроме того, шунгит является эффективным сорбентом для очистки питьевой воды от хлора и хлорорганических веществ (диоксинов, радикалов), обладает бактерицидными свойствами по отношению к патогенной микрофлоре в воде [9]. Второе место по эффективности занимает 4-я группа с использованием шунгита в дозе 0,5% на фоне сочетанной контаминации рациона кадмием и свинцом. Прирост живой массы составил 2270 г при затрате 1,59 кг корма на 1 кг прироста. При этом обогащение основного рациона 0,5% цеолита (7-я группа) не дало превышения показателя биологического контроля, что опровергает некоторые литературные сведения [6]. Контаминация рациона кадмием и свинцом в дозах по 0,5 ПДК снизила прирост живой массы бройлеров 1-й группы на 186 г (на 8,3%) по сравнению с биологическим контролем (P<0,01).

Из таблицы 3 видно, что концентрация кадмия в печени бройлеров 8-й группы (биологический контроль) составила всего 0,017 мг/кг, а в мышцах – 0,002 мг/кг. Соответствующие показатели в 1-й группе составили 0,077 мг и 0,068 мг, то есть концентрации кадмия в печени повысилась в 4,5 раза (P>0,05), а в мышцах повысилась в 11,3 раза (P<0,05).

Во 2-й группе (доза сорбентов по 0,25%) снижение концентрации кадмия оказалось незначительным, следовательно, эта доза не является достаточной.

В 3-й группе концентрация кадмия в печени составила 0,045; в мышцах – 0,019 мг, снижение соответственно в 1,7 раза (P>0,05) и 3,6 раза (P<0,05) по сравнению с показателями 1-й группы.

В 4-й группе (0,5% шунгита) концентрация кадмия в печени снизилась в 2,1 раза (P>0,05), а в мышцах кадмий не обнаружен (P<0,001).

В 5-й группе (0,5% цеолита) концентрация кадмия в печени снизилась в 2,2 раза (P>0,05), а в мышцах – в 7,5 раза (P<0,05).

В 6-й группе (ОР+0,5% шунгита) концентрация кадмия в печени и мышцах соответствовала показателям 8-й группы (биологического контроля).

В 7-й группе (ОР+0,5% цеолита) концентрация кадмия в печени оказалась в 3,4 раза (P>0,05) меньше, чем в группе биологического контроля, а в мышцах кадмий не обнаружен совсем. Концентрация свинца в печени бройлеров 8-й группы биологического контроля составила 0,26 мг/кг, в мышцах – 0,04 мг/кг.

В 1-й группе концентрация свинца повысилась соответственно до 0,34 (P<0,05) и 0,26 (P<0,001) мг/кг. Во 2-й группе (сорбенты в дозе по 0,25%) концентрация свинца в печени и мышцах бройлеров снизилась в 2 раза по сравнению с показателями 1-й группы (P>0,05). В 3-й группе (сорбенты в дозе по 0,5%) концентрация свинца в печени в сравнении с 1-й группой снизилась в 2,6 раза (P>0,05), а в мышцах – в 3,7 раза (P>0,05). В 4-й группе (0,5% шунгита) в сравнении с показателями 1-йгруппы концентрация свинца в печени снизилась в 3,8 раза (P<0,05), а в мышцах – в 13 раз (P<0,05). В 5-й группе (0,5% цеолита) в сравнении с показателями 1-й группы концентрация свинца в печени снизилась в 1,5 раза (P>0,0), в мышцах – свинец не обнаружен. В 6-й группе концентрация свинца в печени составила 0,04 мг/кг и была меньше показателя 8-й группы (биологический контроль) в 6,5раза (P<0,05). Концентрация свинца в мышцах была в 10 раз меньше показателя 8-й группы (P<0,01). В 7-й группе концентрация свинца в печени оказалась в 8,1 раза меньше показателя 8-й группы (P<0,01), а в мышцах свинец не обнаружен. Концентрация меди, цинка, железа и марганца в печени и мышцах бройлеров всех групп не претерпела значительных изменений и находилась в пределах физиологической нормы. Концентрация кобальта во всех пробах оказалась менее 0,02 мг/кг. Концентрация никеля в печени и мышцах бройлеров имела определенные отклонения, но не зависела от применения сорбентов. Кристаллы тонко молотого шунгита обладают выраженными биполярными свойствами, что способствует смешиванию шунгита практически со всеми органическими и неорганическими веществами [2]. Основу шунгитного углерода составляют полые, многослойные фуллереноподобные сферические глобулы диаметром 10-30 нм, содержащие пакеты плавно изогнутых углеродных слоев, охватывающих нанопоры. Фуллереноподобные глобулы могут содержать от нескольких десятков до нескольких сотен атомов углерода и различаться по форме и размерам [4].

Заключение. В целом применение шунгита и цеолита в дозе по 0,5% в рационах цыплят-бройлеров в отдельности или комбинированно позволяет профилактировать металлотоксикозы на фоне контаминации кормов кадмием и свинцом в концентрациях до 0,5 ПДК. Длительное сочетанное применение сорбентов не оказывает влияние на обмен микроэлементов в организме и способствует полному проявлению генетического потенциала продуктивности птицы.

Литература

1. Использование минерала шунгит в рационах жвачных животных: методические рекомендации / Н.В.Боголюбова, В.Н.Романов, В.А.Девяткин [и др.]. – Дубровицы: ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К.Эрнста, 2017. – 42 с.

2. Живая масса и состав крови телят в зависимости от формы и дозы применения кормовых добавок на основе сапропеля / А.М.Ежкова, И.А.Яппаров, В.О.Ежков [и др.] // Ветеринарный врач. – 2018. – № 4. – С. 48-53.

3. Ермакова Е.И. Адсорбционные свойства бентонита и модифицированного бентонита в отношении тяжелых металлов и микроэлементов в рационах бычков / У.И.Ермакова, К.Х.Папуниди, Р.У.Бикташев // Ветеринарный врач. – 2014. – № 2. – С. 7-10.

4. Горштейн, А.Е. Адсорбционные свойства шунгитов / А.Е.Горштейн, Н.Ю.Барон, М.Л.Сыркина // Изв. вузов, химия и химич. технология. – 1979. – Т. 22, № 6. – С. 711–715.

5. Жиенбаева, С.Т. Шунгит в комбикормах для цыплят-бройлеров / С.Т.Жиенбаева, А.И.Изтаев, К.А. Елеукенова // Известия Кыргызского гос.тех.университета им. Р.И.Раззакова. – 2008. – № 13. – С. 191 – 193.

6. Калинин, Ю.К. Экологический потенциал шунгита / Ю.К.Калинин // Шунгиты и безопасность жизнедеятельности человека: материалы I Всерос. науч.-практ. конф.; под ред. Ю.К.Калинина. – Петрозаводск, 3-5 окт. 2006 г. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. – С. 5–10.

7. Новожилова, О.А. Повышение эффективности производства яиц и мяса бройлеров на основе обогащения шунгитом комбикормов и питьевой воды для птицы: дис. ... канд. с.-х наук: 06.02.10 / О.А.Новожилова. – Вологда, 2011. – 192 с.

8. Папуниди К.Х. Биохимические показатели сыворотки крови лактирующих коров при контаминации рационов Т-2 токсином на фоне применения высокодисперсного кизельгура / К.Х.Папуниди, Р.У.Бикташев, С.Р.Буланкова // Ветеринарный врач. – 2014. - № 3. – С. 8-12.

9. Подчайнов, С.Ф. Минерал цеолит – умножитель полезных свойств шунгита / С.Ф. Подчайнов // Шунгиты и безопасность жизнедеятельности человека: материалы I Всерос. науч.-практ. конф.; под ред. Ю.К.Калинина. – Петрозаводск, 3–5 окт. 2006 г. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. – С. 10–74.

10. Сарсенбаева, Н.Б. Ветеринарно – санитарная оценка качества продуктов птицеводства при использовании кормовых добавок - цеолитов, пробиотиков: автореф. ... д-ра вет. наук / Н.Б.Сарсенбаева. – Алматы, 2006. – 50 с.

11. Применение нового адсорбента «Модибент» для профилактики микотоксикозов / Э.И.Семенов, С.А.Танасева, А.Р.Валиев [и др.] // Ветеринарный врач. – 2017. – № 3. – С. 30-35.

12. Тремасова, А.М. Фармако-токсикологическое обоснование использования природного минерала шунгита и препаратов на его основе – наносорбентов Полисорбин и Полисорб в ветеринарии: дис. ... д-ра биол. наук 06.02.02. 06.02.03 / А.М.Тремасова. – Казань, 2015. – 351 с.

13. Шарапова, В.Ю. Использование шунгита в кормлении кур-несушек / В.Ю.Шарапова, Н.А.Лери // Птицеводство. – 2010. – № 9. – С.31-33.

EFFICACY OF SHUNGITE AND ZEOLITE ADDING IN BROILER CHICKENS DIETS CONTAMINATED BY CADMIUM AND LEAD

Biktashev R.U. – Doctor of Agricultural Sciences; Konuchova V.A. – Candidate of Biological Sciences; Papunidi K.Kh. – Doctor of Veterinary Sciences, professor; Kadikov I.R. – Doctor of Biological Sciences; Zakirova G.Sh. – Candidate of Veterinary Sciences; Gataullin D.Kh. – Candidate of Agricultural Sciences.

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnivi@mail.ru).

The article presents the results of experiment on broiler chickens of cross Kobb-500. The use of high dispersed (1-10 mcm) sorbents - shungite from the Republic Karelia Zazhogin deposit and zeolite from the Republic of Tatarstan Shatrashan deposit against the background of combined diets contamination by 0.5 MPC of cadmium and 0.5 MPC of lead enables to prevent them from accumulating in liver and muscle of broilers. The dose of sorbents introduction constitutes 0.5% of feed mass both separately and in combination. The prolonged using of sorbents in such doses does not influence on microelements metabolism and contributes to complete development of poultry genetic productive potential and obtaining of high qualitative production. The use of shungite in dose 0.5% in noncontaminated feeds makes it possible to increase productivity of broilers by 10.2% (P<0.001) owing to antibacterial, oxidizing and reducing properties of shungite. Feed conversion in that case decreases till 1.45 kg/kg of gain. The use of zeolite in noncontaminated feeds does not give such effect – the feed conversion is 1.62 kg/kg of gain.

KEYWORDS: broiler chickens, diets, cadmium, lead, shungite, zeolite, liver, muscle.

References

1. Ispolzovanie mineral shungita v ratsionakh zhvachnykh zhivotnykh: metodicheskie recomendatsii [Using shungite in diets of ruminants: methodological recommendations] / N.V.Bogolyubova, V.N.Romanov, V.A.Devyatkin [et al.]. – Dubrovitsy: FGBNU FNC VIZH after L.K.Ernst, 2017. – 42 p.

2. Zhivaya massa I sostav krovi telyat v zavisimosti ot formy I dozy primeneniya kormovykh dobavok na osnove sapropelya [The calves' living weight and blood composition depending on dose and form of using feed additives on the basis of Sapropel] / A.M.Ezhkova, I.A.Yapparov, V.O.Ezhkov [et al.] // Veterinarny vrach. – 2018. – № 4. – P. 48-53.

3. Ermakova E.I. Adsorbtsionnye svoystva bentonita I modifitsirovannogo bentonita v otnoshenii tyazhelykh metallov I microelementov v ratsionakh bychkov [Adsorptive properties of bentonite and modified bentonite concerning heavy metals and microelements in bull diet] / E.I.Ermakova, K.Kh.Papunidi, R.U.Biktashev // Veterinarny vrach. – 2014. – № 2. – P. 7-10.

4. Gorshtein, A.E. Adsorbtsionnye svoystva shungitov [Adsorptive properties of shungite] / A.E.Gorshtein, N.Yu.Baron, M.L.Syrkina // Izvestiya vuzov, khimiya I khimicheskaya tekhnologiya. – 1979. – T. 22, № 6. – P. 711-715.

5. Zhienbaeva, S.T. Shungit v kombikormakh dlya tsyplyat-broylerov [Shungit in feed mixtures for broiler chickens] / C.T.Zhienbaeva, A.I.Iztaev, K.A.Eleukenova // Izvestiya Kyrgyzskogo Gos.Tekh.. Universiteta im.R.I. Razzakova. – 2008. – № 13. – P. 191-193.

6. Kalinin, Yu.K. Ecologicheskiy potentsial shungita [Ecological potential of shungite] / Yu.K.Kalinin // Shungity I bezopasnost zhiznedeyatelnosti cheloveka: sbornik materialov pervoy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy conferenzii; edited by. Yu.K.Kalinin. – Petrozavodsk, 3-5 oktyabrya 2006 g [Shungits and human life safety: proceedings from the 1-st All-Russian sci.-pract. conf., Petrozavodsk, 3-5 october in 2006]. – Petrozavodsk: Karelsky Scientific Center RAN, 2007. – P. 5-10.

7. Novozhilova, O.A. Povyshenie effectivnosty proizvodstva yaits I myasa broilerov na osnove obogacheniya shungitom kombikormov I pityevoy vody dlya ptitsy: Dis. ... candidata selskokhozyaystvennykh nauk: 06.02.10 [Development of broilers' eggs and meat production on the basis of enriching feeds and drinking water for poultry with shungit: diss. for cand. of agricultural sciences] / O.A.Novozhilova. – Vologda, 2011. – 192 l.

8. Papunidi, K.Kh., BiktashevR.U., BulankovaS.R. Biokhimicheskie pokazately syvorotky krovi lactiruyuschikh korov pri contaminatsii ratsionov T-2 toxinom na fone primeneniya vysokodispersnogo kizelgura [Biochemical indexes of the lactating cows blood serum at the contamination of diet by T-2 toxin against the background of high disperse Kizelgur application] / K.Kh. Papunidi, R.U. Biktashev, S.R. Bulankova // Veterinarny vrach. – 2014. – № 3. – P. 8-12.

9. Podchaynov, S.F. Mineral tseolite – umnozhitel poleznykh svoystv shungita [Mineral Zeolite – multiplier of the useful shungite properties] / S.F.Podchaynov // Shungity I bezopasnost zhiznedeyatelnosti cheloveka: sbornik materialov pervoy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy conferentsii Petrozavodsk, 3-5 okt. 2006 g [Shungits and human life safety: proceedings from the 1-st All-Russian sci.-pract. conf., Petrozavodsk, 3-5 october in 2006]; pod red. Yu.K.Kalinina. – Petrozavodsk: Karelsky nauchny tsentr RAN, 2007. – P. 6-74.

10. Sarsenbaeva, N.B. Veterinarno-sanitarnaya otsenka kachestva productov ptitsevodstva pri ispolzovanii kormovykh dobavok – zeolitov, probiotiko: avtoref. ... d-ra vet. nauk [Veterinary and sanitation evaluation of poultry products quality when using feed additives – tseolitov, probiotikov: abstract from dis. ... for Doctor of Veterinary Medicine] / N.B.Sarsenbaeva. – Almaty, 2006. – 50 p.

11. Primenenie novogo adsorbenta «Modibent» dlya profilaktiki mikotoksikozov [Application of a new absorbent «Modibent» to prevent mycotoxicosis] / E.I.Semenov, S.A.Tanaseva, A.R.Valiev [et al.] // Veterinarny vrach. – 2017. – № 3. – P. 30-35.

12. Tremasova, A.M. Farmako-toxicologicheskoe obosnovanie ispolzovaniya prirodnogo mineral shungita I preparatov na ego osnove, nanosorbentov polisorbin I polisorb v veterinarii: Dis. ... d-ra biol. nauk 06.02.02.- 06.02.03 [Pharmacoligical and toxicological reason for using a natural mineral shungite and drugs made from it – nanosorbents Polisorbin and Polisorb in Veterinary Medicine: dis. ... for Doctor of Biology]. – Kazan, 2015. – 351 l.

13. Sharapova, V.Yu. Ispolzovanie shungita v kormlenii kur-nesushek [Using shungite in feeding of hens] / V.Yu.Sharapova, N.A.Leri // Ptitsevodstvo. – 2010. – № 9. – P. 31-33.

УДК 619:616-001.28/.29-085

ИЗЫСКАНИЕ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ ИЗ КЛАССА ИНДУКТОРОВ ЦИТОКИНОВ

Н.Б.Тарасова – доктор биологических наук, зав. лабораторией; К.Н.Вагин – кандидат биологических наук, ст.н.с.; Г.В.Конюхов – доктор биологических наук, профессор, зав. отделом; Р.Н.Низамов – доктор ветеринарных наук, профессор, гл.н.с.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г.Казань (420075, г.Казань, Научный городок-2, тел. +7(843) 239-53-19, e-mail: vnivi@mail.ru).

Впервые теоретически обоснована и практически подтверждена возможность использования средств из класса индукторов цитокинов зоогенного, микробного и фитогенного происхождения для лечения животных при острой лучевой болезни. Для первичной оценки цитокининдуцирующей активности отобрана оптимальная тест-система, обеспечивающая экстренное определение содержание медиаторов иммуногемопоэза в условиях ex vivo. Впервые изучено радиозащитное действие индукторов цитокинов и цитокинстимулированных сывороток. Получены новые данные о механизме радиозащитного действия гемостимулированной сыворотки. Установлена возможность усиления радиозащитной активности гемостимулированной сыворотки и уменьшения её лечебных доз с помощью препаратов «Эра-Н» и «Вита-Форце». В опытах на лабораторных и сельскохозяйственных животных установлен высокий терапевтический эффект гемостимулированной сыворотки и препарата «Эра-Н», обеспечивающие 60-80%-ную защиту при экспериментальной острой лучевой болезни.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лучевая болезнь, профилактика, лечение, индукторы цитокинов, механизм действия.

Глобальное загрязнение радионуклидами биосферы, вредные последствия радиационных воздействий на организм, перспективы дальнейшего усиления радиоэкологического кризиса, все это ставит проблему противолучевой защиты в число важнейших задач современной биологии и медицины. Особенную актуальность эта проблема приобрела после Чернобыльской радиационной катастрофы, которая сделала ее одной из основных для ветеринарной радиобиологии.

Полувековые исследования в области разработки методов и средств противорадиационной защиты привели к созданию препаратов от острой лучевой болезни из многих тысяч соединений, снижающих радиобиологический эффект живых систем [1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

В последние годы при изучении различных аспектов механизма противолучевого действия, отечественными исследователями наметились новые перспективы в области терапии радиационных поражений – использование иммуномодуляторов – веществ из классов зоогенной и микробной природы, обеспечивающих повышение радиорезистентности организма в условиях летального облучения. Авторы полагают, что радиозащитное действие таких препаратов связано со способностью индуцировать в организме медиаторы гемо- и иммунопоэза (интерлейкины, интерферон и т.д.).

Целью настоящих исследований является изыскание противолучевых средств из класса индукторов цитокинов.

Материалы и методы. В экспериментальных исследованиях использованы 824 белые мыши живой массой 18-20 г, 210 белые крысы живой массой 180-200 г, 48 кроликов породы “Шиншилла” живой массой 3,5-5,0 кг, 16 овец породы “Прекос” средней живой массой 42,5 кг.

Моделирование лучевой болезни легкой, средней и тяжелой степени тяжести у животных осуществляли путем равномерного облучения их на гамма-установке «Пума» с источником излучения 137Cs, неравномерность гамма-поля не превышала 10 %.

Клинико-гематологические исследования проводили до начала радиационного воздействия и через 1, 3, 10, 20 и 30 сут после облучения и применения радиозащитных средств. На каждом сроке исследования использовали от 3 до 10 животных.

Изучение массы тела, температуры, общего состояния, содержание гемоглобина, числа лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитарной формулы, белковых фракций сыворотки, соотношения субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, числа миелокариоцитов в костном мозге, клеточности селезенки и тимуса, эндогенных колоний в селезенке, бактерицидности и лизоцимной активности, активности нейтрофилов в НСТ-тесте и фагоцитарного индекса нейтрофилов, активности каталазы у облученных и подвергнутых лечению животных проводили по общепринятым методам [3, 4, 5].

В качестве индукторов цитокинов использовали 4 нативных и 4 облученных варианта вакцинных препаратов, а также 10 продуктов метаболизма микробов (продигиозан, эндотоксин, анатоксин, протектан и триантигенный комплекс E.coli, радиотоксин E.coli, эндотоксин и белково-полисахаридный комплекс сальмонелл, экстракт микобактерий и сибиреязвенный экзотоксин).

В качестве веществ растительного происхождения использовали 4 природных фитоадаптогена: Эра-Н,

Эраконд, Вита-Форце и фитогемагглютинин (ФГА).

Для определения спонтанной и индуцированной продукции цитокинов 0,6 мл свежей гепаринизированной крови (20 МЕ/мл) смешивали с 2,4 мл среды 199 с добавлением 2 мМ глутамина, 80 мкг/мл гентамицина. В планшет для культивирования клеток в лунки каждого ряда вносили по 100 мкл среды 199, от 1 до 10 мкг/мл потенциальных индукторов цитокинов, содержимое лунок тщательно перемешивали и инкубировали при 37^{0}С в течение 24 ч, после чего супернатанты исследовали на наличие цитокинов иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест-систем ТОО «Протеиновый контур» (С.-Петербург).

Для изучения цитокининдуцирующей активности испытуемых веществ зоогенные, микробные антигены и фитогенные агенты однократно, подкожно вводили кроликам и через 1 сут после иммунизации брали пробы крови для определения в сыворотке содержания цитокинов в ИФА.

С целью изучения влияния испытуемых индукторов цитокинов на апоптозную гибель клеток суспензию лимфоцитов в концентрации 4106 кл/мл разливали по 1 мл во флаконы со средой 199, инкубировали 24 ч при температуре 37^{0}С и облучали в дозе 5,0 Гр, повторно инкубировали 24 ч в присутствии изучаемых индукторов цитокинов и без них. По истечении указанной экспозиции из осадка лимфоцитов готовили мазки, фиксировали их в 70%-ной метанол-уксусной кислоте, окрашивали и проводили цитометрию, определяя количество окрашенных (нежизнеспособных) и неокрашенных (жизнеспособных) клеток.

Радиозащитную эффективность испытуемых препаратов изучали на 3 видах лабораторных (белые крысы, белые мыши, кролики) животных, которые были разделены на 7 групп и подвергнуты гамма-облучению в дозах 7,7 Гр (белые мыши), 9,0 Гр (белые крысы) и 11,0 Гр (кролики). Через 24 ч после облучения животным 1-й группы однократно подкожно вводили гемостимулированную сыворотку, 2-й группы – иммунную сыворотку, полученную на 15 сут после вакцинации радиозащитным микробным полиантигеном; 3-й группы – 4%-ный раствор фитопрепарата «Эра-Н», 4-й группы – 4% экстракт «Вита-Форце», 5-й группы – нормальную лошадиную сыворотку крови (контроль препаратов), животные 6-й группы служили контролем облучения, 7-й группы – служили биологическим контролем. Дозы вводимых препаратов для мышей составляла 0,1 мл, для белых крыс – 0,25, для кроликов – 1,0 мл.

Опыты по изучению возможности усиления радиозащитной эффективности сывороточных препаратов при сочетанном применении их с фитопрепаратами проводили на 54 белых мышах, разделенных на 18 групп по 3 особи в каждой и на 16 овцах, разделенных на 4 группы по 4 животных в каждой. Через 24 ч после облучения в дозе 7,7 Гр (мыши) и 6,0 Гр (овцы) животным однократно подкожно вводили композиции на основе гемостимулированной сыворотки и фитопрепаратов «Эра-Н» и «Вита-Форце».

Для изучения антиоксидантной защиты организма в условиях лучевого воздействия опыты проводили на 63 белых крысах, разделенных на 7 групп по 9 животных в каждой.

Результаты исследований. Установлено, что из испытанных 48 потенциальных индукторов цитокинов, наиболее активными усилителями оказались восемь препаратов зоогенного происхождения (экстракт облученного костного мозга, периферическая кровь, облученная in vitro в дозе 250 Гр, экстракты облученных селезенки, тимуса, лимфатических узлов, лимфы, лимфоцитов и тонкого отдела кишечника), три препарата микробного (соматический антиген, эндотоксин и триантигенный радиозащитный комплекс E.coli) и два – фитогенного (Эра-Н и Вита-Форце) происхождения. Содержание интерлейкина-1 при этом для облученных зоогенных индукторов колебалось в пределах от 1389±198 нг/мл (экстракт из тонкого отдела кишечника) до 1670±279 нг/мл (экстракт костного мозга). По концентрации колониестимулирующего фактора (КСФ), использованные индукторы занимали идентичный убывающий ряд по активности, лишь с той разницей, что содержание данного цитокина было в 18-20 раз меньше, чем интерлейкина-1.

Результаты исследований показали, что в условиях in vivo и in vitro наиболее активными усилителями цитокинов (ИЛ-1 и КСФ) оказались облученная in vitro (250 Гр) периферическая кровь, экстракты костного мозга, тимуса, селезенки, лимфатических узлов, триантиген E.coli, Вита-Форце и Эра-Н, в антисыворотках к которым обнаружены наибольшие концентрации интерлейкина-1 (ИЛ-1) и колониестимулирующего фактора (КСФ).

Результаты световой и флуоресцентной цитометрии показали, что внесение в инкубационную среду испытуемых средств оказывало антиапоптогенный (радиозащитный) эффект, предохраняя от радиационной гибели до 63,3 % облученных в летальной дозе лимфоцитов. Степень радиозащиты зависела от вида использованного средства и их цитокининдуцирующей способности, т.е. установлена корреляционная зависимость между выживаемостью летально облученных лимфоцитов и способности индукторов синтезировать цитокины in vitro. Наиболее высокий процент выживаемости облученных лимфоцитов отмечен при внесении в инкубационные среды гемостимулированной сыворотки (63,3±4,0%), антисыворотки против радиозащитного триантигена E.coli – (65,7±17,3 %), Эра-Н (61,3±13,5%) и Вита-Форце (62,9±1,7%). При внесении в культивируемые лимфоциты среды остальных индукторов цитокинов и цитокинстимулированных сывороток выживаемость лимфоцитов составляла от 15,1±2,3 до 55,5±5,7%.

Установлено, что наиболее высокая выживаемость для всех трех видов животных отмечена при применении гемостимулированной сыворотки и ан-

тисыворотки против радиозащитного полиантигена E.coli – 70 и 60% соответственно. Достаточно высокий радиозащитный эффект (50-55%) был достигнут при изолированном применении фитопрепаратов «Эра-Н» и «Вита-Форце».

У всех облученных животных характерным нарушением системы крови была панцитопения, выражавшаяся в снижении уровня циркулирующих лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов и эритроцитов, то динамика этих показателей у животных, получавших лечебные препараты, практически по всем срокам была выше, чем у облученных животных.

Опыты на белых мышах показали, что на пике депрессии гемопоэза (7-9 сут), в группах, получавших гемостимулированную и иммунную (против триантигена E.coli) сыворотку, клеточность костного мозга, селезенки и тимуса была выше, чем в группе контроле облучения.

Снижение летального эффекта при использовании лечебных препаратов сопровождалось одновременным снижением эффекта постлучевой токсемии. Определение хиноидных радиотоксинов в РНГА, показало, что под действием лечебных препаратов происходило значительное снижение их концентрации, восстановление скорости гемолиза эритроцитов.

Предотвращение снижения количество макрофагов (моноцитов) и микрофагов (нейтрофилов), а также иммунных эффекторов (Т- и В-лимфоциты) на фоне применения лечебных средств отражалось и на резистентности животных к аутоинфекции. Так, динамика аутомикрофлоры, определяемая в пробах из тонкого отдела кишечника облученных и леченых животных, была зеркальным отражением динамики цитопении (макрофагов, микрофагов, Т-киллеров): явный микробный рост в чашках с пробами от облученных животных и существенное (более чем в 2 раза) снижение количества условно-патогенной микрофлоры.

Результаты следующей серии опытов по изучению изменения уровня геморегуляторных цитокинов (ИЛ-1, КСФ) у облученных животных показали, что уже через 3 сут после радиационного воздействия последовало резкое (в 3,6 и 4,1 раза) снижение содержания обоих цитокинов, которое в дальнейшем прогрессировало и к периоду разгара ОЛБ они в тестируемой системе не обнаруживались. Однократное подкожное введение гемостимулированной сыворотки предотвращало снижение содержания цитокинов – концентрация их у леченых животных была в 10 и более раз выше, чем у облученных.

Было установлено, что сочетанное применение гемостимулированной сыворотки и фитопрепаратов «Эра-Н» и «Вита-Форце» обеспечивало сохранение стабильного уровня активности фермента во все сроки исследования, оставаясь практически на уровне биологического контроля и уступая последнему не более чем в 1,14-1,16 раза.

При введении животным композиции «сыворотка + «Эра-Н» в соотношениях компонентов 0,6+0,4 и композиции «сыворотка + «Вита-Форце» в соотношении компонентов 0,4+0,6 был достигнут достаточно высокий радиозащитный эффект – 66,6%.

Лучевая болезнь облученных овец протекала в крайне тяжелой форме. При этом период первичных реакций у некоторых животных проявлялся с момента облучения и продолжался до 2-3 сут, сопровождаясь кратковременным возбуждением или угнетением. Со стороны сердечно-сосудистой системы отмечали резкое ослабление ее деятельности и тонуса сосудов. В первые двое суток после облучения наблюдали кратковременное повышение температуры тела на 0,5-0,7^{0}С. У части животных отмечали усиление перистальтики кишечника, разжижение каловых масс, снижение аппетита. В дальнейшем отмеченные явления прогрессировали, животные были вялыми, малоподвижными, аппетит понижен, на 7-8-й день у животных начиналась эпиляция в области спины и шеи, регистрировали уменьшение массы тела. В дальнейшем (через 10-15 сут после облучения) отмеченные признаки лучевой болезни прогрессировали. У некоторых животных наблюдалась полная адинамия и отказ от корма, у большинства овец наблюдали полную эпиляцию за исключением лицевой части и конечностей, множественные кровоизлияния, болезненность. Видимые слизистые оболочки были гиперемированные и синюшные, отмечались разлитые множественные кровоизлияния, катаральный ринит, язвенно-некротический стоматит. За 1-3 дня до смерти животные полностью отказывались от корма, наблюдали понос с примесью крови и слизи в кале. Со стороны органов дыхания отмечали одышку, истечения из носа, хрипы, бронхопневмонию. Пульс у животных был резко учащен, слабого наполнения. На фоне указанных патологических симптомов животные погибали от острой лучевой болезни на 16-18 дни после облучения.

У овец, подвергнутых лечению гемостимулированной сывороткой и при сочетании её с препаратом «Эра-Н», в отличие от облученных, течение острой лучевой болезни носило более легкий характер, что нашло отражение и на выживаемости облученных и леченных препаратами животных.

Результаты гематологических исследований показали, что лучевая болезнь у нелеченых овец сопровождалась значительными нарушениями гемопоэза, которые характеризовались кратковременной (в течение первых 3 сут) гипергемоглобинемией, сменяющейся в дальнейшем стойкой гипогемоглобинемией, эритропенией и лейкопенией. У леченых овец лучевая болезнь протекала в более легкой форме – указанные изменения были менее выраженными.

При изучении лейкоцитарного профиля у леченых овец после облучения существенно уменьшалась выраженность лейкопении, наблюдалось более быстрое восстановление числа лейкоцитов в крови. Указанные положительные сдвиги были в равной мере характерны как для нейтрофилов, так и для лимфоцитов.

Результаты проведенных опытов показали, что гемостимулированная сыворотка, как при изолированном, так и в сочетанном применении с фитопрепаратом «Эра-Н» способствовала более интенсивному восстановлению пула миелокариоцитов в костном мозге облученных животных, причем отмечались более высокие значения (на 10-14 сут после облучения) как гранулоцитов, так и лимфоцитов. Нарушения костномозгового кроветворения у облученных животных, которые сопровождались более чем 2,1-2,4-кратным снижением лейкоэритробластического и костномозгового индексов, при применении испытанных средств уже к 10-14 сут претерпевали существенные изменения в сторону увеличения указанных показателей, которые уступали таковым контрольных (необлученных) животных в 1,1-1,2 раза. Уменьшение указанных индексов под воздействием ионизирующего излучения свидетельствует о гиперплазии эритроцитарного и гиперпластическом поражении белого ростков, характерной для пострадиационной панцитопении. Использованные лечебные средства оказывают стимулирующее воздействие на темпы восстановления гемопоэза.

Гемостимулирующий эффект антисыворотки к аутокрови и фитоадаптогена у овец сопровождался значительными изменениями системы иммунитета, затрагивая как клеточные, так и гуморальные факторы иммунного реагирования.

Заключение. Однократное подкожное введение облученной in vitro в дозе 250 Гр аутокрови оказывает гемостимулирующее действие на иммунную систему, усиливая синтез гемо- и иммунорегуляторных цитокинов (в 2,5-3,0 раза по сравнению с необлученной кровью) и антирадиотоксических антител в титрах РНГА – в 4,5-6,0 log2 на 3-8-е сут после введения.

Подкожное применение гемостимулированной сыворотки в дозе 40-50 мг/кг через 1-10 сут после летального облучения обеспечивает 70-80%-ную защиту лабораторных и сельскохозяйственных животных от радиационной гибели.

Сыворотка, полученная от иммунизированных радиозащитным микробным полиантигеном на 14-20 сут после вакцинации, по своим лечебным свойствам не уступает гемостимулированной сыворотке.

Сочетанное применение гемостимулированной или иммунной сывороток с фитопрепаратом «Эра-Н» в соотношении 2:1 обеспечивает снижение дозы сыворотки при сохранении их лечебной эффективности.

Радиозащитный (лечебный) эффект гемостимулированной сыворотки и фитопрепарата достигается за счет снижения титров радиотоксинов (в 2,5 раза по сравнению с облученным контролем), повышения активности фермента антирадикальной защиты – каталазы (в 1,9 раза), задержки проявления панцитопении (в 1,4-6,7 раза) и миелосупрессии (сохранности пула миелокариоцитов в 3,11 раза, тимоцитов в 2,5 раза и спленоцитов в 3,6 раза по сравнению с контролем облучения), усиления антимикробной активности макрофагов (в 3,1 раза).

Литература

1. Будагов, Р.С. Влияние средств микробного происхождения на уровень цитокинов в сыворотке крови, гематологический статус и выживаемость мышей при комбинированных радиационных поражениях / Р.С.Будагов // Радиационная биология. Радиоэкология – 2001. – Т. 41, № 1. – С. 38-42.

2. Васин, М.В. Противолучевые лекарственные средства / М.В.Васин. – М, 2010. – 180 с.

3. Гончаренко, Е.Н. Метод определения перекисного окисления липидов / Е.Н.Гончаренко, А.М.Латинова // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60-61.

4. Жербин, Е.А. Радиационная гематология / Е.А.Жербин, А.Б.Чухловин. – М.: Медицина, 1989. – 176 с.

5. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / И.П.Кондрахин, А.В.Архипов; под. ред. И.П.Кондрахина. – М.: Колос, 2004. – 520 с.

6. К проблеме поиска средств защиты при поражении животных ионизирующим излучением / Г.В.Конюхов, Р.Д.Гареев, Р.М.Асланов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2012. – № 6. – С. 20-23.

7. Новые подходы к терапии острой лучевой болезни / Г.В.Конюхов, Н.Б.Тарасова, Р.Н.Низамов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2005. – № 1. – С. 40-43.

8. Применение лечебно-профилактического иммуноглобулина для коррекции иммунодефицитов животных / Г.В.Конюхов, Р.Н.Низамов, Н.Б.Тарасова, К.Х.Папуниди // Ветеринарный врач. – 2007. – № 4. – С. 53-56.

9. Изучение радиопротекторных свойств антигенов микробного происхождения / Р.Н.Низамов, Г.В.Конюхов, А.С.Титов [и др.] // Материалы IV съезда по радиационным исследованиям. Т. 2. – М., 2001. – С. 457.

10. Сургучева, Л.И. Эффективность биологически активных препаратов при гамма-облучении / Л.И.Сургучева, В.А.Бударков // Проблемы противорадиационной защиты: материалы конф. – М., 1998. – С. 31-32.

11. Использование лечебно-профилактического иммуноглобулина для коррекции клинико-гематологических сдвигов, вызванных ионизирующим излучением / Н.Б.Тарасова, Г.В.Конюхов, Р.Н.Низамов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2017. – № 1. – С. 16-20.

SEARCHING RADIOPROTECTIVE MEANS FROM THE CLASS OF INDUCERS OF CYTOKINES

Tarasova N.B. – Doctor of Biological Sciences; Vagin K.N. – Candidate of Biological Sciences; Konyukhov G.V. – Doctor of Biological Sciences, professor; Nizamov R.N. – Doctor of Veterinary Sciences, professor.

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnivi@mail.ru).

The possibility of using means from the class of inducers of cytokines of zoogenic, microbial and phytogenic origin to treat animals at acute radiation sickness has been theoretically proved and practically confirmed for the first time. For initial evaluating the cytokine induced activity, an optimal test-system providing an immediate determination of the immunohemopoiesis mediators content in conditions ex vivo has been selected. The radioprotective effects of inducers of cytokines and cytokine stimulated sera has been studied for the first time. The new data of radioprotective action of the hemostimulated serum are obtained. The drugs "Era-N" and "Vita-Force"are found to possibly increase the radioprotective activity of hemostimulated serum and reduce its curative doses. As a result of experiments on laboratory and farm animals, the hemostimulated serum and the drug "Era-N" are found to have high therapeutic effects providing 60-80% protection in experimental acute radiation sickness.

KEYWORDS: radiation sickness, prevention, treatment, cytokine inducers, mechanism of action.

References

1. Budagov, R.S. Vliyanie sredstv mikrobnogo proiskhozhdeniya na uroven tsitokinov v syvorotke krovi, gematologicheskiy status I vyzhivaemost myshey pri kombinirovannykh radiatsionnykh porazheniyakh [The effect of using means of microbial origin on the level of cytokines in blood serum, hematological status, and mice survival rate in combined radiation injuries] / R.S.Budagov // Radiatsionnaya biologiya. Radioecologiya. – 2001. – Vol. 41, № 1. – P. 38-42.

2. Vasin, M.V. Protivoluchevye lekarstvennye sredstva [Radioprotective drugs] / M.V.Vasin. – M., 2010. – 180 p.

3. Goncharenko, E.N. Metod opredeleniya perekisnogo okisleniya lipidov [Method for determination of lipid peroxidation] / E.N.Goncharenko, A.M.Latinova // Laboratornoe delo. – 1985. – № 1. – P. 60-61.

4. Zherbin, E.A. Radiatsionnaya gematologiya [Radiation Hematology] / E.A.Zherbin, A.B.Chukhlovin. – M.: Meditsina, 1989. – 176 p.

5. Kondrakhin, I.P. Metody veterinarnoy klinicheskoy laboratornoy diagnostiki: spravochnik [Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics: reference book] / I.P.Kondrakhin, V.A.Arkhipov; edited by I.P.Kondrakhin. – M.: Kolos, 2004. – 520 p.

6. K probleme poiska sredstv zaschity pri porazhenii zhivotnykh ioniziruyuschim izlucheniem [About the problem of searching protective remedies from animals ionizing radiation injury] / G.V.Konyukhov, R.D.Gareev, R.M.Aslanov [et al.] // Veterinarny vrach. – 2012. – № 6. – P. 20-23.

7. Novye podkhody k terapii ostroy luchevoy bolezni [New approaches to therapy of acute radiation disease] / G.V.Konyukhov, N.B.Tarasova, R.N.Nizams [et al.] // Veterinarny vrach. – 2005. – № 1. – P. 40-43.

8. Primenenie lechebno-profilakticheskogo immunoglobulina dlya korrekcii immunodefitsitov zhivotnykh [The use of therapeutic immunoglobulin for the correction of immunodeficiency in animals] / G.V.Konyukhov, R.N.Nizamov, N.B.Tarasova, K.H.Popunidi // Veterinarny vrach. – 2007. – № 4. – P. 53-56.

9. Izuchenie radioprotektornykh svoystv antigenov mikrobnogo proiskhozhdeniya [Studying radioprotective properties of antigens of microbial origin] / R.N.Nizamov, G.V.Konyukhov, A.S.Titov [et al.] // Materialy. IV kongressa po radiatsionnym issledovaniyam. Tom 2 [Procceedings from the IV Congress on radiation research. Vol. 2]. – M., 2001. – P. 457.

10. Surgucheva, L.I. Effektivnost biologicheski aktivnykh preparatov pri gamma-obluchenii [The efficacy of biologically active preparations at gamma-irradiation] / L.I.Surgucheva, V.A.Budakov // Problemy protivoradiatsionnoy zaschity: materialy konf. [The problems of radiation protection: proceedings from the conf.]. – M., 1998. – P. 31-32.

11. Ispolzovanie lechebno-profilakticheskogo immunoglobulina dlya korrekcii kliniko-biologicheskikh sdvigov, vyzvannykh ioniziruyuschim izlucheniem [The use of therapeutic and prophylactic immunoglobulin to correct the clinical and hematological changes caused by ionizing radiation] / N.B.Tarasova, G.V.Konyukhov, R.N.Nizamov [et al.] // Veterinarny vrach. – 2017. – № 1. – P. 16-20.

УДК 619:616.98-07/.091: 636.2

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ АНАЭРОБНОЙ ЭНТЕРОТОКСЕМИИ ЖИВОТНЫХ

А.Г.Спиридонов – кандидат биологических наук, ст.н.с.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г.Казань (420075, Казань, Научный городок-2; тел. +7(843) 2-39-53-37, e-mail: vnivi@mail.ru).

Представлены материалы исследований по разработке иммуноферментной тест-системы для определения специфических антител к бактериям Cl.perfringens. В качестве производственных использовали штаммы Cl.perfringens: №28 (тип А), LD-1 (тип В), №392 (тип С), №213 (тип Д). Для получения антигена суточную суспензию бактерий Cl. perfringens, содержащую 20 млрд. микробных клеток в 1 см^3 (по 5 млрд. микробных клеток каждого серотипа), озвучивали на ультразвуковом дезинтеграторе с частотой 20 мГц в течение 15 мин при 4^{0}С, затем эндотоксин осаждали сульфатом аммония и очищали дифференцированным растворением преципитата в 0,02 М фосфатном буфере с последующим диализом против водопроводной воды. Контрольную положительную сыворотку с тирами специфических антител не ниже 1:12800 к антигенам бактерий Cl.perfringens получили путем гипериммунизации крупного рогатого скота корпускулярными антигенами и анатоксинами. Проводили стандартизацию основных условий проведения реакции ИФА. Определение концентрации сорбции антигена осуществляли при параллельном тестировании различных разведений конъюгата. Наиболее приемлемый показатель титра сывороток крови животных выявили при разведении конъюгата 1:2500 и концентрации сорбированного антигена 5-8 мкг/см^3. Производственное испытание иммуноферментной тест-системы осуществляли в скотоводческих хозяйствах трех регионов РФ, неблагополучных по анаэробной энтеротоксемии телят. Всего исследовали 677 проб сывороток крови, в том числе 240 от больных анаэробной энтеротоксемией животных, 389 проб от вакцинированных против анаэробной энтеротоксемии и 48 от клинически здоровых животных из стационарно благополучного хозяйства. Установили, метод ИФА позволяет выявлять специфические антитела к бактериям Cl.perfringens у 97,7% вакцинированных и 94,6% больных анаэробной энтеротоксемией животных. Положительные результаты лабораторного и производственного испытания тест-системы позволяют рекомендовать ее к внедрению в ветеринарную практику РФ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: анаэробная энтеротоксемия, *Cl.perfringens*, телята, диагностика, иммуноферментный анализ.

В структуре заболеваемости сельскохозяйственных животных наибольшее экономическое значение имеют желудочно-кишечные болезни молодняка, в том числе анаэробная энтеротоксемия, возбудителями которой являются бактерии *Clostridium perfringens (Cl.perfringens)* [2, 6, 8]. На сегодняшний день диагноз на инфекционную энтеротоксемию животных ставят на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов лабораторного исследования патологического материала. Недостатками лабораторного метода являются трудоемкость и длительность исследований, требующего для постановки диагноза до 8 рабочих дней, а также высокая его себестоимость (дороговизна питательных сред, реактивов, затраты на приобретение и содержание лабораторных животных) [1, 5, 9]. Совершенно очевидно, что современная диагностическая служба должна опираться на такие высокоспецифичные и чувствительные методы диагностики, которые позволяли бы получить воспроизводимые, достоверные результаты в пределах метода, и должны быть признаны пригодными для проведения широкомасштабных исследований в условиях ветеринарных лабораторий. Этими требованиями в значительной степени отвечает твердофазный непрямой вариант иммуноферментного анализа [2].

В ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» разработана ассоциированная вакцина против анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят [4, 7]. Для контроля ее качества требуется разработать метод определения антигенной активности вакцины путем установления титров специфических антител в сыворотке крови вакцинированных животных к бактериям *Cl.perfringens*.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилась разработка ИФА тест-системы для определения специфических антител к бактериям *Cl.perfringens* в сыворотке крови животных.

Материалы и методы. При изготовлении диагностикума в качестве производственных использовали штаммы *Cl.perfringens*: №28 (тип А), LD-1 (тип В), №392 (тип С), №213 (тип Д), полученные из ФГБУ «ВГНКИ».

При получении антигена для сенсибилизации полистироловых планшет суточную суспензию бактерий Cl.perfringens, содержащую 20 млрд. микробных клеток в 1 см^3 (по 5 млрд. микробных клеток каждого серотипа), озвучивали на ультразвуковом дезинтеграторе с частотой 20 мГц в течение 15 мин при 4^{0}С до полного разрушения клеток. Затем эндотоксин осаждали сульфатом аммония при 40% насыщении, pH 7,0 и очищали дифференцированным растворением преципитата в

0,02 М фосфатном буфере pH 6,8 с последующим диализом против водопроводной воды.

Контрольную положительную сыворотку к антигену бактерий *Cl.perfringens* получали путем гипериммунизации клинически здорового молодняка крупного рогатого скота 6-7-месячного возраста. Для этой цели применяли корпускулярные антигены и анатоксины производственных штаммов бактерий *Cl.perfringens*серотипов А, В, С и Д. Корпускулярный антиген представлял собой суспензию инактивированных формалином бактерии *Cl.perfringens*, содержащую по 2,5 млрд. микробных клеток каждого серотипа в 1 см^3. Для получения анатоксина бактерии *Cl.perfringens* выращивали в жидкой питательной среде в течение 7 ч, потом токсин инактивировали формалином при температуре 37^{0}С в течение 10 сут и очищали путем центрифугирования и фильтрации культуральной жидкости через бактериальные фильтры.

Гипериммунизацию животных проводили 4-х кратно с интервалом 14 дней. При этом животным вводили одновременно корпускулярный антиген подкожно и анатоксин – внутримышечно в нарастающих дозах. Для предупреждения анафилактического шока, начиная со второго цикла иммунизации, животным вводили по 2 см^3 антигена подкожно за 30-40 мин до введения основной дозы антигена. Через 20 дней после последнего введения антигена у животных из яремной вены брали пробу крови для определения титров специфических антител. Производственное взятие крови производили при наличии антител в сыворотке крови быков-продуцентов к *Cl.perfringens* в титрах не ниже 1:12800 в ИФА.

Контрольную отрицательную сыворотку, не содержащую антител к *Cl.perfringens*, получали от молодняка крупного рогатого скота 6-7-месячного возраста из хозяйства, благополучного по анаэробной энтеротоксемии.

Иммуноферментный анализ проводили в 96-луночных плоскодонных планшетах для иммунологических реакций по общепринятой методике. Результаты реакции учитывали по показаниям оптической плотности при длине волны 490 нм.

Результаты исследований. Вначале проводили стандартизацию основных условий постановки реакции ИФА. При определении оптимальной концентрации антигена для адсорбции на полистироловый 96-луночный планшет оценивали интенсивность иммуноферментной реакции при концентрациях антигена в растворе: 2,0; 2,5; 5,0; 8,0; 10 мкг/см^3. В качестве тестируемых образцов использовали «положительные» и «отрицательные» контрольные образцы сывороток крови животных. Проводили подбор концентрации сорбции антигена при параллельном тестировании различных разведений конъюгата. Наиболее приемлемый показатель титра сывороток крови животных выявили при разведении конъюгата 1:2500 и концентрации сорбированного антигена 5-8 мкг/см^3. Таким образом, данное разведение конъюгата, при исходной концентрации сорбированного антигена 5-8 мкг/см^3, сочли оптимальным и использовали в дальнейшей работе.

Проводили определение оптимального времени экспозиции исследуемых сывороток, для установления которого в 3-х повторностях оценивали интенсивность реакции в зависимости от времени инкубирования специфических и отрицательных сывороток в серийных разведениях при температуре 37^{0}С. При этом конъюгат использовали в рабочем разведении 1:2500. Установили, что показатели оптической плотности исследуемых сывороток в диапазоне от 15 до 60 мин возрастали, а далее стабилизировались. Наблюдаемый эффект зафиксировали для сывороток, обладающих различным уровнем специфической активности. На этом основании 60-минутную экспозицию сывороток считали достаточной для достижения максимальной и стабильной реакции.

Для учета и интерпретации результатов, полученных тест-системой ИФА, определяли позитивно-негативный порог тест-системы, который находился в диапазоне <15% - >22%. В дальнейшем все пробы, значение Ксв которых было меньше позитивно-негативного порога, считали отрицательными, а пробы со значением Ксв равным или превышающим этот показатель – положительными.

Провели межлабораторное комиссионное испытание компонентов тест-системы на специфичность, чувствительность и воспроизводимость результатов иммуноферментного анализа. В опытах использовали контрольную положительную сыворотку к бактериям *Cl.perfringens*, контрольную отрицательную сыворотку по отношению к бактериям *Cl.perfringens*, сыворотку крови от вакцинированных против анаэробной энтеротоксемии и больных анаэробной энтеротоксемией телят, а также гетерогенные гипериммунные сыворотки (сальмонеллезную, эшерихиозную). При этом установили, что все компоненты набора активны и специфичны в ИФА. Специфический антиген не реагирует с гетерогенными гипериммунными сыворотками (сальмонеллезной, эшерихиозной), тогда как с гомологичными сыворотками (гипериммунной сывороткой и сыворотками крови, полученными от вакцинированных против анаэробной энтеротоксемии и явно больных животных) дает положительную реакцию в высоких титрах – 1:3200 – 1:12800.

Производственное испытание иммуноферментной тест-системы проводили в скотоводческих хозяйствах 3 регионов РФ, неблагополучных по анаэробной энтеротоксемии телят. Всего исследовали 677 проб сывороток крови, в том числе 240 – от больных анаэробной энтеротоксемией животных, 389 проб от вакцинированных против анаэробной энтеротоксемии и 48 – от клинически здоровых животных из стационарно благополучного хозяйства. Результаты серологического исследования представлены в таблице.

Таблица

Результаты исследования сывороток крови крупного рогатого скота на наличие специфических антител к бактериям *Cl.perfringens*

Наименование региона	Количество проб	Состояние животных	Реагируют положительно в ИФА к *Cl.perfringens*	
			количество проб	
			всего	%
Республика Татарстан	187	больные, не вакцинированные	178	95,2
	234	вакцинированные	228	97,4
Самарская область	35	больные, не вакцинированные	32	91,4
	126	вакцинированные	124	98,4
Нижегородская область	18	больные, не вакцинированные	17	94,4
	29	вакцинированые	28	96,5
Всего	240	больные, не вакцинированные	227	94,6
	389	вакцинированые	380	97,7
Республика Татарстан	48	клинически здоровые, не вакцинированные из благополучного хозяйства	-	-

Из таблицы видно, что метод ИФА позволяет выявлять специфические антитела к бактериям *Cl.perfringens* у 97,7% здоровых вакцинированных и у 94,6% больных анаэробной энтеротоксемией животных.

Заключение. Разработана и испытана в производственных условиях иммуноферментная тест-система для диагностики анаэробной энтеротоксемии животных и иммунологического мониторинга вакцинированного поголовья, положительные результаты которых позволяют рекомендовать ее к внедрению в ветеринарную практику РФ.

Литература

1. Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции / Б.И.Антонов, В.В.Борисова, П.М.Волкова [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1986. – 352 с.

2. Гаффаров, Х.З. Иммуноферментный анализ в диагностике реовирусной инфекции крупного рогатого скота / Х.З.Гаффаров, М.А.Ефимова, О.В.Москвичев // Ветеринарный врач. – 2011. – № 5. – С. 14-16.

3. Куриленко, А.Н. Бактериальные и вирусные болезни молодняка с.-х. животных / А.Н.Куриленко, В.Л.Крупальник, Н.В.Пименов. – М.: КолосС, 2006. – 296 с.

4. Патент №2428202 Рос. Федерация, МПК A61P 031/04, A61K 039/116, A61K 039/108, A61K 039/08. Вакцина ассоциированная против анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят / Г.Н.Спиридонов, А.А.Иванов, Х.Н.Макаев, М.Т.Хурамшина, А.Г.Спиридонов, Э.Р.Галиуллина; заявитель и патентообладатель ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». – № 2010124555/15; опубл. 10.09.2011, Бюл. №25.

5. Салимов, В.А. Некоторые особенности патологоанатомической диагностики анаэробной энтеротоксемии телят, вызванной Cl.perfringens типа А / В.А.Салимов, Н.П.Салимова // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: мат. науч.-практ. конф. – Воронеж, 2002. – С. 527-528.

6. Инфекционная энтеротоксемия молодняка сельскохозяйственных животных в регионе Среднего Поволжья и Предуралья. / Г.Н.Спиридонов, А.Ф.Махмутов, М.Т.Хурамшина, А.Г.Спиридонов // Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири: мат. науч.-практ. конф. – Краснообск, 2010. – С. 134-139.

7. Современные подходы к специфической профилактике и лечению анаэробной энтеротоксемии и эшерихиозной диареи телят / А.Г.Спиридонов, Д.Д.Насертдинов, Х.Н.Макаев, Г.Н.Спиридонов // Ветеринарный врач. – 2015. – № 6. – С. 12-15.

8. Novel insights into the epidemiology of Clostridium perfringens type A food poisoning / M.Lindstrom, A.Heikinheimo, P.Lahti, H.Korkeala // Food Microbiol. – 2011. – № 28 – P. 192-198.

9. Enteritis associated with Clostridium perfringens type A in 9-month-old calves / B. Savic [et al.] // Can. Vet. J. – 2012. – № 53 – P. 174-176.

ENZYME LINKED IMMUNOASSAY (ELISA) METHOD FOR DIAGNOSTICS OF ANIMALS ANAEROBIC ENTEROTOXEMIA

Spiridonov A.G. – Candidate of Biological Sciences.

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnivi@mail.ru).

The research data on developing ELISA test-system to detect specific antibodies against bacteria Cl.Perfringens are presented. The strains were used as producton: № 28 (type A), LD-1 (type B), № 392 (type C), № 213 (type D). To obtain antigen the daily suspension of Cl.Perfringens containing 20 milliards of microbial cells in 1 cm3 (5 milliards of microbial cells in each serotype), was sounded on a ultrasound disintegrator of 20 mHertz for 15 minutes at 40^{0}C, then Endotoxin was precipitated by ammonium sulfate and purified by differential solving of precipitation in 0,02 M phosphate buffer followed by dialysis against tap water. The positive test serum with antibody titers not below than 1:12800 against Cl. Perfringens antigens was obtained by hyperimmunization of cattle using corpuscular antigens and anatoxins. The standardization of the basic conditions for conducting ELISA reaction was carried out. The antigen sorbtion concentration was detected while simultaneous testing of different conjugant dilutions. The most acceptable animals blood serum titer index was detected at conjugate dilution 1:2500 and in sorbet antigen concentration of 5-8 mkg/cm3. The production testing of ELISA test-system was carried out in unwell for calves anaerobic enterotoxemia cattle breeding farms of the 3 regions of the Russian Federation. Altogether 677 blood serum samples were examined, including 240 – from anaerobic enterotoxemia animals, 389 samples - from vaccinated against anaerobic enterotoxemia and 48 – from clinically health animals in stationary well-being farm. The ELISA method was found to make it possible to detect specific antibodies against Cl.Perfringens bacteria in 97.7% vaccinated and 94,6 % anaerobic enterotoxemia animals. The positive results of laboratory and production test of the test-system enable to recommend it to be implemented it into veterinary practice of the Russian Federation.

KEYWORDS: anaerobic enterotoxemia, Cl. Perfringens, calves, diagnosis, Enzyme linked immunoassay (ELISA) analysis.

References

1. Laboratornye issledovaniya v veterinarii. Bacterialnye infektsii [Laboratory research in veterinary medicine. Bacterial infections] / B.I.Antonov,V.V.Borisova,P.M.Volkova [et al.]. – M.: Agropromizdat, 1986. – 352 p.

2. Gaffarov, Kh.Z. Immunofermentny analiz v diagnostike reovirusnoy infektsii krupnogo rogatogo skota [Using ELISA in cattle reovirus infection diagnostics] / Kh.Z.Gaffarov M.A.Efimova, O.V.Moskvichev // Veterinarny vrach. – 2011. – № 5. – P. 14-16.

3. Kurilenko, A.N. Bacterialnye I virusnye bolezni molodnyaka selskokhozyaystvennykh zhivotnykh [Bacterial and viral diseases of young farm animals] / A.N.Kurilenko, V.L.Krupalnik, N.V.Pimenov. – M.: KolosS, 2006. – 296 p.

4. Patent Ros. Federatsiya, Патент РФ на изобретение №2428202. МРК A61P 031/04, A61K 039/116, A61K 039/108, A61K 039/08. Vaktsina assotsiirovannaya protiv anaerobnoy enterotoksemii I esherikhioznoy diarei telyat [Associated vaccine against anaerobic enterotoxemia and colibacillus diarrhea] / G.N. Spiridonov, A.A.Ivanov, Kh.N.Makaev, M.T. Khuramshina, A.G. Spiridonov, E.R.Galiullina; applicant and patent possessor FGBU ФГБУ «FCTRB-VNIVI». – № 2010124555/15; published. 10.09.2011, Бюл. № 25.

5. Salimov, V.A. Nekotorye osobennosti patologoanatomicheskoy diagnostiki anaerobnoy enterotoksemii telyat, vyzvannoy Cl. perfringens tipa A [Some peculiarities of postmortem diagnosis of anaerobic enterotoxemia caused by Cl. perfringens Cl. perfringens type A / V.A.Salimov, N.P.Salimova. // Aktualnye problemy bolezney molodnyaka v sovremennykh usloviyakh: materialy nauch.-prakt. konf. [Actual problems of young farm animals in modern conditions: Proceedings from sci.-pract. conf.]. – Voronezh, 2002. – P. 527-528.

6. Infektsionnaya enterotoksemiya molodnyaka selskokhozyaystvennykh zhivotnykh v regione Srednego Povolzhya I Preduralya [Infectious enterotoxemia of young farm animals in the regions of Middle Volga and Middle Urals] / G.N.Spiridonov A.F.Makhmutov, M.T.Khuramshina, A.G.Spiridonov // Aktualnye voprosy veterinarnoy meditsiny Sibiri: materialy nauch.-prakt. konf. [Actual problems of Siberian veterinaty medicine: Proceedings from sci.-pract. conf.]. – Krasnoobsk, 2010. – P. 134–139.

7. Sovremennye podkhody k spetsificheskoy profilaktike I lecheniyu anaerobnoy enterotoksemii I esherikhioznoy diarei telyat [Modern approaches to specific prevention and treatment of calves anaerobic enterotoxemia and colibacillus diarrhea] / A.G.Spiridonov, D.D.Nasertdinov, Kh.N.Makaev, G.N.Spiridonov // Veterinarny vrach. – 2015. – № 6. – P. 12-15.

8. Novel insights into the epidemiology of Clostridium perfringens type A food poisoning / M.Lindstrom, A.Heikinheimo, P.Lahti, H.Korkeala // Food Microbiol. – 2011. – № 28 – P. 192-198.

9. Enteritis associated with Clostridium perfringens type A in 9-month-old calves / B.Savic [et al] // Can. Vet. J. – 2012. – № 53 – P. 174-176.

УДК 619:616.98:579.852.11-097:636.2

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПОГОЛОВЬЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ВАКЦИНИРОВАННОГО ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

А.П.Родионов – аспирант.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г.Казань (420075, Казань, Научный городок-2, тел. +7(843)239-53-37, e-mail: vnivi@mail.ru).

В работе представлены результаты изучения динамики изменений титра противосибиреязвенных антител и количества Т- и В-лимфоцитов в разные сроки после вакцинации. Работа проводилась в хозяйстве Высокогорского района Республики Татарстан, где были подобраны 30 голов крупного рогатого скота (КРС), которых иммунизировали против сибирской язвы. Пробы крови у опытных животных отбирали в день вакцинации (фоновый титр) и далее через 7, 14, 21, 35, 62, 90, 150, 181 суток. Титр антител определяли, используя «Набор определения антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)». Количественный состав лимфоцитов изучали согласно методическим рекомендациям «Иммуно-клеточная тест-система для оценки влияния ионизирующей радиации на организм животных». В результате проделанной работы выявлена необходимость проведения более масштабных исследований для изыскания оптимальных сроков ревакцинации восприимчивого поголовья. Установлено, что в процессе иммуногенеза при сибирской язве у животных устанавливался Т-клеточный иммунитет, который не зависел от количества В-лимфоцитов и титра антител.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сибирская язва, иммуногенез, вакцинация, крупный рогатый скот, антитела, лимфоциты, РНГА.

Сибирская язва – зооантропонозное особо опасное заболевание, вызываемое спорообразующим почвенным микроорганизмом Bacillus anthracis, сохраняющее социально-экономическую значимость в связи с тяжестью его течения, стойкостью почвенных очагов, широким распространением во всех странах мира [1, 2, 3].

Сибирская язва тщательно изучена и подробно описана в специальной литературе, но, несмотря на проводимые профилактические мероприятия у восприимчивого поголовья, в Российской Федерации и за рубежом ежегодно регистрируются спорадические случаи заболеваемости животных [4]. Это связано, в первую очередь, со стойкостью почвенных очагов инфекции, а также пропусками при вакцинации, толерантностью и недостаточной напряженностью противосибиреязвенного иммунитета.

На сегодняшний день иммунитет против сибирской язвы (поствакцинальный и постинфекционный) рассматривают как антиинфекционный и антитоксический. Основой антибактериального иммунитета является фагоцитоз, а защитные антитела отождествляют с антитоксинами [5]. Защита организма от патогена обеспечивается функционированием взаимодополняющих звеньев иммунной системы: врожденной и адаптивной [6]. Известно, что Bacillus anthracis в процессе своей жизнедеятельности в организме восприимчивого животного выделяет три полипептида, которые объединяясь, образуют летальный (LT) и отечный (ET) токсины. Оба токсина имеют общий рецепторсвязывающий компонент: защитный антиген (PA). PA позволяет переносить летальный и отечный факторы в цитозоль клетки, где и происходит их токсическое воздействие [7]. Токсины сибирской язвы оказывают множественные эффекты, способствующие дисрегуляции иммунитета, презентации антигена, а также передачи сигналов Т- и В-клеток [8, 9]. Но при вовлечении в защиту организма адаптивной иммунной системы, вырабатываются специфические антитела (АТ), которые связывают токсины, и позволяют клеткам врожденного иммунитета уничтожить бактериальный патоген [10]. Многие исследования показали, что титр специфических антител коррелирует со степенью иммунной защиты животных против сибирской язвы [11, 12].

Таким образом, титр противосибиреязвенных антител является показателем, отслеживая который, можно судить об иммунном статусе животного и всего восприимчивого поголовья.

Цель работы – изучение динамики образования противосибиреязвенных антител и количественного состава Т- и В-лимфоцитов в крови крупного рогатого скота в разные сроки после вакцинации для изучения формирования поствакцинального иммунитета.

Материалы и методы. Исследования проведены в ФГБНУ "ФЦТРБ-ВНИВИ" сотрудниками лаборатории коллекции микроорганизмов. Исследовали пробы крови 30 коров, вакцинированных против сибирской язвы, принадлежащих КФХ "Ибрагимова Л.Л." Высокогорского района РТ.

Для иммунизации животных против сибирской язвы использовали ассоциированную вакцину против сибирской язвы (штамма №55-ВНИИВВиМ) и эмфизематозного карбункула. Вакцинацию проводили согласно инструкции по применению.

Кровь у исследуемых животных брали из подхвостовой вены в пластиковые вакуумные пробирки без

наполнителя (для исследования титра антител) и в пластиковые вакуумные пробирки с антикоагулянтом этилендиаминтетраацетатом (для исследований Т- и В-лимфоцитов) в день вакцинации – фоновые показатели и далее через 7, 14, 21, 35, 62, 90, 153, 181 сут со дня вакцинации, согласно составленному календарному плану исследований.

Исследование динамики титра антител проводили, используя «Набор определения антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» разработанный и запатентованный специалистами лаборатории коллекции микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» [17].

Количественный состав иммуноцитов изучали согласно методическим рекомендациям «Иммуно-клеточная тест-система для оценки влияния ионизирующей радиации на организм животных» разработанным специалистами ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» с использованием метода прямого спонтанного розеткообразования (Е-РОК) с эритроцитами барана и мыши для Т- и В-лимфоцитов соответственно [14].

Учет количества иммуноцитов осуществляли иммерсионным способом, используя микроскоп «Микмед-5». Подсчитывали 200 лимфоцитов в каждом мазке и из них вычисляли процент розеткообразующих клеток.

Статистическую обработку результатов исследований проводили, используя программу Microsoft Excel.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований были получены следующие данные:

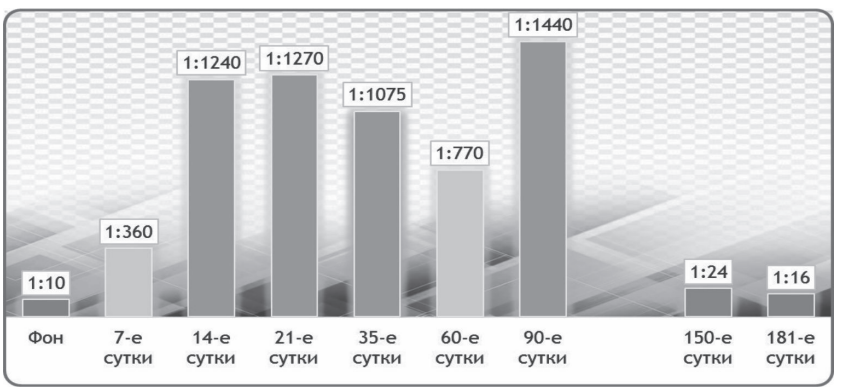

Рис.1. Средний титр антител КРС в разные сроки после вакцинации.

Анализ полученных данных показал, что при взятии крови в день вакцинации (фоновый показатель) среднее количество антител в сыворотках крови исследуемых животных находилось на уровне нижней границы защитного титра, что может повлечь за собой риск возникновения заболевания.

После иммунизации титры антител у опытных животных возрастали и достигали своего пика на 90 сут, при этом их количество сильно разнилось среди исследуемой группы, что может быть связано с индивидуальными особенностями организма.

В последующие сроки после иммунизации (153 сут) регистрировали постепенное снижение титра антител до минимальных защитных значений, однако у 6 (20%) животных он по-прежнему находился на высоком уровне.

Исследования, проведенные на 181 сут после вакцинации, показали, что у животных титры противосибиреязвенных антител продолжили снижаться. Это свидетельствует о том, что по истечении 6 мес после вакцинации иммунитет против сибирской язвы находился на критическом уровне, что может являться потенциальной угрозой возникновения вспышки заболевания.

Результаты изучения количества иммунокомпетентных клеток в крови вакцинированных животных обобщены и представлены на рисунке 2.

Анализ полученных данных позволяет констатировать, что после вакцинации КРС против сибирской язвы, в процессе иммуногенеза, происходило более выраженное становление Т-клеточного иммунитета, процесс образования в организме Т-клеток имел волнообразный характер. Наивысшее количество Т-лимфоцитов в образцах исследуемой крови наблюдалось в период с 35 по 62 сут после проведения вакцинации.

В тоже время количество В-лимфоцитов также повышалось, но их уровень был значительно ниже Т-клеток.

Данные сравнительной оценки количества Т- и В-лимфоцитов с титром противосибиреязвенных антител представлен на рисунке 3.

Из рисунка 3 видно, что содержание В-лимфоцитов в крови исследуемых животных имело прямую зависимость с титром противосибиреязвенных антител. В свою очередь Т-клетки не имели количественной корреляции с антителами, и их развитие происходило независимо от гуморального звена адаптивного иммунитета.

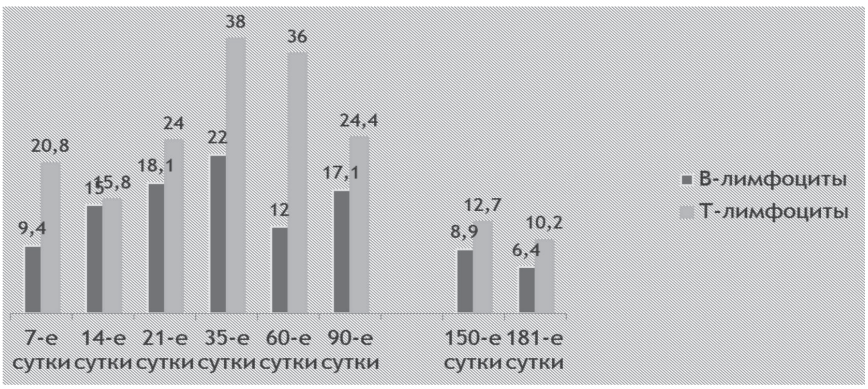

Рис. 2. Количественный состав Т- и В-лимфоцитов в крови КРС в разные сроки после вакцинации.

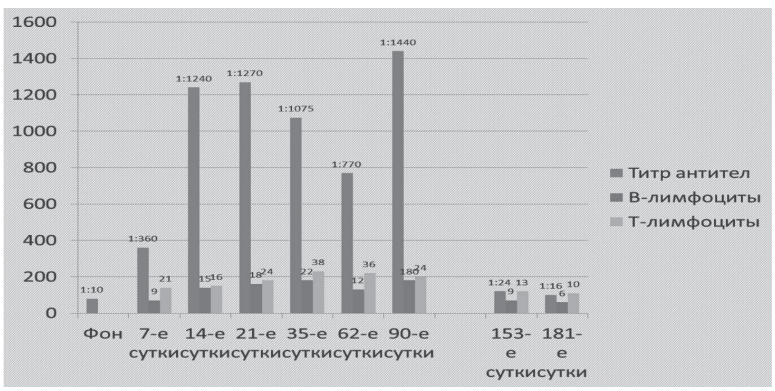

Рис.3. Сравнительная оценка количественного содержания Т- и В-лимфоцитов с титрами противосибиреязвенных антител в крови КРС.

Заключение. Анализ полученных данных по содержанию Т- и В-лимфоцитов в исследуемых пробах крови КРС показал, что в процессе поствакцинального сибиреязвенного иммуногенеза происходит более выраженное становление Т-клеточного звена иммунитета, что может быть следствием персистирования вакцинного штамма №55-ВНИИВВиМ возбудителя сибирской язвы в организме иммунизированного животного в течение длительного периода времени [15]. Количество Т-лимфоцитов не имеет зависимости с В-клетками и гуморальной адаптивной иммунной системой. При исследовании содержания В-лимфоцитов выявлялась их прямая количественная зависимость с титром противосибиреязвенных антител.

Полученные в эксперименте результаты свидетельствуют о том, что по истечении 6 мес после вакцинации крупного рогатого скота против сибирской язвы титр специфических антител и количество иммунокомпетентных клеток постепенно снижаются до низких границ защитного уровня. Эти данные, несмотря на инструкцию по применению вакцины против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВиМ [16], в которой рекомендована ежегодная однократная иммунизация восприимчивого поголовья, диктуют необходимость проведения более масштабных исследований по изысканию оптимальных сроков ревакцинации животных, с целью снижения рисков возникновения случаев заболевания сибирской язвой.

Литература

1. Макаров, В.В. Мировой нозоареал сибирской язвы / В.В.Макаров, О.И.Сухарев // Ветеринарная патология. – 2012. – № 1 (39). – С. 7-15.

2. Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Татарстан. / А.К.Галиуллин, Р.Х.Юсупов, Р.А.Даутова, С.А.Климина // Ветеринарный врач. – 2004. – № 3-4. – С. 32-36.

3. Галиуллин, А.К. Старые сибиреязвенные захоронения – возможные источники распространения инфекции / А.К. Галиуллин, С.А. Климина. // Ветеринарный врач. – 2004. – № 3-4. – С. 36-38.

4. Эпидемиологическая и эпизоотологическая обстановка по сибирской язве в 2017 г., прогноз на 2018 г / А.Г.Рязанова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2018. – № 1. – С. 63-65.

5. Цыдыпов, В.Ц. Эпизоотология и специфическая профилактика сибирской язвы в регионе Сибири и Дальнего Востока./ В.Ц.Цыдыпов, Г.Д.Галсанова, Ю.Ж.Будаев. – Улан-Удэ: Издательство БГСХА, 2007. – 213 с.

6. Галиуллин, А.К. Сибирская язва сельскохозяйственных животных / А.К.Галиуллин, Р.Г.Госманов. – Казань: Издательство «Отечество», 2013. – 306 с.

7. Александрова, Н.М. Индикация возбудителя сибирской язвы в объектах санитарно-эпидемиологического надзора в формате реального времени (RealTime) / Н.М.Александрова, Т.Х.Фаизов // Ветеринарный врач. – 2013. – № 3. – С. 24-26.

8. Anthrax lethal toxin-mediated killing of human and murine dendritic cells impairs the adaptive immune response / A.Alileche [et al.] // J. PLOS Pathog. – 2005. – № 1. – P. 19.

9. Macrophage apoptosis by anthrax lethal factor through p38 MAP kinase inhibition / J.M. Park [et al.] // Science. – 2002. – № 297. – P. 2048–51.

10. The role of antibodies to Bacillus anthracis and anthrax toxin components in inhibiting the early stages of infection by anthrax spores / S.Welkos [et al.] // Microbiology. – 2001. – № 147. – P. 1677-1685.

11. Галиуллин, А.К. Оценка сибиреязвенного иммунитета у животных через разные сроки после вакцинации / А.К.Галиуллин, А.А.Файзуллин, Д.А.Адиятуллина // Ветеринария. – 1994. – № 8. – С. 30-31.

12. Search for correlates of protective immunity conferred by anthrax vaccine / S.Reuveny [et al.] // Infect. Immun. – 2001. – № 69. – P. 2888–2893.

13. Natural Exposure to Cutaneous Anthrax Gives Long-Lasting T Cell Immunity Encompassing Infection-Specific Epitopes / J.Rebecca [et al.] // Immunol, – 2010. – № 184 (7), April. – P. 3814-3821.

14. Иммуноклеточная тест-система для оценки влияния ионизирующей радиации на организм животных / А.В.Иванов, Г.В.Конюхов, Р.Н.Низамов [и др.]. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2006. – 16 с.

15. Бакулов, И.А. Сибирская язва (антракс): новые страницы в изучении "старой болезни" / И.А. Бакулов, В.А Гаврилов, В.В. Селиверстов. – Владимир: Посад, 2001. – 281 с.

16. Инструкция по применению вакцины против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВиМ живой жидкой. 08.07.2014. – Покров, 2014. – 6 с.

17. Патент 2599035 Российская Федерация, МПК G01N 33/531, C12N 1/20. Способ получения эритроцитарного сибиреязвенного антигена, способ получения контрольной положительной сыворотки для набора определения антител в сыворотке крови животных, вакцинированных против сибирской язвы, в реакции непрямой гемагглютинации и набор для определения антител / Х.Н.Макаев, Л.А.Мельникова, С.В.Иванова, А.Г.Хисамутдинов, А.В.Иванов, Л.А.Барбарова, Г.Х.Муртазина; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»). – № 2015128403/15; заявл. 13.07.2015; опублик. 10.10.2016, Бюл. № 28.

STUDYING THE IMMUNOLOGICAL STATUS OF HEADED CATTLE VACCINATED AGAINST ANTHRAX

Rodionov A.P. – postgraduate student.

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnivi@mail.ru).

The paper presents the study results of changes in anthrax antibody titer and the number of T and B lymphocytes in different terms after vaccination. The work was conducted in a farm of the Vysokogorskiy district of the Republic of Tatarstan, where 30 head cattles immunized against anthrax were collected. Blood samples from experimental animals were taken on the day of vaccination (background titer) and then after 7, 14, 21, 35, 62, 90, 153, 181 days. Antibody titers were determined using the "Kit of determination of antibodies in the serum of animals vaccinated against anthrax in the reaction of indirect hemagglutination (RHA)". The quantitative composition of immunocytes was studied according to the methodological recommendations "Immuno-cell test-system for assessing the effect of ionizing radiation on animals". As a result of the work there was a need for more extensive studies to find the optimal terms for revaccination of susceptible head of livestock. Animals were found to have a T-cell immunity not depending on the number of B-lymphocytes and antibody titer in the process of immunogenesis at anthrax.

KEYWORDS: anthrax, immunogenesis, vaccination, cattle, antibodies, lymphocytes, RHA.

References

1. Makarov, V.V. Mirovoy nozoareal sibirskoy yazvy [World nozoareal of anthrax]. / V.V.Makarov,O.I.Sukharev. // Veterinarnaya patologiya. – 2012. – № 1 (39). – P. 7-15.

2. Retrospektivny analiz epizooticheskoy situacii po sibirskoy yazve v RespublikeTatarstan [The retrospective analysis of the epizootic situation for anthrax in the Republic of Tatarstan]. / A.K.Galiullin, R.H.Yusupov, R.A.Dautova, S.A.Klimina. // Veterinarny vrach. – 2004. – № 3-4. – P.32-36.

3. Galiullin A.K. Starye sibireyazvennye zakhoroneniya – vozmozhnye istochniki rasprostraneniya infekcii [Old anthrax burials - possible sources of infection]. / A.K.Galiullin, S.A.Klimina. // Veterinarny vrach. – 2004. – № 3-4. – P.36-38.

4. Epidemiologicheskaya I epizootologicheskaya obstanovka po sibirskoy yazve v 2017 g., prognozna 2018 g [Epidemiological and epizootological situation for anthrax in 2017, the prognosis for 2018] / A.G.Ryazanova [et al.] // Problemy osobo opasnykh infekciy. – 2018. –№ (1). – P. 63-65.

5. Tsydypov, V.C.Epizootologiya I specificheskaya profilaktika sibirskoy yazvy v regione Sibiri I DalnegoVostoka [Epizootological and specific prevention of anthrax in the region of Siberia and the Far East] / V.C.Tsydypov, G.D.Galsanova, Yu.Zh.Budaev. – Ulan-Ude: Izdatelstvo BGSKHA, 2007. – 213 p.

6. Galiullin, A.K.Sibirskaya yazva selskokhozyaystvennykh zhivotnykh [Anthrax of farm animals]. / A.K.Galiullin, R.G.Gosmanov. – Kazan: «Otechestvo», 2013. – 306 p.

7. Aleksandrova, N.M. Indikaciya vozbuditelya sibirskoy yazvy v obyektakh sanitarno-epidemiologicheskogo nadzora v formate realnogo vremeni (Real Time) [Indication of the anthrax pathogen in the objects of sanitary and epidemiological surveillance in real time (Real Time)] / N.M.Aleksandrova, T.H.Faizov // Veterinarny vrach. – 2013. – № 3. – P. 24-26.

8. Anthrax lethal toxin-mediated killing of human and murine dendritic cells impairs the adaptive immune response / A.Alileche [et al.] // J. PLOS Pathog. – 2005. – № 1. – P. 19.

9. Macrophage apoptosis by anthrax lethal factor through p38 MAP kinase inhibition / J.M. Park [et al.] // Science. – 2002. – № 297. – P. 2048–51.

10. The role of antibodies to Bacillus anthracis and anthrax toxin components in inhibiting the early stages of infection by anthrax spores / S.Welkos [et al.] // Microbiology. – 2001. – № 147. – P. 1677-1685.

11. Galiullin, A.K.Ocenka sibireyazvennogo immuniteta u zhivotnykh cherez raznye sroki poslevaktsinatsii [Assessment of anthrax immunity at animals in different terms after vaccination] / A.K.Galiullin, A.A.Fayzullin, D.A.Adiyatullina // Veterinariya. – 1994. – № (8). – P. 30-31.

12. Search for correlates of protective immunity conferred by anthrax vaccine / S.Reuveny [et al.] // Infect. Immun. – 2001. – № 69. – P. 2888–2893.

13. Natural Exposure to Cutaneous Anthrax Gives Long-Lasting T Cell Immunity Encompassing Infection-Specific Epitopes / J.Rebecca [et al.] // Immunol, – 2010. – № 184 (7), April. – P. 3814-3821.

14. Immunokletochnaya test-sistema dlya ocenki vliyaniya ioniziruyushchey radiacii na organism zhivotnykh [Immuno-cellular test-system for assessment of influence of the ionizing radiation on animals' organizm] / A.V. Ivanov [et al.]. – M.: FGNU «Rosinformagrotekh», 2006. – 16 p.

15. Bakulov, I. A. Sibirskaya yazva (antraks): novye stranitsy v izuchenii "staroy bolezni" [Anthrax: new pages in studying of "an old disease"] / I.A.Bakulov, V.A.Gavrilov, V.V.Seliverstov. – Vladimir: Posad, 2001. – 281 p.

16. Instrukciya po primeneniyu vakciny protiv sibirskoy yazvy zhivotnykh iz shtamma 55-VNIIVViM zhivoy zhidkoy. 08.07.2014 [The instruction for using the vaccine against anthrax of animals from a strain 55-VNIIVVIM live liquid. 08.07.2014]. – Pokrov, 2014. – 6 p.

17. Patent 2599035 Rossiyskaya Federatsiya, MPK G01N 33/531, C12N 1/20. Sposob polucheniya eritrocitarnogo sibireyazvennogo antigena, sposob polucheniya kontrolnoy polozhitelnoy syvorotki dlya nabora opredeleniya antitel v syvorotke krovi zhivotnykh, vakcinirovannykh protiv sibirskoy yazvy, v reakcii nepryamoy gemagglyutinacii I nabor dlya opredeleniya antitel [The method of obtaining erythrocyte anthrax antigen, the method of obtaining control positive serum for a set of detection of antibodies in the serum of animals vaccinated against anthrax in the reaction of indirect hemagglutination and set for the determination of antibodies] / Kh.N.Makaev, L.A.Melnikovz, S.V.Ivanova, A.G.Khisamutdinov, A.V.Ivanov, L.A.Barbarova, G.Kh.Murtazina; applicant and patent possessor FGBNU "Federalny centr toksikologicheskoy, radiatsionnoy I biologicheskoy bezopasnostu (FGBNU "FCTRB-VNIVI"). – № 2015128403/15; ordered 13.07.2015; published 10.10.2016, Bulletin № 28.

УДК: 619:615.28:579.842.1/.2:636.52/.58.033

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦИТРИНИНА НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ДИСБАКТЕРИОЗА И ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ СЕМЕЙСТВА ENTEROBACTERIACEAE

[1]В.Н.Афонюшкин – кандидат биологических наук, зав. сектором; [1]Н.А.Донченко – доктор ветеринарных наук, директор; [2]Ю.Н.Козлова – кандидат биологических наук, мл.н.с.; [2]Н.А.Давыдова – кандидат ветеринарных наук, ст.н.с.; [2]В.С.Черепушкина – мл.н.с.; [3]О.А.Фролова – мл.н.с.

[1]Сибирский Федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, р.п.Краснообск (630501, Новосибирская область, Краснообск, e-mail: lisocim@mail.ru).
[2]Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г.Новосибирск (630090, Новосибирск, пр. Ак.Лаврентьева, 8, e-mail: niboch@niboch.nsc.ru).
[3]Красноярский научно-исследовательский институт животноводства – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра Красноярского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, г.Красноярск (660049, Красноярск, пр.Мира, 66, а/я 25524, e-mail: kristal_o@bk.ru).

У цыплят-бройлеров после употребления цитринина с кормом наблюдали, статистически достоверное, снижение концентрации лактобактерий в кишечнике на 0,61 Log10 КОЕ/грамм (P=0,03). Контакт микрофлоры кишечника с цитринином привел к снижению концентрации бактерий, чувствительных к энрофлоксацину, и вызвал увеличение удельной доли бактерий, устойчивых к энрофлоксацину. На основании культуральных данных биоразнообразие микробиоты кишечного содержимого у цыплят опытной и контрольной групп не различалось. Среди доминантных микроорганизмов сем. Enterobacteriaceae превалировали два морфотипа – колонии синего цвета (Enterobacter spp.) и розового цвета (E.coli) (на среде уриселект 4), т.е. продуцирующие глюкуронидазу и галактозидазу, соответственно. Статистически достоверно в опытной группе была снижена концентрация бактерий, образующих колонии синего цвета на среде без энрофлоксацина и при концентрации энрофлоксацина 0,2 мкг/мл. При концентрации энрофлоксацина 4 мкг/мл количество выросших колоний у цыплят контрольных и опытных групп не различалось. Следовательно, число резистентных к энрофлоксацину форм бактерий у цыплят опытных и контрольных групп не менялось. Корреляционный анализ позволил установить отрицательную корреляцию между концентрацией энрофлоксацина и концентрацией микроорганизмов (Enterobacter spp.) в кишечнике (r=-0,805 и -0,90 для опытной и контрольных групп, соответственно), что также подтверждает меньшее влияние энрофлоксацина на снижение количества бактерий после обработки цитринином. Второй доминантный вид бактерий кишечной микробиоты E.coli характеризовался отсутствием зависимости между концентрацией энрофлоксацина в питательной среде и концентрацией бактерий. Таким образом, и в контрольной и в опытной группах цыплят, все бактерии данного морфотипа были резистентны к энрофлоксацину вне зависимости от контакта с цитринином. Подтверждена гипотеза об отрицательном влиянии повышенного уровня цитринина на микробиоту кишечника. Влияния цитринина на устойчивость кишечной палочки к энрофлоксацину не обнаружено. Контакт микробиоты кишечника птицы с микотоксинами, в частности с цитринином, может приводить не только к развитию дисбактериоза, но и способствовать накоплению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цитринин, цыплята, сальмонеллы, кишечная палочка, антибиотикорезистентность, антибиотикочувствительность.

Обеспечение, как безопасности продуктов питания, так и здоровья животных требует противодействия патогенным микроорганизмам. Без антибиотиков это невозможно. Тем не менее, проблема устойчивости бактерий к антибиотикам встречается и в ветеринарии. Что безопаснее – снижать концентрацию опасных для человека бактерий в пищевых продуктах, используя антибиотики в животноводстве, или ограничить потребление антибиотиков в ветеринарии, повысив потребление антибиотиков населением? Это вопрос остается нерешенным. Однако, необходимость борьбы с антибиотико-резистентными формами бактерий совершенно очевидна.

Антибиотико-устойчивые штаммы сальмонелл часто обнаруживаются в пищевых продуктах животного происхождения [1, 2]. В последние годы наблюдается рост числа штаммов сальмонелл, устойчивых к фторхинолонам и цефалоспоринам [3-5]. Согласно сообщению NARMS от 2010 г. возросла частота выделения полирезистентных штаммов сальмонелл, например, серовара Typhimurium устойчивого к ампициллину, хлорамфениколу, стрептомицину, сульфаметоксазолу /ульфисоксазолу и тетрациклину (ACSSuT), а также сальмонелл серовара Enteritidis, устойчивых к налидиксовой кислоте. Серовары Newport, Heidelberg, Dublin, также часто характеризуются устойчивостью

к антибиотикам различных групп. Среди полирезистентных сальмонелл (более 5 антибиотиков) наиболее часто встречаются сальмонеллы эпидемически значимых сероваров: Typhimurium, Heidelberg, Dublin, Paratyphi B, and I4 [6]. Хотя S.Enteritidis широко распространена у населения, штаммы этого серовара считаются менее резистентными в сравнении с другими сероварами. Механизмы устойчивости сальмонелл к антибиотикам включают ферменты деградирующие антибиотики (бет-лактамазы), эффлюкс – помпы (системы, обеспечивающие выведение широкого спектра антибиотиков из бактериальной клетки) [7, 8].

Цитринин-органическое соединение, поликетид, антибиотик-хинон, микотоксин, вторичный метаболит, продуцируемый микроскопическими плесневыми грибами рода Пеницилл (в частности Penicillum citrinum) и в меньшей степени рода Аспергилл. Нами выдвинута гипотеза о возможности индукции полирезистентности условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике кур и человека при контакте с токсичными ксенобиотиками, например, цитринином.

Цель исследования – изучить основные факторы, влияющие на возникновение перекрестной антибиотикорезистентности и полирезистентности микроорганизмов сем. Enterobacteriaceae, выделяемых от кур и цыплят-бройлеров.

Материалы и методы. Сальмонелл выделяли из проб печени и кишечника цыплят-бройлеров с использованием общепринятых методов изоляции, используя следующие питательные среды: XLT4, RVS-бульон, висмут-сульфит агар. Идентификацию до вида проводили с использованием биохимических тестов (ПБДЭ – пластина для биохимической дифференциации энтеробактерий ООО «Диагностические системы-Нижний Новгород»). Также тестировали методом ПЦР в режиме реального времени с использованием видоспецифичных праймеров и Taqman-зонда [9].

Антибиотикорезистентность определяли диско-диффузионным методом в соответствии с общепринятыми требованиями [10]. Для исследований были использованы штаммы сальмонелл, характеризующиеся наличием эффлюкса.

Антибиотикочувствительность изучали в отношении следующих антибиотиков: амоксициллин, клиндамицин, тилозин, спектиномицин, гентамицин, флорфеникол, триметоприм/сульфадимезин, триметоприм/сулфаметоксазол, сульфадимезин. Интерпретацию результатов определения чувствительности к антибиотикам проводили с использованием критериев Европейского комитета по оценке антибиотикочувствительности (EUCAST) 2012 г. [11].

Для изучения влияния цитринина на выработку антибиотикорезистентности, цыплят породы Хайсекс Браун в возрасте 2 недели разбили на 2 группы по 7 голов. Цыплятам опытной группы скармливали комбикорм с превышением уровня цитринина выше ПДУ. Цыплятам контрольной группы скармливали комбикорм без цитринина. Опыт проводили в течение 7 дней.

По завершению эксперимента были отобраны пробы кишечного содержимого, гомогенизированы в стерильном физиологическом растворе до 10% концентрации и проведены посевы серийных, десятикратных разведений на среду MRS, а также на среду Uriselect 4 (Bio-Rad Laboratory), содержащую 4, 0,2 и 0 мкг/мл энрофлоксацина. Дополнительно проводили посевы на среду Эндо и SDS-бульон.

Определение концентрации цитринина в кормах проводили методом иммуноферментного анализа с использованием RIDASCREEN FAST Cytrinin (R-Biofarm), в соответствии с инструкцией производителя. Измерение оптической плотности осуществляли при длине волны 450 нм на спектофотометре Tecan Sunrise. Определение концентрации цитринина по оптической плотности осуществляли методом сплайн-интерполяции с использованием ПО RidaSoft (R-Biofarm).

Результаты и исследований. У цыплят-бройлеров после употребления цитринина с кормом, наблюдали, статистически достоверное, снижение концентрации лактобактерий в кишечнике на 0,61 Log10 КОЕ/грамм (P=0,03), что соответствует литературным данным и ранее сделанным нами клиническим наблюдениям.

На основании культуральных данных биоразнообразие микробиоты кишечного содержимого у цыплят опытной и контрольной групп не различалось. Среди доминантных микроорганизмов сем. *Enterobacteriaceae* превалировали два морфотипа колоний синего (*Enterobacter spp.*) и розового цвета (*E.coli*) (на среде уриселект 4), т.е. продуцирующие глюкуронидазу и галактозидазу, соответственно. Статистически достоверно в опытной группе была снижена концентрация бактерий, образующих колонии синего цвета (табл. 1) на среде без энрофлоксацина и при концентрации энрофлоксацина 0,2 мкг/мл. При концентрации энрофлоксацина 4 мкг/мл количество выросших колоний у цыплят контрольных и опытных групп не различалось. Следовательно, число резистентных к энрофлоксацину форм бактерий у цыплят опытных и контрольных групп не менялось.

Контакт микрофлоры кишечника с цитринином привел к снижению концентрации бактерий, чувствительных к энрофлоксацину.

Корреляционный анализ позволил установить отрицательную корреляцию между концентрацией энрофлоксацина и концентрацией микроорганизмов (*Enterobacter spp.*) в кишечнике (r=-0,805 и -0,901 для опытной и контрольных групп, соответственно), что также подтверждает меньшее влияние энрофлоксацина на снижение количества бактерий после обработки цитринином. Таким образом, можно утверждать, что скармливание корма с цитринином вызвало увеличение удельной доли бактерий, устойчивых к энрофлоксацину (рис. 1).

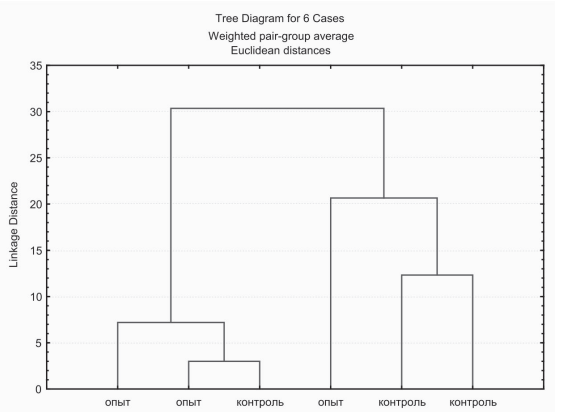

Рис. 1. Результаты кластерного анализа культур *E.coli* по результатам антибиотикорезистентности.

Таблица 1

Концентрация микроорганизмов *Enterobacter spp.* при посеве на среду с разными концентрациями энрофлоксацина, Log10 КОЕ/грамм

Параметр	Концентрация энрофлоксацина, мкг/мл		
	0	0,2	4
Контрольная группа			
M+SD	7,61+0,33	7,41+0,23	6,29+0,34
Опытная группа			
M+SD	7,18+0,31*	7,05+0,39	6,23+0,28
P	0,02	0,05	0,37

Второй доминантный вид бактерий кишечной микробиоты – *E.coli* характеризовался отсутствием зависимости между концентрацией энрофлоксацина в питательной среде и концентрацией бактерий. Таким образом, и в контрольной и в опытной группах цыплят, все бактерии данного морфотипа были резистентны к энрофлоксацину вне зависимости от контакта с цитринином (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация микроорганизмов *E.coli* (розовые колонии) при посеве на среду с разными концентрациями энрофлоксацина, Log10 КОЕ/грамм

Параметр	Концентрация энрофлоксацина, мкг/мл		
	0	0,2	4
Контрольная группа			
M+SD	7,26+0,28	7,11+0,29	7,02+0,44
Опытная группа			
M+SD	7,34+0,35	7,21+0,26	7,19+0,27
P	0,33	0,28	0,21

Как следует из таблиц 3 и 4, достоверных различий антибиотикорезистентности культур кишечной палочки, выделенных от цыплят опытной и контрольной групп, не наблюдалось, ввиду выделения двух профилей антибиотикорезистентности вне зависимости от группы.

Изучение изменения антибиотикорезистентности сальмонелл после инкубации с цитринином в опытах in vitro.

После инкубации сальмонелл в присутствии цитринина в концентрации 136 мкг/л, антибиотикорезистентность, статистически значимо, повысилась в отношении хлорамфеникола (у трех штаммов из четырех), амоксициллина (у одного штамма), доксициклина и энрофлоксацина (у одного штамма). Также наблюдались случаи повышения антибиотикочувствительности к доксициклину и энрофлоксацину у одного из штаммов (статистически незначимо после учета поправки Бонферрони) (табл. 5).

Таблица 3

Антибиотикорезистентность культур *E.coli*, выделенных от цыплят контрольной группы, по результатам диско-диффузионного метода, мм

Штамм	Доксициклин	Клиндамицин	Хлорамфеникол	Флумеквин	Канамицин	Амоксициллин	Норфлоксацин	Энрофлоксацин
2	0	12	24	16	24	14	18	15
156	0	0	22	14	24	14	18	15
157	0	14	24	0	24	15	0	0
M+SD	0,00+0	8,67+7,57	23,33+1,15	10,00+8,72	24,00+0,00	14,33+0,58	12,00+10,39	10,00+8,66

Таблица 4

Антибиотикорезистентность культур *E.coli*, выделенных от цыплят опытной группы по результатам диско-диффузионного метода, мм

Штамм	Доксициклин	Клиндамицин	Хлорамфеникол	Флумеквин	Канамицин	Амоксициллин	Норфлоксацин	Энрофлоксацин
158	0	0	12	14	22	0	24	15
159	0	16	24	0	22	14	0	0
160	0	8	24	0	22	14	0	0
M+ SD	0,00+0	8,00+8,00	20,00+6,93	4,67+8,08	22,00+0,00	9,33+8,08	8,00+13,86	5,00+8,66

Таблица 5

Изменение антибиотикорезистентности после контакта сальмонелл с цитринином, M+SD мм

Штамм	Хлорамфеникол		Амоксициллин		Энрофлоксацин		Доксициклин	
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
№3	**26,667 ±1,154**	17*±6,08	**9,66 ±0,57**	2,66 ±4,61	**28+2**	20,33** ±1,527	0±0	0±0
№297	**0±0**	44±8,71**	0±0	13±4,24	18±5,29	27±4,24	**0±0**	20,02*** ±0,03
№299	**0±0**	12,66 ±3,05**	**0**	13,33** ±1,15	20±0	20,66 ±2,3	**22,66 ±1,15**	24,66* ±1,154
№286	0±0	0±0	0±0	0±0	18,66 ±1,154	14,66 ±5,03	0±0	0±0
№296	**19,33 ±3,05**	29,33** ±1,15	24±0	24,66 ±1,15	**17,33 ±1,15**	20±0*	23 ±8,88	26±2

Примечание: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001.

Таким образом, контакт микробиоты кишечника птицы с микотоксинами, в частности с цитринином, может приводить не только к развитию дисбактериза, но и способствовать накоплению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

Заключение. После употребления цитринина с кормом наблюдали статистически достоверное снижение концентрации лактобактерий в кишечнике на 0,61 Log10 КОЕ/грамм (P=0,03), то есть наступление дисбиоза, что подтверждает нашу гипотезу об отрицательном влиянии повышенного уровня цитринина на микробиоту кишечника. Устойчивость эффлюкс положительных штаммов сальмонелл после контакта с цитринином повышалась к хлорамфениколу, энрофлоксацину, амоксициллину и доксициклину.

Благодарность.

Работа выполнена при частичной поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований СО РАН II.1 (№ 0778-2018-0112) «Микробиом человека и сельскохозяйственных животных. Изучение возможностей коррекции».

Литература

1. Swartz, M.N. Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin / M.N.Swartz // Clinical Infectious Diseases. – 2002. – № 34 (supplement 3). – P. 111–122. – doi: 10.1086/340248.

2. Antimicrobial resistance in nontyphoid Salmonella serotypes: a global challenge / L.H.Su, C.H.Chiu, C.Chu, J.T.Ou // Clinical Infectious Diseases. – 2004. – № 39 (4). – P. 546–551. – doi: 10.1086/422726.

3. Multidrug-resistant Salmonella typhimurium DT104 in poultry / G.Rajashekara [et al] // Journal of Food Protection. – 2000. – № 63 (2). – P. 155-161.

4. Davis, M.A. Multiresistant clones of Salmonella enterica: the importance of dissemination / M.A.Davis, D.D.Hancock, T.E.Besser // The Journal of Laboratory and Clinical Medicine. – 2002. – № 140 (3). – P. 135–141. – doi: 10.1067/mlc.2002.126411.

5. Increased burden of illness associated with antimicrobial-resistant Salmonella enteric serotype Typhimurium infections / L.J.Martin, M.Fyfe, K.Doré [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. – 2004. – № 189 (3). – P. 377–384. – doi: 10.1086/381270.

6. Jensen, A.N. Immediate differentiation of Salmonella-resembling colonies on brilliant green agar / A.N.Jensen, J.Hoorfar // Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology. – 2000. – № 8 (3). – P. 219–225. – doi: 10.1111/j.1745-4581.2000.tb00219.x.

7. Sefton, A.M. Mechanisms of antimicrobial resistance / A.M.Sefton // Drugs. – 2002. – № 62 (4). – P. 557–566. – doi: 10.2165/00003495-200262040-00001.

8. Foley, S.L. Food animal-associated Salmonella challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance / S.L.Foley, A.M.Lynne // Journal of Animal Science. – 2008. – № 86 (14). – P. E173–E187.

9. Современные методы контроля сальмонеллеза / В.Н.Афонюшкин, Е.В.Дударева, Л.И.Малахеева [и др.] // Птицеводство. – 2008. – № 9. – С. 43-44.

10. CLSI Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21st informational supplement. – 2011. – № (31). – P. 165.

11. EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0. – 2012. – 73 p.

STUDYING THE EFFECT OF CITRININ ON OCCURRENCE OF DYSBACTERIOSIS AND MULTIRESISTANCE OF MICROORGANISMS FAMILY ENTEROBACTERIACEAE

[1]Afonyushkin V.N. – Candidate of Biological Sciences; [1]Donchenko N.A. – Doctor of Veterinary Medicine; [2]Kozlova Yu.N. – Candidate of Biological Sciences; [2]Davydova N.A. – Candidate of Veterinary Sciences; [2]Cherepushkina V.S. – Junior Researcher; [3]Frolova O.A. – Junior Researcher.

[1]Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk (e-mail: lisocim@mail.ru).

[2]Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk (e-mail: niboch@niboch.nsc.ru).

[3]Krasnoyarsk Scientific-Research Institute of Animal Husbandry –Division of Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", Krasnoyarsk (e-mail: kristal_o@bk.ru).

The broiler chickens were observed a statistically reliable decrease in the concentration of lactobacilli in the intestine by 0.61 Log10 CFU / g (P=0.03) after taking citrinin with fodder. The contact of the intestinal microflora with citrinin had resulted in a decrease in the concentration of bacteria sensitive to enrofloxacin and caused an increase in the specific proportion of bacteria resistant to enrofloxacin. Based on the culture data, the intestinal contents microbiota biodiversity in the chickens of the experimental and control groups did not differ. Two morphotypes had prevailed among the dominant microorganisms family Enterobacteriaceae - blue color colonies (Enterobacter spp.) and pink color colonies (E.coli) (on the Uriselect 4 medium), i.e. the producing glucuronidase and galactosidase, respectively. In the experimental group there was a statistically significant decrease in the concentration of bacteria forming blue colonies on a medium without enrofloxacin and with an enrofloxacin concentration of 0.2 µg / ml. With an enrofloxacin concentration of 4 µg / ml, the number of colonies grown in the control and experimental chickens did not differ. Consequently, the number of bacteria resistant to enrofloxacin in the chickens of the experimental and control groups did not change. Correlation analysis made it possible to establish a negative correlation between the enrofloxacin concentration and the concentration of microorganisms (Enterobacter spp.) in the intestine (r = -0.805 and -0.90 for the experimental and control groups, respectively). This also confirms the lower effect of enrofloxacin on reducing the number of bacteria after treating by citrinin. The second dominant bacterial species of the intestinal microbiota - E. coli – was characterized by the absence of a relationship between the enrofloxacin concentration in the nutrient medium and the concentration of bacteria. Thus, in both the control and experimental groups of chickens, all the bacteria of this morphotype were resistant

to enrofloxacin, regardless of contact with citrinin. A hypothesis of the negative effect of increased citrinin level on the intestinal microbiota had been confirmed. The citrinin effect on the resistance of E.coli to enrofloxacin was not detected. The contact of the poultry intestinal microbiota with mycotoxins, in particular with citrinin, may lead not only to the development of dysbacteriosis but also contribute to the accumulation of antibiotic resistant strains of microorganisms.

KEYWORDS: citrinine, chickens, salmonella, *E.coli*, antibiotic resistance, antibiotic sensitivity.

References

1. Swartz, M.N. Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin / M.N.Swartz // Clinical Infectious Diseases. – 2002. – № 34 (supplement 3). – P. 111–122. – doi: 10.1086/340248.
2. Antimicrobial resistance in nontyphoid Salmonella serotypes: a global challenge / L.H.Su, C.H.Chiu, C.Chu, J.T.Ou // Clinical Infectious Diseases. – 2004. – № 39 (4). – P. 546–551. – doi: 10.1086/422726.
3. Multidrug-resistant Salmonella typhimurium DT104 in poultry / G.Rajashekara [et al] // Journal of Food Protection. – 2000. – № 63 (2). – P. 155–161.
4. Davis, M.A. Multiresistant clones of Salmonella enterica: the importance of dissemination / M.A.Davis, D.D.Hancock, T.E.Besser // The Journal of Laboratory and Clinical Medicine. – 2002. – № 140 (3). – P. 135–141. – doi: 10.1067/mlc.2002.126411.
5. Increased burden of illness associated with antimicrobial-resistant Salmonella enteric serotype Typhimurium infections / L.J.Martin, M.Fyfe, K.Doré [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. – 2004. – № 189 (3). – P. 377–384. – doi: 10.1086/381270.
6. Jensen, A.N. Immediate differentiation of Salmonella-resembling colonies on brilliant green agar / A.N.Jensen, J.Hoorfar // Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology. – 2000. – № 8 (3). – P. 219–225. – doi: 10.1111/j.1745-4581.2000.tb00219.x.
7. Sefton, A.M. Mechanisms of antimicrobial resistance / A.M.Sefton // Drugs. – 2002. – № 62 (4). – P. 557–566. – doi: 10.2165/00003495-200262040-00001.
8. Foley, S.L. Food animal-associated Salmonella challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance / S.L.Foley, A.M.Lynne // Journal of Animal Science. – 2008. – № 86 (14). – P. E173–E187.
9. Sovremennye metody kontrolya salmonelleza [Modern methods of salmonellosis control] / V.N.Afonyushkin, E.V.Dudareva, L.I.Malakheeva [et al.] // Ptitsevodstvo. – 2008. – № 9. – P. 43–44.
10. CLSI Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21st informational supplement. – 2011. – № (31). – P. 165.
11. EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0. – 2012. – 73 p.

УДК 619:616.98:578.823.1

ЭПИЗООТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

[1]А.В.Мищенко – кандидат ветеринарных наук, зам. директора; [1]В.А.Мищенко – доктор ветеринарных наук, профессор, гл.н.с.; [2]О.Ю.Черных – доктор ветеринарных наук, профессор, директор; [3]В.Н.Шевкопляс – доктор ветеринарных наук, профессор, проректор; [4]Р.А.Кривонос – кандидат ветеринарных наук, руководитель ГУВ Краснодарского края; [5]А.А.Лысенко – доктор ветеринарных наук, профессор; [6]А.Н.Чернов – доктор биологических наук, зам.директора.

[1]ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» («ВНИИЗЖ»), г.Владимир (600901, г.Владимир, мкр. Юрьевец,e-mail: mischenko@arriah.ru).
[2]ГБУ КК «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория», г.Кропоткин (352380,г.Кропоткин, ул. Красноармейская, 303, e-mail: gukkvl50@kubanvet.ru).
[3]ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им.К.И.Скрябина», г.Москва (109472, Москва, ул.Академика Скрябина, 23, e-mail: shevkoplyasvn@gmail.com).
[4]Главное управление ветеринарии Краснодарского края, г.Краснодар (350020, Краснодар, ул.Рашпилевская, 36, e-mail: sinkubani@mail.ru).
[5]ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т.Трубилина», г.Краснодар (350044, Краснодар, ул.Калинина, 13), e-mail: vet.kubgau@mail.ru).
[6]ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г.Казань (420075, Казань, Научный городок-2, e-mail:vnivi@mail.ru).

В статье приведен анализ данных литературы и сообщений МЭБ об эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных на территории стран, с которыми Российская Федерация имеет торговые и экономические связи,

а также сведения об эпизоотологических особенностях данного заболевания, устойчивости возбудителя во внешней среде и инфицированной продукции. В работе кратко приведены сведения о свойствах вируса чумы мелких жвачных животных. Представлены данные о предполагаемых путях заноса вируса чумы мелких жвачных на территорию Российской Федерации и механизмы распространения возбудителя. Изложена детальная характеристика эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных среди мелкого рогатого скота (овец и коз) в аймаке Ховд Монголии, а также детальный анализ эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных сайгаков (Saiga tatarica mongolica) на территории аймаков Ховд и Гоби-Алтай Монголии. На территории указанных аймаков Монголии зарегистрирована гибель джейранов (Gazelle subguturosa), архаров (Ovis ammon) и сибирских козерогов (Siberianibex) от чумы мелких жвачных. У диких животных диагностика инфекционных болезней, в том числе чумы мелких жвачных, значительно затруднена ввиду технических сложностей обнаружения трупов и быстрого разложения трупов павших животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: овцы, козы, сайгаки, чума мелких жвачных.

Проблема трансграничных инфекций животных является чрезвычайно важной для экономики, торговли и безопасности многих стран, так как эти болезни способны распространяться на территории многих стран в виде эпизоотий и панзоотий и наносить существенный экономический ущерб животноводству и дикой фауне. Поливекторность многих возбудителей способствует их широкому обмену между домашними и дикими животными [12, 15]. Борьба с трансграничными инфекциями требует международной кооперации. Из инфекционных болезней мелких жвачных животных к трансграничным инфекциям относятся ящур [12, 16], чума мелких жвачных животных (ЧМЖ), а также оспа овец и коз. Из вирусных болезней, общих для диких и сельскохозяйственных животных, наиболее изучен ящур [12, 17]. По мнению многих исследователей, дикие животные заражаются ящуром от домашних парнокопытных, однако они могут заболеть раньше и послужить источником и распространителем возбудителя инфекции для сельскохозяйственных животных в результате прямых и опосредованных контактов через общие пастбища, источники воды и корма [10, 12, 17]. Для Российской Федерации чума мелких жвачных животных является экзотической болезнью, так как прежде ее не регистрировали [16, 19]. Однако постоянно существует угроза заноса вируса чумы мелких жвачных, как и возбудителей других трансграничных инфекций, из неблагополучных стран [14, 15]. Считается, что самые важные эпизоотологические особенности вирусных инфекций, в том числе и чумы мелких жвачных животных, как нозологической единицы, обусловлены патогенезом болезни, экологией и биологическими свойствами возбудителя [10, 13].

Возбудителем чумы мелких жвачных животных является РНК-содержащий оболочечный вирус, относящийся к роду морбилливирусов семейства Paramixoviridae [4, 9, 18]. По результатам нуклеотидного сиквенса различают четыре генетические линии возбудителя (I-IV). Вирус легко разрушается во внешней среде. Возбудитель чувствителен к эфиру, хлороформу, спирту и другим жирорастворителям, а также детергентам. Нагревание до 60^{0}С убивает вирус ЧМЖ немедленно. При комнатной температуре вируссодержащая цитратная кровь сохраняет активность в течение 4-6 дней, при 0^{0}С – более 5 лет. Вирус чувствителен к ультрафиолетовым лучам и солнечному свету, а также к pH ниже 5,5 и выше 10,0. Вирус чумы мелких жвачных животных может сохраняться в свежем и/или охлажденном мясе в течение нескольких дней, хотя значение pH мяса после созревания (5,6-5,8) не является оптимальной для выживания возбудителя [5, 6, 7, 13, 18]. Ряд исследователей считает, что эпизоотологические особенности чумы мелких жвачных животных, в том числе динамика передачи возбудителя при разных системах ведения животноводства, изучены недостаточно [8].

В естественных условиях чумой мелких жвачных болеют только домашние и дикие овцы и козы. Большинство исследователей считают, что козы более восприимчивы к возбудителю ЧМЖ. Имеются отдельные сообщения, что в естественных условиях к ЧМЖ восприимчивы и некоторые дикие жвачные животные в том числе: газели, горные козлы, серны [5, 16, 19]. В экспериментальных условиях установлена возможность заражения сайгаков. В июле 2013 года в стаде одногорбых верблюдов в провинции Хузестан на юго-западе Ирана была зарегистрирована вспышка чумы мелких жвачных. В результате проведенных исследований в Пакистане в сыворотках крови 1,3-17,5% крупного рогатого скота и 3,8-22,5% буффало были обнаружены антитела к вирусу чумы мелких жвачных.

Источником вируса чумы мелких жвачных являются как домашние, так и дикие мелкие жвачные животные, находящиеся в инкубационном и продромальном периодах болезни. Возбудитель из организма больных животных выделяется с секретами и экскретами и передается преимущественно аэрогенным, а также контактным и алиментарным путями. Вирус обнаруживается во всех выделениях с 3 по 22 день после заражения. Фактов вирусоносительства даже при экспериментальном заражении животных при чуме мелких жвачных не выявлено. Передача вируса чумы мелких жвачных на любые расстояния происходит с перемещенными животными (торговля и миграция). Считается, что при чуме мелких жвачных отсутствуют резервуары вируса вне популяции этих видов животных. Некоторые исследователи считают, что вирус чумы мелких жвачных животных может быть использован для биотерроризма. Экономический ущерб, наносимый чумой мелких жвачных козоводству и овцеводству, обусловлен гибелью животных, чаще всего ягнят и козлят, а также потерей продуктивности и затратами на проведение карантинных

мероприятий. Смертность в первичных очагах может достигать 100%, а на стационарно неблагополучных территориях - до 50% [16]. Известно, что первые признаки ящура в отарах овец и коз проявляется хромотой взрослых животных и массовой гибелью ягнят и козлят [14]. Вышеизложенное обусловило включение ящура в список инфекций, используемых при дифференциальной диагностике.

Результаты обследованных эпизоотических очагов болезни в большинстве стран свидетельствуют, что чаще всего вспышки ЧМЖ были обусловлены несанкционированным (неконтролируемым) ввозом инфицированных животных. Перемещение животных на большие расстояния может приводить к распространению заболевания в пределах стран и на территорию других стран. Занос вируса с зараженными продуктами животного происхождения принципиально возможен, особенно при нелегальном или преднамеренном распространении вируса (биотерроризм). Существует вероятность заноса вируса чумы мелкого рогатого скота с инфицированными транспортными средствами, используемыми для перевозки скота.

При эпизоотологических расследованиях путей заноса и механизмов передачи возбудителя ЧМЖ в ряде стран Африки и Азии были сделаны выводы, что чаще всего вирус проникал в страну (зону) следующим образом: ввоз зараженных овец и коз; занос вируса с зараженными продуктами (нелегально или легально), при ввозе мяса или мясных продуктов (или при биотерроризме); занос вируса с контаминированными предметами [11].

В Алжире большинство случаев заноса вируса ЧМЖ произошло при неконтролируемом перемещении животных через границу, главным образом сухопутным транспортом. Вирус ЧМЖ может передаваться с инфицированными предметами, в которых вирулентный возбудитель сохраняется в течение 2-3 суток. Впервые чума мелких жвачных в Индии была зарегистрирована в 1987 году. Уровень смертности больных животных достигал 98% [2]. В Пакистане заболевание мелкого рогатого скота чумой мелких жвачных было обнаружено в 1991 году. В 1995 году при выяснении этиологии массовой гибели овец и коз в Иране был выделен вирус чумы мелких жвачных. Инфекция эндемична и в течение последних 6 лет регистрируется более 1000 вспышек (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика эпизоотической ситуации по ЧМЖ в Исламской Республике Иран

Годы	Количество вспышек
2011	2349
2012	2056
2013	1846
2014	1376

Болезнь ежегодно регистрируется в провинциях, граничащих с Арменией, Азербайджаном и Туркменией. По косвенным данным вспышки заболевания мелкого рогатого скота в середине 1990-х годов в Афганистане были вызваны вирусом чумы мелких жвачных. В Ираке первые вспышки чумы мелких жвачных были диагностированы в 2000 году [6,7].

В Турции, практикующей кочевое и полукочевое скотоводство, впервые заболевание чумой мелкого рогатого скота было обнаружено в 1992 году на территории Юго-Восточной Анатолии. В пораженных стадах заболевало более 85% овец и более 90% коз. Летальность среди овец составляла 6-30%, а среди коз – 32-80%. С 1997 года Турция эндемична по чуме мелких жвачных. Крупные сезонные перемещения животных сопровождаются двойной сезонной миграцией, что способствует распространению инфекции. В Турции очень часто регистрировались смешанные инфекции в том числе: ЧМЖ + пестивирусные инфекции, ЧМЖ + оспа овец и коз; ЧМЖ + блютанг; ЧМЖ+ бактериальные инфекции. Очаги инфекции были зарегистрированы в местах расположения зимних отгонных пастбищ, в регионах, граничащих с Грузией и Арменией.

В приграничных с Афганистаном районах Хотлонской области Республики Таджикистан в период с 1995 по 2005 гг. регистрировалась гибель 20-50% овец и коз, в том числе ягнят и козлят, вызванная чумой мелких жвачных. Болезнь регистрировалась преимущественно в крупных высокогорных хозяйствах [5]. В некоторых отарах отмечалась циркуляция вируса среди около 80% животных. На протяжении нескольких лет ЧМЖ регистрировалась только на территории Хотлонской области, вероятно из-за прекращения перегона животных на летние пастбища, расположенные в районах Центрального Таджикистана. К концу 2003 года периодически инфекция диагностировалась во всех районах области [2]. С апреля 2004 года были выявлены заболевания чумой мелких жвачных животных мелкого рогатого скота на территории районов Центрального Таджикистана. При выяснении источника инфекции было установлено, что клинические признаки заболевания и гибели животных появились после завоза коз и южных приграничных с Афганистаном районов Хотлонской области.

В 2004году клинические признаки ЧМЖ были зарегистрированы в 7 районах Хотлонской области (26 очагов), 1 районе Горно-Бадахшанской автономной области (1 очаг) и 1 районе Центрального Таджикистана (6 очагов). Клинические признаки заболевания были обнаружены у 7,1 тысяч овец, из которых пало и вынужденно убито 2,9 тысячи животных. Клинические признаки ЧМЖ были выявлены у 11955 коз, из них пало и вынужденно убито более 8,1 тысяч голов. В декабре 2004 года пробы, отобранные из всех районов Таджикистана, были отправлены в референтную лабораторию МЭБ во Франции для исследования на чуму мелких жвачных животных. При лабораторном исследовании проб патологического материала был обнаружен вирус чумы мелких жвачных [2]. В это же время

были зарегистрированы случаи заболевания овец и коз чумой мелких жвачных на территории Нарынской, Ошской и других областей Кыргызской Республики [7].

На протяжении 2005-2009 года чума мелких жвачных получила широкое распространение во многих районах Таджикистана и протекала в острой форме с явными клиническими признаками и характерными патологоанатомическими изменениями. В 2013-2014 годах чума мелких жвачных регистрировалась на территории многих районов Таджикистана. Анализ результатов обследования очагов инфекции убедительно свидетельствует, что козы более чувствительны к вирусу ЧМЖ. В ряде проб патологического материала наряду с возбудителем ЧМЖ были выявлены хламидии [6].

В 2003 году в южной части (Алматинская, Жамбыльская и Южно-Казахстанская области) Казахстана были зарегистрированы вспышки массовых заболеваний и гибели мелкого рогатого скота[2]. Проводившие обследование очагов инфекции ветеринарные специалисты предположили, что занос возбудителя произошел с завезенным инфицированным МРС из сопредельной страны. В результате проведенных лабораторных исследований из проб патологического материала, отобранного от больных овец из Южно-Казахстанской области, был выделен высоковирулентный вирус (штамм Кентау) чумы мелких жвачных, который относится к 4-ой генетической линии. В июне-июле 2014 года в Жамбыльской и Южно-Казахстанской областях Казахстана были зарегистрированы вспышки чумы мелких жвачных животных. Выделенные изоляты вируса были на 99,5-99,7% идентичны возбудителям, выделенным в 2014 году в провинции Хэйлудзян в Китае. В Китайской Народной Республике вспышки чумы мелких жвачных были зарегистрированы в 2007, 2008 и 2010 гг. на территории Тибета. В декабре 2013 года в провинции Синьдзян на границе с Казахстаном и Киргизской Республикой была зарегистрирована вспышка чумы мелких жвачных. По данным филогенетического анализа возбудитель, выделенный в Китае, был идентичен вирусу из Таджикистана. Китайские специалисты считают, что вирус ЧМЖ в Китай проник из Таджикистана. Последующие массовые вспышки болезни были вызваны интенсивным перемещением животных перед китайским новым годом. С декабря 2013 г. было зарегистрировано 33500 вспышек ЧМЖ, 14700 животных погибло, 56300 голов мелкого рогатого скота было уничтожено.

Клиническая картина, наблюдаемая у овец и коз, зараженных вирусом ЧМЖ, аналогична клинической картине, регистрируемой у КРС зараженным вирусом чумы крупного рогатого скота [1]. Чаще всего у овец и коз регистрируется острая форма чумы мелких жвачных животных, характеризующаяся внезапным повышением температуры тела, пик которой превышает нормальную температуру на 2,0-2,5°С. У больных животных развивается гиперемия слизистых оболочек глаз и носа, отмечаются выделения из носа и рта. В это же время происходит снижение на 60-80% концентрации циркулирующих лейкоцитов и развивается лейкопения. Уровень лейкоцитов в крови остается низким (около 20% от нормы) и восстанавливается при выздоровлении реконвалесцентов. Снижение уровня лейкоцитов и генерализованная иммунодепрессия, продолжающаяся в течение длительного времени, приводит к развитию вторичных инфекций. Многие исследователи считают, что вирус чумы мелких жвачных является главным образом лимфотропным, а эпителиальная ткань вовлекается только на поздних стадиях инфекции. При проведении диагностических исследований исключаются ящур, блютанг, контагиозная эктима и другие заболевания с везикулярным синдромом. Диагноз на ЧМЖ считается установленным, если в пробах патологического материала от больных или подозреваемых в заболевании животных с клиническими признаками болезни обнаружен и идентифицирован вирус ЧМЖ, его антиген или РНК, не связанные с вакцинным вирусом, а также, если эти животные эпизоотологически связаны с подтвержденным очагом ЧМЖ или у них выявлены специфические к возбудителю ЧМЖ антитела, не связанные с предшествующей их вакцинацией.

В данном сообщении приведен анализ данных о заболевании домашних овец и коз, а также сайгаков чумой мелких жвачных в Монголии. Оценку эпизоотологической характеристики вспышек чумы мелких жвачных проводили с использованием баз данных МЭБ (http://www.oie/int/wahis_2/public/wahidphp/country information/reporting), а также с этой целью были использованы сведения, изложенные в средствах массовой информации.

Первая вспышка чумы мелких жвачных у овец и коз произошла на территории аймака Ховд (юго-запад Монголии) в августе 2016 года. Ветеринарные специалисты и владельцы животных считают, что инфекция была занесена из Китая. Погибло несколько тысяч овец и коз. В районах, охваченных эпизоотией, была проведена вакцинация и установлен карантин. В ноябре 2016года карантин был отменен. Характеристика эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных среди овец и коз в аймаке Ховд приведена в таблице 2.

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что в августе-ноябре 2016 года в аймаке Ховд чумой мелких жвачных заболело 4998 коз (10,74%) и 1152 овец (16,8%).

Традиционно на территории аймака Ховд регистрировались стада сайгаков. По данным природоохранных организаций в 2016 году в Монголии обитало более 10000 сайгаков. Сайгаки выпасались на одних и тех же пастбищах и имели общие источники водопоя с сельскохозяйственными животными. В ноябре 2016года карантин был отменен, а через месяц начался падеж сайгаков. Падеж сайгаков был зарегистрирован в котловине больших озер в границах девяти сомонов аймаков Ховд и Гоби-Алтай. Этой территорией ограничивается практически весь современный ареал обитания Монгольского сайгака. Официально первый случай за-

Таблица 2

Характеристика эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных в аймаке Ховд

Дата	Животные	Количество животных				
		Всего	Заболело	%	Пало	% *
16.08.16	Козы	397	32	8,1	0	0
	Овцы	254	17	6,7	0	0
16.08.16	Козы	7362	1199	16,3	7	0,09
	Овцы	2783	475	17,1	2	0,07
04.09.16	Козы	1226	186	15.2	2	0,03
	Овцы	325	36	11,1	2	0,6
06.09.16	Козы	689	69	10	4	0,6
	Овцы	143	28	19,6	1	0,7
06.09.16	Козы	193	7	3,6	1	0,5
	Овцы	88	4	4,5	1	1,1
06.09.16	Козы	660	58	8,8	4	0,6
	Овцы	49	0	0	1	2,0
07.09.16	Козы	661	6	0,9	0	0
	Овцы	921	2	0,2	4	0,4
14.09.16	Козы	1180	115	9,7	0	0
	Овцы	536	79	14,7	0	0
20.09.16	Козы	9874	1906	19,3	4	0,04
	Овцы	1330	300	22,6	1	0,08
15.11.16	Козы	479	479	100	30	6,3
	Овцы	80	41	51,3	7	8,8
15.11.16	Козы	1114	941	84,5	173	15,5
	Овцы	350	170	48,6	35	10
Всего	Козы	46556	4998	10,74	225	4,5
	Овцы	6859	1152	16,8	54	4,7

Примечание: *– % от числа заболевших животных.

болевания сайгаков чумой мелких жвачных в Монголии был зарегистрирован 2 января 2017 года. Трупы сайгаков были сожжены. В последующем также обнаруживались трупы сайгаков. В этих сомонах овцы и козы были вакцинированы против ЧМЖ. С декабря 2016 года до середины февраля 2017 года массовая гибель сократила популяцию монгольского подвида сайгака вдвое. Специалисты по охране дикой природы считают, что погибло более 5 тысяч сайгаков. Наряду с трупами сайгаков находили также трупы таких диких жвачных, как джейраны (Gazelle subguturosa), архаров (Ovis ammon) и сибирских козерогов (Siberian ibex).По данным природоохранной компании Gogo Mongolia на 09.02.2017 среди трупов, погибших сайгаков было 70% молодняка, 27,8% самцов и 1,3% самок. В таблице 3 приведена характеристика эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных сайгаков (Saiga tatarica mongolica) на территории аймаков Ховд и Гоби-Алтай Монголии [9].

Представленные в таблице 3 данные свидетельствуют о том, что на территории аймака Ховд были обнаружено и уничтожено 3074 трупов, а на территории аймака Гоби-Алтай -1959 трупов сайгаков. Всего на территории девяти сомонов из двух аймаков было обнаружено и уничтожено 5033трупа сайгаков. В пробах патологического материала отобранных от трупов павших сайгаков был обнаружен вирус чумы мелких жвачных. Установить количество заболевших чумой мелких жвачных сайгаков установить не удалось, что всегда отмечается среди диких животных. В феврале и в августе 2017 года в природном парке, расположенном на территории двух сомонов аймака Гоби-Алтай Монголии были обнаружены трупы джейранов

Таблица 3

Характеристика эпизоотического процесса при чуме мелких жвачных у сайгаков в аймаках Ховд и Гоби-Алтай Монголии

Дата обнаружения	Аймаки	Количество павших сайгаков
20.12.2016	Ховд	3074
19.01.2017	Гоби-Алтай	1959
Всего		5033

(Gazelle subguturosa), архаров (Ovis ammon) и сибирских козерогов (Siberian ibex). В пробах патологического материала, отобранных от трупов павших животных, был обнаружен вирус чумы мелких жвачных.

Заключение. Анализ данных, представленных МЭБ и в научных публикациях, свидетельствует, что на территории многих стран, с которыми у Российской Федерации существуют торгово-экономические отношения, регистрируются случаи заболевания сельскохозяйственных (овцы и козы) и диких (сайгаки, джейраны, архары, сибирские козероги) жвачных животных. Приведенные факты показывают, что занос (завоз) вируса чумы мелких жвачных животных в ранее благополучные страны происходит с инфицированными животными с неблагополучных территорий. В августе 2016 года на территории аймака Ховд (юго-запад Монголии) были зарегистрированы случаи заболевания овец и коз чумой мелких жвачных. Ветеринарные специалисты и владельцы животных считают, что возбудитель ЧМЖ был занесен из Китая. В августе-ноябре 2016 года в аймаке Ховд чумой мелких жвачных животных заболело 4998 коз (10,74%) и 1152 овец (16,8%). Представленные данные свидетельствуют, что постоянно существует угроза заноса возбудителя ЧМЖ на территорию Дальневосточного, Сибирского, Приволжского, Северо-Кавказского и Южного федерального округов из неблагополучных по этой инфекции стран.

Литература

1. Алехин, А.Ф., Мищенко В.А. Особенности течения чумы среди крупного рогатого скота, выпасающегося на отгонном пастбище / А.Ф.Алёхин, В.А.Мищенко // Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии: материалы науч. конф. ВНИИВВиМ. – Покров, 1992. – С. 151–152.

2. Генетическая характеристика возбудителя, эпизоотология и специфическая профилактика чумы мелких жвачных / А.М.Аноятбекова [и др.] // Российский ветеринарный журнал (сельскохозяйственные животные). – 2015. – № 4. – С. 36–38.

3. Чума мелких жвачных животных (современное состояние, эпизоотология, специфическая профилактика и меры борьбы) / Н.И.Закутский, В.М.Балышев, А.В.Книзе [и др.] // Научный журнал КубГАУ. – 2012. – № 83 (09). – С. 17.

4. Инфекция вирусом чумы мелких жвачных животных // Кодекс здоровья наземных животных МЭБ. – 2016. – С. 717-729.

5. Анализ эпизоотической ситуации и моделирование потенциалов нозоареалов оспы и чумы мелких жвачных животных до 2020 г. / А.В.Книзе, М.В.Болгова, С.В.Парилов [и др.] // Ветеринарный врач.– 2016. – № 1. – С. 11-16.

6. Мониторинг мировой эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных животных и прогноз ее распространения в 2015-2018 гг. / А.В.Книзе, С.В.Парилов, М.В.Болгова [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2014. – № 4 (24). – С. 15-20.

7. Мониторинг по вирусным инфекциям животных на территории Республики Таджикистан и Кыргызской Республики в 2014 г. / Ж.К.Кошеметов [и др.] // Вестник КрасГАУ. – 2016. – № 3. – С. 171-179.

8. Эпизоотологическая ситуация и меры борьбы по чуме мелких жвачных животных в мире и на территории Республики Таджикистан / Э.К.Кошеметов, А.Р.Сансызбаев, И.Саттори [и др.] // Доклады ТАСХН. – 2014. – № 4. – С. 30-38.

9. Луницин, А.В. Чума мелких жвачных животных / А.В.Луницин, А.Е.Гогин, П.В.Ильясов // Ветеринария. – 2017. – № 5. – С. 3-9.

10. Массовая гибель сайгаков в Монголии // Степной бюллетень. – 2017. – № 49. – С. 5.

11. Эпизоотическая ситуация по чуме мелких жвачных в странах Средней Азии / Д.М.Мирзоев, А.О.Абдуллоев, А.А.Коломыцев [и др.] // Вестник КрасГАУ. – 2014. – № 6. – С. 222-225.

12. Мищенко, А.В. О путях распространения и механизмах передачи вируса ящура / А.В.Мищенко, В.А.Мищенко // Ветеринария. – 2015. – № 1. – С. 19-22.

13. О роли диких жвачных животных в распространении ящура / А.В.Мищенко, В.А.Мищенко, Н.А.Яременко [и др.] // Ветеринария. – 2012. – № 11. – С. 3-5.

14. Проблема клинической диагностики ящура у овец и коз / А.В.Мищенко, В.А.Мищенко, В.Н.Шевкопляс [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2016. – № 6. – С. 8-10.

15. Проблема массовой гибели сайгаков / А.В.Мищенко, В.А.Мищенко, А.К.Караулов [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2016. – № 4 (19). – С. 40- 45.

16. Чума мелких жвачных животных / А.В.Мищенко, В.А.Мищенко, В.П.Мельников [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 9. – С. 3-9.

17. Проблема вирусных инфекций у диких жвачных животных / В.А.Мищенко, В.В.Думова, А.В.Мищенко [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2011. – № 5. – С. 8-9. (13)

18. Инфекционная патология животных: в 2 Т. Т 1 / под ред. А.Я.Самуйленко [и др.]. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – С. 251-263.

19. О путях распространения и механизмах передачи вируса чумы мелких жвачных животных / О.Ю.Черных, А.В. Мищенко, В.А.Мищенко [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2016. – № 4. – С. 7-9.

EPISOTIC CHARACTERISTICS OF SMALL RUMINANTS PEST

[1]Mishchenko A.V. – Candidate of Veterinary Sciences; [1]Mishchenko V.A. – Doctor of Veterinary Sciences, professor; [2]Chernykh O.Yu. – Doctor of Veterinary Sciences, professor; [3]Shevkoplyas V.N. – Doctor of Veterinary Sciences, professor; [4]Krivonos R.A. – Candidate of Veterinary Sciences; [5]Lysenko A.A. – Doctor of Veterinary Sciences, professor; [6]Chernov A.N. – Doctor of Biological Sciences.

[1]Federal Centre for Animal Health («ARRIAH»), Vladimir (e-mail: mischenko@arriah.ru).
[2]Kropotkin Regional Veterinary Laboratory, Kropotkin (e-mail: gukkvl50@kubanvet.ru).
[3]Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I.Skryabin, Moscow (e-mail: shevkoplyasvn@gmail.com).
[4]State Veterinary Administration of the Krasnodar region, Krasnodar, Russia (350020, Krasnodar, Rashpilevskaya str., 36), e-mail: sinkubani@mail.ru
[5]Kuban State Agrarian University named after I.T.Trubilin, Krasnodar (e-mail: vet.kubgau@mail.ru).
[6]Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnivi@mail.ru).

This article presents the literature data analyzes and OIE reports on the epizootic situation of small ruminants pest in the territory of countries with which the Russian Federation has trading and economic links, as well as the information on the epizootic features of this disease, resistance of the pathogen in environment and infected products. The paper briefly contains information on the properties of the small ruminants pest virus. Data on the suspected pathways of the introduction of the small ruminants pest virus into the territory of the Russian Federation and the mechanisms of the pathogen propagation are presented. The article also presents the detailed description of the epizootic situation of ovine and caprine pest among small cattle (sheep and goats) in Hovd of Mongolia aimak, as well as a detailed analysis of the epizootic situation of pest in saigas (Saiga tatarica mongolica) in the Hovd and Gobi-Altai aimaks of Mongolia. On the territory of these aimaks of Mongolia the death of gazelles (Gazelle subguturosa), argali (Ovis ammon) and Siberian ibex (Siberian ibex) from small ruminants pest was recorded. In wild animals, the diagnosis of infectious diseases, including small ruminants pest, is considerably hampered due to the technical difficulties in detecting corpses and the rapid decomposition of corpses of dead animals.

KEYWORDS: sheep, goats, saigas, small ruminants pest.

References

1. Alekhin, A.F. Osobennosti techeniya chumy sredi krupnogo rogatogo skota, vypasayuschegosya na otgonnom pastbische [Features of the rinderpest pathogenesis in cattle on the pastures] / A.F.Alekhin, V.A.Mischenko // Voprosy veterinarnoy virusologii, mikrobiologii i epizootologii: materialy nauchnoy konferentsii VNIIVViM. – Pokrov, 1992. – P. 151-152.

2. Geneticheskaya kharakteristika vozbuditelya, epizootologiya i spetsificheskaya profilaktika chumy melkikh zhvachnykh [Genetical characteristics of causative agent, epizootology and specific prophylaxis of small ruminants pest] / A.M.Anoyatbekova [et al.] // Rossiyskiy veterinarny zhurnal (selskokhozyaystvennye zhivotnye). – 2015. – № 4. – P. 36-38.

3. Chuma melkikh zhvachnykh zhivotnykh (sovremennoe sostoyanie, epizootologiya, spetsificheskaya profilaktika i mery borby) [Small ruminants pest: modern situation, epizootology, specific prophylaxis and control measures] / N.I.Zakutskiy, V.M.Balyshev, A.V.Knize [et al.] // Nauchny zhurnal Kubanskiy GAU. – 2012. – № 83 (09). – P. 17.

4. Infektsiya virusom chumy melkikh zhvachnykh zhivotnykh [Infection by virus of small ruminants pest] // Kodeks zdorovya nazemnykh zhivotnykh MEB [OIE Terrestrial Code]. – 2016. – P. 717-729.

5. Analiz epizooticheskoy situatsii i modelirovanie potentsialov nozoarealov ospy i chumy melkikh zhvachnykh zhivotnykh do 2020 g. [Analysis of epizootic situation and modelling of nosoareals of pox and pest of small ruminants till 2020] / A.V.Knize, M.V.Bolgova, S.V.Parilov [et al.] // Veterinarny vrach. – 2016. – № 1. – P. 11-16.

6. Monitoring mirovoy epizooticheskoy situatsii po chume melkikh zhvachnykh zhivotnykh i prognoz ee rasprostraneniya v 2015-2018 gg. [Monitoring of global epizootic situation of small ruminants pest and prognosis of its spreading in 2015-2018] / A.V.Knize, S.V.Parilov, M.V.Bolgova [et al.] // Aktualnye voprosy veterinarnoy biologii [Actual problems of veterinary biology]. – 2014. – № 4 (24). – P. 15-20.

7. Monitoring po virusnym infektsiyam zhivotnykh na territorii Respubliki Tadzhikistan i Kyrgyzskoy Respubliki v 2014 g. [Monitoring of animal viral infections in the territory of the Republic of Tajikistan and the Kyrgyzstan Republic in 2014] / Zh.K.Koshemetov [et al.] // Vestnik Krasnodar GAU. – 2016. – № 3. – P. 171-179.

8. Epizootologicheskaya situatsiya i mery borby po chume melkikh zhvachnykh zhivotnykh v mire i na territorii Respubliki Tadzhikistan [Epizootologic situation and control measures against small ruminants pest in the world and in the territory of Tajikistan Republic] / E.K.Koshemetov, A.R.Sansyzbaev, I.Sattori [et al.] // Doklady Tadzhikistan Akad. Selkhoz nauk. – 2014. – № 4. – P. 30-38.

9. Lunitsin, A.V. Chuma melkikh zhvachnykh zhivotnykh [Small ruminants pest] / A.V.Lunitsin, A.E.Gogin, P.V.Ilyasov // Veterinariya. – 2017. – № 5. – P. 3-9.

10. Massovaya gibel saygakov v Mongolii [Mass death of saigas in Mongolia] // Stepnoy bulletin. – 2017. – № 49. – P. 5.

11. Epizooticheskaya situatsciya po chume melkikh zhvachnykh v stranakh Sredney Azii [Epizootologic situation of small ruminants pest in countries of Middle Asia] / D.M.Mirzoev, A.O.Abdulloev, A.A.Kolomytsev [et al.] // Vestnik Krasnodar GAU. – 2014. – № 6. – P. 222-225.

12. Mischenko, A.V. O putyakh rasprostraneniya i mekhanizmakh peredachi virusa yaschura [On ways of spreading and the mechanisms of transmission of the foot and mouth disease virus] / A.V.Mischenko, V.A.Mischenko // Veterinariya. – 2015. – № 1. – P. 19-22.

13. O roli dikikh zhvachnykh zhivotnykh v rasprostranenii yaschura [About the role of wild ruminants in the spread of foot and mouth disease] / A.V.Mischenko, V.A.Mischenko, N.A.Yaremenko [et al.] // Veterinariya. – 2012. – № 11. – P. 3-5.

14. Problema klinicheskoy diagnostiki yaschura u ovets i koz [The problem of clinical diagnosis of foot and mouth disease in sheep and goats] / A.V.Mischenko, V.A.Mischenko, V.N.Shevkoplyas [et al.] // Veterinariya Kubani. – 2016. – № 6. –P. 8-10.

15. Problema massovoy gibeli saygakov [The problem of mass death of saigas] / A.V.Mischenko, V.A.Mischenko, A.K.Karaulov [et al.] // Veterinariya segodnya. – 2016. – № 4 (19). – P. 40-45.

16. Chuma melkikh zhvachnykh zhivotnykh [Small ruminants pest] / A.V.Mischenko, V.A.Mischenko, V.P.Melnikov [et al.] // Veterinariya. – 2016. – № 9. – P. 3-9.

17. Problema virusnykh infektsiy u dikikh zhvachnykh zhivotnykh [The problem of viral infections in wild ruminants] / V.A.Mischenko, V.V.Dumova, A.V.Mischenko [et al]. // Veterinariya i kormlenie. – 2011. – № 5. – P. 8-9.

18. Infektsionnaya patologiya zhivotnykh: V 2 T. T. 1 [Infectious pathology of animals: In 2 Volums. Vol.1] / pod red. A.Ja.Samuylenko [et al.]. – M.: IKC «Akademkniga», 2006. – P. 251-263.

19. O putyakh rasprostraneniya i mekhanizmakh peredachi virusa chumy melkikh zhvachnykh zhivotnykh / O.Yu. Chernykh, A.V.Mischenko, V.A.Mischenko [et al] [On ways of spreading and mechanisms of transmission of small ruminants pest virus] // Veterinariya Kubani. – 2016. – № 4. – P. 7-9.

УДК.619:616.98:579.842.14:636.4.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ СРЕДСТВ С ЦЕЛЬЮ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

***М.О.Баратов** – доктор ветеринарных наук, гл.н.с.*

ФГБНУ «Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт», г.Махачкала (367000, Дагестан, Махачкала, ул.Дахаева,88; тел. +7 (722) 68-27-01, e-mail: pznivi@bk.ru).

В настоящей работе изучена возможность повышения поствакцинального иммунитета некоторыми иммуностимулирующими препаратами (продигиазана, метилурацила, Т- и В-активина). Опыты проведены на 50 поросятах-аналогах 20-дневного возраста в свинокомплексе с системой непрерывного опороса, где систематически наблюдается падеж поросят на фоне снижения иммунобиологического статуса. Проведенные гематологические и иммунологические исследования показали наличие иммунодефицитных состояний у поросят 2-х месячного возраста, связанное с распадом материнских иммуноглобулинов и затяжным переходом к синтезу собственных. Результативность специфической профилактики была низкая. Иммунизированным формол-вакциной порося-

там вводили Продигиозан 2-х кратно с интервалом 7 дней, Метилурацил, ежедневно, перорально в течение недели (7дней), Т-активин, подкожно 3-х кратно с интервалом 2 дня, В-активин, 2-х кратно, подкожно, через 5-10 дней после иммунизации. У поросят с интервалом 5 дней в течение 30 дней отбирали кровь для определения титров специфических антител. Наличие антител определяли в РНГА с сальмонеллезным О-эритроцитарным диагностикумом. По результатам проведенных исследований, низкий стимулирующий поствакцинальный иммуногенез, показали препараты Продигиазан, Метилурацил и Т-активин и сравнительно высокую В-активин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сальмонеллез, поросята, иммунитет, поствакцинальный, иммунодефицитное состояние, антитела, вакцинопрофилактика, иммуноглобулины, противосальмонеллезные антитела.

Сальмонеллез в свиноводческих комплексах по-прежнему представляет серьезную опасность, вызывая большой экономический ущерб. Кроме того, являясь антропозоонозом, болезнь имеет огромное эпидемиологическое значение. Связано это с недостаточными знаниями о формировании и функционировании иммунной системы, как регулятора генетической целостности организма, на протяжении всей индивидуальной жизни, в условиях интенсивной технологии выращивания свиней. В промышленных комплексах участились случаи заболевания и гибели поросят от сальмонеллеза, несмотря на проводимую вакцинопрофилактику.

В этой связи, возникла практическая необходимость исследований, направленных на выявление причин низкой эффективности мер специфической профилактики и поиска более совершенных средств и методов вакцинации. Без учета данной специфики невозможно добиться успехов в решение ветеринарных задач.

Поэтому изучение особенностей функционирования системы иммунитета у свиней, в том числа, в связи с вакцинопрофилактикой сальмонеллеза, имеет практический и научный интерес и является весьма актуальным.

Цель работы. Изучить возможности применения ряда иммуностимулирующих средств, для повышения активности поствакцинального иммуногенеза, а также исследования некоторых иммунобиологических показателей у поросят, выращиваемых по интенсивной технологии.

Материалы и методы. В опыте использовали 90 поросят от 10 до 65 дневного возраста. Активность гуморального иммунитета изучали в 3-х возрастных группах: 1-я группа – 10-20 дней; 2-я – 35-40 дней; 3-я группа – 60-65 дней. Титры агглютининов к сальмонеллезным О-эритроцитарным антигенам в сыворотке крови, изучали в реакции непрямой гемагглютинации на 50 поросятах 20 сут возраста (пять групп по 10 поросят).

Кровь брали утром в одни и те же часы (до кормления и водопоя), после отдыха и успокоения животного. Для предупреждения свертывания крови использовали антикоагулянт (на 10 мл крови), щавелевокислый натрий (калий) – 0,01-0,02 г. Антикоагулянт вносили в пробирку, в которую затем собирали кровь и тщательно смешивали. Для получения плазмы, стабилизированную кровь наливали в пробирку и центрифугировали в течение 10 мин при 1,5-2,0 тыс. оборотов в минуту, прозрачную жидкость – плазму, отсасывали и переносили в другую пробирку.

Для получения сыворотки, кровь ставили сначала в теплое место (на 15-20 мин), а потом в холодное. Образовавшийся сгусток отделяли от стенок сосуда стеклянной палочкой. Полученную сыворотку осторожно отсасывали.

Реакцию оседания эритроцитов (РОЭ) определяли не позже двух часов после взятия крови, по методу Панченкова. Гемоглобин определяли гемометром (ГС-2) Сали.

Подсчет количества эритроцитов производили в камере Горяева.

Лейкоцитарную формулу определяли в окрашенных мазках крови по Романовскому-Гимза.

Определение лейкоцитарного профиля. Для более точного и полного суждения об изменениях в лейкоцитарном составе крови определяли лейкоцитарный профиль, который выражает абсолютное содержание отдельных форм лейкоцитов в 1 мм^3 крови. С этой целью подсчитывали общее количество лейкоцитов в 1 мм^3 крови и выводили лейкоцитарную формулу. Затем количество лейкоцитов умножали последовательно на процент каждого вида клеток лейкоцитарной формулы и делили на 100.

Результаты исследований. Опыты проводили в свинокомплексе «Рассвет» Тарумовского района Республики Дагестан. В связи с тем, что у поросят в комплексе нередко отмечается нарушение функционирования жизненно важных систем, представлялось целесообразным вначале изучить клинико-гематологические и некоторые иммунологические показатели. В таблице 1 приведены результаты гематологических исследований.

Полученные данные указывают на то, что у поросят показатели гематокрита, гемоглобина и эритроцитов в возрасте 15-20 и 35-40 дней не имели статистически достоверных отличии (P>0,05). Обращает на себя внимание низкое содержание гемоглобина в возрасте 35-40 дней, при относительно нормальных показателях гематокрита и эритроцитов.

Количество лейкоцитов у поросят группы 1 и 2 существенно отличались с высокой степенью достоверности, и составляло соответственно 11,4 и 29,9 млрд./л.

Изучение лейкоформулы свидетельствовало о достоверном снижении с возрастом относительного количество лимфоцитов и увеличение количество палочкоядерных нейтрофилов. Показатели лимфоцитов 1 и 2 группы составили 50,4 и 35,3%, палочкоядерных нейтрофилов 6,1 и 19,2%, соответственно. Остальные показатели лейкоформулы у опытных поросят не имели достоверных отличий. Следует,

отметит низкое количество сегментоядерных нейтрофилов в крови поросят 7,3 и 12,1%.

Важным показателем активности гуморального иммунитета является уровень иммуноглобулинов (I) сыворотки крови. Количество иммуноглобулинов (I G, I M), определяли в реакции радиальной иммунодиффузий по Мончини, в равномерном слое 0,15% агарового геля, содержащего моноспецифическую антисыворотку к иммуноглобулинам свиньи соответствующего класса. Эти показатели определяли у поросят 3-х возрастных групп, в возрасте 15-20; 35-40; и 60-65 дней. Результаты опыта представлены в таблице 2.

Таблица 1

Результаты гематологических исследований поросят

Показатель	Контроль	Возраст поросят, в днях	
		15-20 (1-гр)	35-40(2-гр)
Эритроциты, 10^{12} /л	5,9±0,11	5,6±0,67	5,8±0,23
Лейкоциты, 10^{9} /л	13,2±0,69	11,4±0,44	29,9±0,26
Гемоглобин, г/л	97,6±0,69	85,3±0,25	54,8±1,23
СОЭ, мм/час	3,3±0,10	3,1±0,17	3,5±0,37
Нейтрофилы, % палочкоядерные	3,8±0,20	6,1±0,5	19,2±0,8
Нейтрофилы, % сегментоядерные	18,7±0,56	7,3±0,12	12,1±0,45
Эозинофилы, %	3,4±0,30	3,1±0,39	3,5±0,69
Базофилы, %	-		
Моноциты, %	5,6±0,20	5,1±0,40	5,4±0,61
Лимфоциты, %	54,5±4,90	50,4±1,39	35,3±0,81

Таблица 2

Показатели гуморального иммунитета

Группа (n=10)	Иммуноглобулины I, г/л	
	I G	I M
Контрольная	16,9±0,12	1,34±0,2
Опытная (возраст 10-20 дней)	12,3±0,18	1,01±0,5
Опытная (возраст 35-40 дней)	8,4±0,72	0,81±0.10
Опытная (возраст 60-65 дней)	14,5±1,2	0,7±0,24

Полученные данные указывают на то, что с возрастом количество I G достоверно снижается до определенного момента, а затем постепенно повышается. Так у поросят 1, 2, и 3 группы, эти показатели составили 12,3±0,18; 8,4±0,72 и 14,5±1,2 г/л, соответственно.

Результаты изучения уровня I M свидетельствуют, что у растущих поросят количество их до 2-х месячного возраста постепенно снижается, причем примерно до 40 дневного возраста этот процесс протекает более интенсивно. Полученные результаты совпадают с данными литературы, констатирующими факт наличия возрастных физиологических иммунодефицитных состояний у поросят, обусловленных естественным распадом иммуноглобулинов, полученных от свиноматок и переходом к синтезу собственных.

В исследуемом хозяйстве на протяжении ряда лет отмечалось повышение заболеваемости и гибель поросят от сальмонеллеза. Специфическая профилактика была неэффективной. Приведенные выше результаты исследования в определенной степени указывают на функциональную недостаточность защитных систем организма поросят. Это послужило основанием для поиска средств активизирующих поствакцинальный иммуногенез у поросят.

С целью экспериментального изучения возможности стимуляции иммунитета, отобрали 5 групп поросят-аналогов, 20-дневного возраста. Всех животных иммунизировали формол-вакциной Гожульской биофабрики, согласно наставлению по применению. Поросятам 1 группы, вводили Продигиозан 2-х кратно с интервалом 7 дней, 2-й группы – метилурацил, ежедневно, перорально в течение недели (7дней), 3-й группы – Т-активин, подкожно 3-х кратно с интервалом 2 дня, 4-й группы – В-активин, 2-х кратно, подкожно, через 5-10 дней после иммунизации. Пятая группа служила контролем.

Помимо клинического наблюдения у поросят с интервалом 5 дней в течение 30 дней отбирали кровь для определения титров специфических антител. Наличие антител определяли в РНГА с сальмонеллезным О-эритроцитарным диагностикумом. В таблице 3 представлены результаты исследования.

Таблица 3

Титры агглютининов к сальмонеллезным О – эритроцитарным антигенам в сыворотке крови поросят в РНГА

Группа (n =10)	Титры антител к антигенам					
	Возраст, дни					
	20	25	30	35	40	45
Опытная	1:63±1,30	1:62±0,20	1:57±1,2	1:60±0,56	1:44±1,60	1:54±0,79
Продигиазан	1:52±0,23	1:58±1,27	1:59±0,78	1:57±0,89	1:61±0,95	1:56±0,51
Метилурацил	1:43±0,64	1:48±1,24	1:47±1,45	1:50±1,52	1:49±0,59	1:46±0,33
Т-активин	1:60±0,45	1:54±0,50	1:55±1,28	1:53±0,62	1:50±0,88	1:49±1,28
В-активин	1:56±0,16	1:58±0,40	1:74±1,2	1:82±0,71	1:87±0,13	1:88±0,83

Как видно из таблицы заметной разницы в динамике титров противосальмонеллезных антител поросят всех групп, за исключением 4 группы, не выявлено. У поросят 4 группы обработанных В-активином, титры антител в 35-45 дневном возрасте, достоверно были выше.

Обращает на себя внимание тот факт, что перед вакцинацией в 20-дневном возрасте у 76% поросят обнаруживали противосальмонеллезные антитела в крови в титрах 1:4-1:16. Это можно объяснить наличием у поросят колостральных (молозивных) антител, хотя уровень этих антител сам по себе весьма низкий, что может быт, объяснено несовершенством схемы вакцинации супоросных свиноматок, а также нарушением всасывания иммуноглубулинов в кишечнике новорожденных поросят, первые дни жизни.

Таким образом относительный эффект стимуляции был выявлен у поросят обработанных В-активином, что может быт использовано в свиноводческих хозяйствах для повышения иммунного статуса поросят-отъемышей.

Заключение. У поросят в хозяйстве при иммунизации формол-вакциной против сальмонеллеза свиней установлена сниженная гуморальная иммунная реакция.

При клинико-гематологических и иммунологических исследованиях поросят обнаружено недостаточное количество сегментоядерных нейтрофилов, а также выраженное снижение уровней I G и I M в 20-35 дневном возрасте.

Применение Продигиазана, Метилурацила и Т-активина не способствовало стимуляции поствакцинального иммуногенеза у поросят иммунизированных формол-вакциной против сальмонеллеза свиней.

В условиях комплекса, в связи с иммунодепрессией у поросят для достижения высокой эффективности вакцинопрофилактики возможно использование для иммуностимуляции В-активин.

В связи с хозяйственными трудностями обеспечения полноценных условий содержания и кормления молодняка свиней в комплексе, представляется целесообразным дальнейшее изыскание стимуляторов специфической и общей резистентности организма поросят.

С целью снижения экономического ущерба от сальмонеллеза и других инфекционных заболеваний, необходимо создать оптимальные условия содержания животных, а также обеспечить полноценное сбалансированное питание.

Литература

1. Ахмедов, А.М. Сальмонеллезы молодняка / А.М.Ахмедов. – М.: Колос, 1983. – 240 с.

2. Бакулов, И.А. Эпизоотология с микробиологией / И.А.Бакулов, В.А.Ведерников, А.Н.Семенихин; под ред. И.А.Бакулова. – М.: Колос, 2000. – 481 с.

3. Зависимость иммуносупрессивного действия липополисахарида от степени патогенности сальмонелл / Е.В.Борисова, В.М.Бондаренко, О.С.Моложавая, В.А.Борисов // Журнал Микробиологии Эпидемиологии и Иммунобиологии. – 2001. – № 1. – С. 40-43.

4. Бухарин, О.В. Сальмонеллы и сальмонеллезы / О.В.Бухарин, Ю.Д.Каган, А.Л.Бурмистрова. – Екатеринбург: Уро РАН, 2000. – 258 с.

5. Гайдамака, А.В. Исследование иммунологического статуса свиней в промышленном комплексе в связи с вакцинопрофилактикой сальмонеллеза: автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.В.Гайдамака. – Харьков, 1990. – 23 с.

6. Кленова, И.Ф. Ветеринарные препараты в России / И.Ф.Кленова, Н.А.Яременко. – М.: "Сельхозиздат", 2001. – 543 с.

7. Орешкин, А.С. Роль условно-патогенной микрофлоры в заболеваниях молодняка / А.С.Орешкин // Ветеринарная газета. – 2000. – № 20. – С. 4.

8. Раицкая, В.И. Как предотвратить падеж молодняка / В.И.Раицкая, Н.И.Шкиль // Ветеринарная газета. – 2002. – № 2. – С. 2.

9. Серегин, И.Г. Еще раз о профилактике сальмонеллеза у убойных животных / И.Г.Серегин, А.Л.Яцута // Мясная индустрия. – 2001. – № 1. – С. 43-46.

10. Сальмонеллез на комплексе / М.Сидоров, В.Субботин, Р.Корнелаева [и др.] // Свиноводство. – 1991. – № 3. – С. 29-30.

11. Справочник Видаль. Лекарственные средства ветеринарного назначения в России: справочник. – М.: Астра Фарм Сервис, 2001. – 528 с.

12. Научно-обоснованная система получения здорового молодняка и профилактики желудочно-кишечных болезней новорожденных телят (рекомендации) / В.В.Субботин, Н.С.Ивкин, Э.А.Шегидевич [и др.] // Ветеринарный консультант. – 2002. – № 19–20. – С. 2-4.

13. Salmonella typhimurium phage type DT 104 in Belgian livestok / H.Imberehts, M.De.Filette, C.Wray [et al.] // Veter. Rec. – 1998. – Vol. 143, № 15. – P. 424-425.

14. Urbanek, D. Zum Impfstoffeinsatz und Impfkalender in der Schweineproduktion / D.Urbanek, I.Koban // Monatshefte fur Veterinarmedizin. – 1988. – № 19/20. – P. 705-71.

STUDYING THE EFFICACY OF IMMUNOSTIMULATING AGENTS TO IMPROVE THE VACCINE PROPHYLAXIS OF PIG SALMONELLOSIS

Baratov M.O. – Doctor of Veterinary Sciences.

Caspian Zonal Research Veterinary Institute of Russian Academy of Agricultural Sciences, Mahachcala (e-mail: pznivi@bk.ru).

In the present work, the possibility of increasing postvaccinal immunity by some immunostimulating drugs (Prodigiazan, Methyluracil, T- and B-Activin) has been studied. Experiments were carried out on 50 pigs analogues of 20-day-old in a pig complex by a continuous farrowing system, where the cases of piglets mortality were systematically observed against the background of a decrease in the immunobiological status. Hematological and immunological studies have shown the presence of immunodeficient conditions in piglets of 2 months of age connected with the disintegration of maternal immunoglobulins and a protracted transition to the synthesis of their own. The resultiveness of specific prophylaxis was poorly effective. Using immunized form-vaccine the piglets were administered Prodigiozan 2 times with an interval of 7 days, Methyluracil, daily, orally for a week (7 days), T-activin, subcutaneously 3 times at intervals of 2 days, B-activin, 2-fold , subcutaneously, 5-10 days after immunization. Piglets were sampled blood at intervals of 5 days for 30 days to determine the titers of specific antibodies. The presence of antibodies was determined in the Indirect Hemagglutination Reaction with salmonella O - erythrocyte diagnosticum. According to the results of the studies, the weak stimulating post-vaccination immunogenesis was shown by the preparations, Prodigiazan, Methyluracil and T-Activin and comparatively high – by B-activin.

KEYWORDS: salmonellosis, piglets, immunity, postvaccinal, immunodeficiency state, antibodies, vaccine prophylaxis, immunoglobulins, antisalmonella antibodies.

References

1. Akhmedov, A.M. Salmonellezy molodnyaka [Salmonellosis of young animals] / A.M.Akhmedov. – M.: Kolos, 1983. – 240 p.

2. Bakulov, I.A. Epizootologiya s mikrobiologiey [Epizootology with microbiology] / I.A.Bakulov, V.A.Vedernikov, A.N.Semenikhin; edited by I.A.Bakulov. – M.: Kolos, 2000. – 481 p.

3. Zavisimost immunosupressivnogo deystviya lipopolisakharida ot stepeni patogennosti salmonell [Dependence of the immunosuppressive action of lipopolysaccharide on the degree of pathogenicity of Salmonella] / E.V.Borisova, V.M.Bondarenko, O.S.Molozhavaya, V.A.Borisov. // Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii. – 2001. –
№ 1. – P. 40-43.

4. Bukharin, O.V. Salmonelly i salmonellezy [Salmonella and salmonellosis]. O.V.Buharin, Yu.D.Kagan, A.L.Burmistrova. – Ekaterinburg: Uro RAN, 2000. – 258 p.

5. Gaydamaka, A.V. Issledovanie immunologicheskogo statusa sviney v promyshlennom komplekse v svyazi s vaktsinoprofilaktikoy salmonelleza: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [The study of the immunological status of pigs in the industrial complex in connection with the vaccine prophylaxis of salmonellosis: abstract from dissertation for Candidate of Biological Sciences] / A.V.Gaydamaka. – Harkov, 1990. – 23 p.

6. Klenova, I.F. Veterinarnye preparaty v Rossii [Veterinary preparations in Russia] / I.F.Klenova, N.A.Yaremenko. – M.: "Selkhozizdat", 2001. – 543 p.

7. Oreshkin, A.S. Rol uslovno-patogennoy mikroflory v zabolevaniyakh molodnyaka [The role of the conditionally pathogenic microflora in young animals diseases] / A.S.Oreshkin. – Veterinarnaya gazeta. – 2000. – № 20. – P. 4.

8. Raitskaya, V.I. Kak predotvratit padezh molodnyaka [How to prevent the mortality of young animals] / V.I.Raitskaya, N.I.Shkil. – Veterinarnaya gazeta. – 2002. – № 2. – P. 2.

9. Seregin, I.G. Eshche raz o profilaktike salmonelleza u uboynykh zhivotnykh [Once again about the prevention of salmonellosis in slaughter animals] / I.G.Seregin, A.L.Yatsuta. – Myasnaya industriya. – 2001. – № 1. – P. 43-46.

10. Salmonellez na komplekse [Salmonellosis in the complex] / M.Sidorov, V.Subbotin, R.Kornelaeva [et al.] // Svinovodstvo. – 1991. – № 3. – P. 29-30.

11. Spravochnik Vidal. Lekarstvennye sredstva veterinarnogo naznacheniya v Rossii: spravochnik [Reference book Vidal. Veterinary medicinal products in Russia: reference book]. – M.: Astra Farm Servis, 2001. – 528 p.

12. Nauchno-obosnovannaya sistema polucheniya zdorovogo molodnyaka i profilaktiki zheludochno-kishechnykh bolezney novorozhdennykh telyat (rekomendatsii) [Scientifically grounded system for obtaining healthy young animals and preventing gastrointestinal diseases of newborn calves (recommendations)] / V.V.Subbotin, N.S.Ivkin, E.A.Shegidevich [et al.] // Veterinarny consultant. – 2002. – № 19–20. – P. 2-4.

13. Salmonella typhimurium phage type DT 104 in Belgian livestok / H.Imberehts, M.De Filette, C.Wray [et al.] // Veter. Rec. – 1998. – Vol. 143, № 15. – P. 424-425.

14. Urbanek, D. Zum Impfstoffeinsatz und Impfkalender in der Schweineproduktion / D.Urbanek, I.Koban // Monatshefte fur Veterinarmedizin. – 1988. – № 19/20. – P. 705-71.

УДК 636.082:636.034:575/577

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АЛЬФА-ЛАКТАЛЬБУМИНА С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И КАЧЕСТВОМ МОЛОКА КОРОВ

[1,2]С.В.Тюлькин – кандидат сельскохозяйственных наук, соискатель, ст.преподаватель; [1]Л.Р.Загидуллин – кандидат биологических наук, доцент, зав.кафедрой; [1]Т.М.Ахметов – доктор биологических наук, профессор, проректор; [2]Р.Р.Шайдуллин – доктор сельскохозяйственных наук, доцент, зав. кафедрой; [3]Т.Х.Фаизов – доктор ветеринарных наук, профессор, зав. лабораторией; [4]И.О.Ефимова – кандидат биологических наук, доцент, зав. кафедрой.

[1]ФГБОУ ВО «Казанская государственная ветеринарная академия им.Н.Э.Баумана», г.Казань (420029, Казань, Сибирский тракт, 35, тел.: +7(843) 273-96-56, e-mail: niskgavm@mail.ru).
[2]ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет», г.Казань (420015, Казань, К.Маркса, 65, тел.: +7(843) 567-45-00, e-mail: info@kazgau.ru).
[3]ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань (420075, Казань, Научный городок-2, тел.: +7(843) 239-53-19, e-mail: vnivi@mail.ru).
[4]ФГБОУ ВО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия», г.Чебоксары (428003, Чебоксары, К.Маркса, 29. тел.: +7(8352) 62-20-38, e-mail: vet1@academy21.ru).

Цель исследований заключается в изучении молочной продуктивности и качества молока чёрно-пёстро×голштинских коров-первотёлок с разными генотипами по гену альфа-лактальбумина (LALBA). Исследования проводились в условиях племенного репродуктора ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан на помесных животных чёрно-пёстрой породы. В результате молекулярно-генетических исследований (ПЦР-ПДРФ-анализ) животных распределили на группы в зависимости от генотипа по гену LALBA. Частота встречаемости генотипов AA, AB и BB по гену LALBA в изучаемой популяции коров составила 50,6%, 39,9% и 9,5% соответственно. Установлено, что первотёлки с генотипами AB и BB гена LALBA в сравнении со сверстницами генотипа AA превосходили по удою на 473-660 кг (P<0,01-0,001), количеству молочного жира на 15,2-24,6 кг (P<0,01-0,001), содержанию белка в молоке на 0,01-0,04%, количеству молочного белка на 15,6-23,5 кг (P<0,001), интенсивности молокоотдачи на 0,06-0,11 кг/мин. (P<0,05) и удою на 1 день лактации на 1,7-2,3 кг (P<0,01-0,001). При этом животные с генотипом AA гена LALBA по сравнению с аналогами других генотипов имели наибольшее содержание жира в молоке (3,87%), что выше, чем у генотипа AB на 0,07% (P<0,05) и генотипа BB на 0,02%. В итоге исследования показали, что соотношение первотёлок, несущих в своём генотипе желательный B-аллель гена LALBA в популяции помесного скота чёрно-пёстрой породы составило 49,4%. Необходимо также отметить, что полученные результаты исследований необходимо использовать при разведении и совершенствовании молочного скота Республики Татарстан.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: молочная продуктивность, молочный жир и белок, качественные показатели, полиморфизм, генотип, *LALBA*, ПЦР, ДНК.

В настоящее время выявлены и изучаются 4 аллельных варианта гена альфа-лактальбумина (*LALBA*), а именно: *A*, *B*, *C* и *D* [16]. Причём наиболее распространёнными аллелями данного гена являются аллели А и В.

Полиморфизм гена *LALBA* по аллелям *A* и *B* в позиции 263 (-1689) генный банк M90645 определённый методом ПЦР-ПДРФ показал, что среди первотёлок чёрно-пёстрой, симментальской, холмогорской и швицкой пород составил 0,671 и 0,329; 0,758 и 0,242; 0,738 и 0,262; 0,490 и 0,510 соответственно [12]. Аналогичные исследования чёрно-пёстрой, бестужевской и симментальской пород показали, что частота аллелей *A* и *B* составила 0,51 и 0,49; 0,70 и 0,30; 0,71 и 0,29 соответственно. Частота генотипа АВ (60,0%) у коров чёрно-пёстрой породы превышала частоту гомозиготных генотипов гена *LALBA* на 39-41%. У первотёлок бестужевской и симментальской пород преобладал генотип *AA* (50,3% и 51,9%), соответственно [7, 11].

Общеизвестно, в т.ч. подтверждены исследованиями, что аллельные варианты и генотипы белков молока могут ассоциироваться с количественными и качественными показателями молочной продуктивности [1-3, 6-9, 11-16].

Влияние аллелей и генотипов гена *LALBA* на признаки молочной продуктивности у коров различается в зависимости от принадлежности к популяции и породе [8].

По чёрно-пёстрой породе наибольшим удоем характеризовались животные с генотипом *BB* гена *LALBA*, а наименьшим первотёлки с генотипом *AA*, причём разница между ними по этому показателю составила 555 кг (P<0,01) молока. По содержанию жира на 0,21% (P<0,05) и 0,14 (P<0,05) выгодно выделялись коровы с генотипом *AB*. Наибольшее содержание казеина в молоке на 0,17% (P<0,05) было у аналогов с генотипом *BB* [11]. Однако в других исследованиях получены противоположные результаты. Так, генотип *AA* альфа-лактоальбумина (*LALBA*) главным образом ассоциируется с более высоким удоем и количеством жира, напротив генотип *BB* позиционирует с более высоким содержанием протеинов и жира в молоке коров [15].

Полное обеспечение качественным молочным сырьём предприятий перерабатывающей промышленности это залог стабильного производства молочной продукции, таких как кисломолочных, сырных, консервированных, функциональных, геродиетических и др. [4-5, 10].

Все вышесказанное указывает на важность изучения влияния полиморфизма гена одного из белка молока (альфа-лактальбумин) на молочную продуктивность и качество молока, что в перспективе можно использовать в раннем прогнозировании генетического потенциала у животных различных половозрастных групп и селекции молочного скота.

Материалы и методы. Исследования проведены на выборке из 158 чёрно-пёстро × голштинских коров-первотёлок племенного репродуктора ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан.

Молекулярно-генетическое исследование включало следующие этапы: отбор биоматериала от анализируемого поголовья, выделение ДНК из крови коров, постановка ПЦР и ПЦР-ПДРФ, электрофоретическая детекция продуктов амплификации и респтрикции.

Отбор образцов крови проводили из яремной вены индивидуально от каждого животного. После этого кровь вносили в пробирки с 100 мМ ЭДТА с разведением консерванта до конечной концентрации 10 мМ.

Экстракцию ДНК из образцов крови осуществляли комбинированным щелочным способом.

Идентификацию генотипов у первотёлок по гену гена альфа-лактальбумина (*LALBA*) проводили методом ПЦР-ПДРФ-анализа [6].

Удои коров определяли по результатам ежедекадного контрольного доения, в дальнейшем проводили расчёт за полную и неполную лактацию, то есть за 305 дней и не менее 240 дней соответственно.

Процентное содержание жира и белка в молоке определяли по данным анализатора молока «ЛАКТАН 1-4».

Вариационно-статистический анализ результатов исследования проводили биометрическим методом. Достоверность полученных результатов исследования подтверждались по данным критериев по Стьюденту.

Результаты исследований. После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *LALBA*-гену было следующим: первотёлок с *AA*-генотипом 80 (50,6%), с *AB*-генотипом 63 (39,9%) и с *BB*-генотипом 15 (9,5%) животных. При этом частота *A* и *B* аллелей *LALBA*-гена среди проанализированных чёрно-пёстро×голштинских первотёлок составила 0,71 и 0,29, соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Встречаемость аллелей и генотипов *LALBA*-гена у крупного рогатого скота

Показатель	n	Частота генотипов						Частота аллелей	
		AA		*AB*		*BB*			
		n	%	n	%	n	%	A	B
O	158	80	50,6	63	39,9	15	9,5	0,71	0,29
E		80	50,6	65	41,1	13	8,2		

Примечание: *O* – фактически наблюдаемый показатель, *E* – теоретически ожидаемый показатель.

Нами также проведена оценка молочной продуктивности (продолжительность лактации, удой за лактацию, содержание и количество жира в молоке, содержание и количество белка в молоке, интенсивность молокоотдачи и удой на 1 день лактации) чёрно-пёстро × голштинских с разными генотипами *LALBA*-гена (табл. 2).

Таблица 2

Молочная продуктивность коров с разными генотипами *LALBA*-гена

Показатель	Генотипы		
	AA	*AB*	*BB*
n	80	63	15
дойных дней	296±1,5	294±1,9	295±2,8
удой, кг	3914±72,3	4387±78,5***	4574±213,2**
жир, %	3,87±0,02*	3,80±0,02	3,85±0,03
молочный жир, кг	151,5±2,85	166,7±3,11***	176,1±8,17**
белок, %	3,20±0,01	3,21±0,01	3,25±0,03
молочный белок, кг	125,2±2,36	140,8±2,52***	148,7±6,62***
интенсивность молокоотдачи, кг/мин.	1,79±0,02	1,85±0,02*	1,90±0,04*
удой на 1 день лактации, кг	13,2±0,23	14,9±0,29***	15,5±0,67**

Примечание: Разница между наибольшими и наименьшим показателями, * – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001.

Данные таблицы 2 показывают, что межгрупповая разница коров с разными генотипами по гену *LALBA* по продолжительности лактации была незначительная и составила 1-2 дня.

В среднем удой коров за лактацию в группе животных разных пород с генотипом *AA* гена *LALBA* составил 3914 кг, *AB* – 4387 кг, *BB* – 4574 кг. Коровы с генотипом *AA* гена *LALBA* уступали аналогам с другими генотипами по удою на 473-660 кг (P<0,01-0,001).

Содержание жира в молоке было в пределах от 3,80% (генотип *AB*) до 3,87% (генотип *AA*). По содержанию жира в молоке коровы с гетерозиготным генотипом *AB* гена *LALBA* несколько уступали аналогам, имеющих гомозиготные генотипы *AA* и *BB* на 0,07% (P<0,05) и 0,05% соответственно. При этом от животных, имеющих аллель *B* гена *LALBA* получено в среднем за лактацию молочного жира больше, чем у коров с генотипом *AA* на 15,2-24,6 кг (P<0,01-0,001). При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *BB* и составило 176,1 кг.

Содержание белка в молоке было в пределах от 3,20% (генотип *AA*) до 3,25% (генотип *BB*). Полученные результаты также показали, что коровы с генотипами *AB* и *BB* превосходили по содержанию белка в молоке животных с гомозиготным генотипом *AA* гена *LALBA* на 0,01-0,05%, причём разница недостоверная. От коров, несущих в своём геноме *B* аллель гена *LALBA* по сравнению с аналогами генотипа *AA* был более высокий выход молочного белка за лактацию на 15,6-23,5 кг (P<0,001). При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипом *BB* и составило 148,7 кг. По содержанию белка в молоке и выходу молочного белка за лактацию коровы с генотипом *AB* имели промежуточные значения.

Превосходство животных с генотипами *AB*, *BB* гена *LALBA* над сверстницами с генотипом *AA* составило по таким показателям как интенсивность молокоотдачи и удой на 1 день лактации составила 0,06-0,11 кг/мин (P<0,05), 1,7-2,3 кг (P<0,01-0,001), соответственно.

Заключение. Таким образом, более высокую молочную продуктивность почти по всем показателям имели чёрно-пёстро × голштинские коровы с генотипами *AB* и *BB* гена альфа-лактальбумина по сравнению с особями с генотипом *AA*. В изученной выборке помесного крупного рогатого скота встречаемость животных с желательными генотипами *AB* и *BB* гена альфа-лактальбумина в общем составила 49,4%.

Литература

1. Ахметов, Т.М. Генотипирование коров по локусам каппа-казеина, бета-лактоглобулина и BLAD-мутации / Т.М.Ахметов, С.В.Тюлькин, Э.Ф.Валиуллина // Ученые записки КГАВМ. – Т. 205. – Казань, 2011.– С. 11-17.

2. Характеристика быков-производителей с разными генотипами бета-казеина по происхождению / Т.М.Ахметов, С.В.Тюлькин, Р.Р.Вафин, И.Ф.Кабиров // Ученые записки КГАВМ. – 2012. – Т. 210. – С. 14-20.

3. Оптимизация способов генотипирования крупного рогатого скота по гену каппа-казеина / Р.Р.Вафин, Т.М.Ахметов, Э.Ф.Валиуллина, [и др.] // Ветеринарная практика. – 2007. – № 2. – С. 54-59.

4. Научные основы и технологические принципы производства молочных консервов геродиетического назначения / А.Н.Петров, И.А.Радаева, О.О.Саруханян, [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, № 5. – С. 114-119.

5. Улучшение качества молочных консервов за счёт использования пастеризованного молока-сырья / А.Г.Галстян, И.А.Радаева, В.В.Червецов, [и др.] // Молочная промышленность. – 2015. – № 5. – С. 42-44.

6. Гладырь, Е.А. Диагностика полиморфизма гена альфа-лактальбумина крупного рогатого скота / Е.А.Гладырь, О.В.Костюнина, Н.А.Зиновьева // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных. – Дубровицы, 2002. – С. 109-110.

7. Долматова, И.Ю. Оценка генетического потенциала крупного рогатого скота по маркерным генам / И.Ю. Долматова, Ф.Р.Валитов // Вестника Башкирского университета. – 2015. – Т. 20, № 3. – С. 850-852.

8. Костюнина, О.В. Молекулярная диагностика генетического полиморфизма основных молочных белков и их связь с технологическими свойствами молока : автореф. дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / О.В. Костюнина. – Дубровицы, 2005. – 21 с.

9. Полиморфизм быкопроизводящих коров холмогорской породы по генам молочных белков / И.Ю.Павлова, Л.А.Калашникова, В.Л.Ялуга, Т.А.Рухлова // Зоотехния. – 2011. – № 6. – С. 6-7.

10. Производство молочных консервов: инновации в формировании свойств сырья / А.Н.Петров, И.А.Радаева, А.Г.Галстян, С.Н.Туровская // Молочная промышленность. – 2010. – № 5. – С. 74-77.

11. Ракина, Ю.А. Взаимосвязь полиморфизма генов альфа-лактоальбумина и бета-лактоглобулина коров с продуктивностью и технологическими свойствами молока : автореф. дис. канд. с.-х. наук : 06.02.07 / Ю.А.Ракина. – Уфа, 2013. – 2013. – 21 с.

12. Оценка молочной продуктивности коров с разных пород в связи с полиморфизмом по гену альфа-лактальбумину / В.И.Сельцов, О.В.Костюнина, Ю.П.Загороднев и [др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2013. - № 3. – С. 57-60.

13. Характеристика быков-производителей с разными генотипа альфа S1-казеина по происхождению / С.В.Тюлькин, Т.М.Ахметов, А.В.Муратова, Р.Р.Вафин // Ученые записки КГАВМ. – 2012. – Т. 212. – С. 384-390.

14. Шайдуллин, Р.Р. Оценка полиморфизма гена каппа-казеина у животных чёрно-пёстрой породы / Р.Р. Шайдуллин, А.С.Ганиев // Вестник УГСХА. – Ульяновск, 2015. - № 3 (31). – С. 104-109.

15. Haplotype Analysis Involving a Novel Polymorphism in Bovine Alpha-Lactalbumin 5 / Flanking Region / G.W.Kazmer, P.Zhou, J.L.Troyer, L.D.Strausbaugh / J.Dairy Sci. – 2001. – Vol. 84. – P. 1542-1544.

16. Genetic polymorphism of milk proteins: Quantitative variability and molecular diversity / P.Martin, L.Bianchi, C.Cebo, G.Miranda. – Advanced dairy chemistry. Springer Science+Business, Media. – New York, 2013. – V. 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th ed. – P. 387-429. – [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4714-6].

ASSOCIATION OF POLYMORPHISM FOR ALPHA-LACTALBUMIN GENE WITH MILK PRODUCTIVITY AND MILK QUALITY OF COWS

[1,2]Tyulkin S.V. – Candidate of Agricultural Sciences; [1]Zagidullin L.R. – Candidate of Biological Sciences; [1]Akhmetov T.M. – Doctor of Biological Sciences, professor; [2]Shaydullin R.R. – Doctor of Agricultural Sciences; [3]Faizov T.H. – Doctor of Veterinary Sciences, professor; [4]Efimova I.O. – Candidate of Biological Sciences.

[1]N.E.Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine, Kazan (e-mail: niskgavm@mail.ru).
[2]Kazan State Agrarian University, Kazan (e-mail: info@kazgau.ru).
[3]Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan (e-mail: vnivi@mail.ru).
[4]Chuvash State Agricultural Academy, Cheboksary (e-mail: vet1@academy21.ru).

The aim of research is to study milk productivity and milk quality of Black-and-White and Holstein breeds of heifers with different genotypes according to alpha-lactalbumin gene (LALBA). The studies were conducted in conditions of breeding reproducer of LLC "Dusym" of Atninsky district of the Republic of Tatarstan on cross-bred animals of Black-and-White breed. As a result of molecular and genetic studies (PCR-RFLP-analysis) the animals were divided into groups depending on genotype for LALBA gene. The frequency of occurrence AA, AB and BB genotypes according LALBA gene in the studied cow population was 50.6%, 39.9% and 9.5%, respectively. The heifers with genotypes AB and BB for LALBA gene in comparison with heifers of AA genotype were found to exceed in milk yield by 473-660 kg (P<0.01-0.001), in the amount of milk fat – by 15.2-24.6 kg (P<0.01-0.001), in protein content in milk – by 0.01-0.04%, in the amount of milk protein – by 15.6-23.5 kg (P<0.001), in intensity of milk yield – by 0.06-0.11 kg/min. (P<0,05) and in milk yield per 1 day of lactation – by 1,7-2,3 kg (P<0,01-0,001). At the same time, animals with the AA genotype for LALBA gene, compared with analogues of the other genotypes, had the highest fat content in milk (3.87%), which is higher than that of AB genotype by 0.07% (P<0.05) and the BB genotype – by

0.02%. As a result, the studies have shown that the ratio of the heifers carrying in its genotype desirable B-allele of the LALBA gene in the population of cross-bred Black-and-White breed cattle was 49.4%. It should also be noted that the obtained results of research should be used in the breeding and improving dairy cattle of the Republic of Tatarstan.

KEYWORDS: Dairy productivity, milk fat and protein, qualitative parameters, polymorphism, genotype, *LALBA*, PCR, DNA.

References

1. Akhmetov, T.M. Genotipirovanie korov po lokusam kappa-kazeina, beta-laktoglobulina i BLAD-mutacii [Studying of genotypes cows on loci kappa-casein, beta-lactoglobulin and BLAD-mutation] / T.M.Ahmetov, S.V.Tyulkin, EH.F.Valiullina // Uchenye zapiski KGAVM. – 2011. – T. 205. – P. 11-17.

2. Harakteristika bykov-proizvoditeley s raznymi genotipami beta-kazeina po proiskhozhdeniyu [The characteristics of bull-producers with different genotypes of beta-casein by origin] / T.M.Ahmetov, S.V.Tyulkin, R.R.Vafin, I.F.Kabirov // Uchenye zapiski KGAVM. – 2012. – T. 210. – P. 14-20.

3. Optimizaciya sposobov genotipirovaniya krupnogo rogatogo skota po genu kappa-kazeina [An optimization of cattle genotyping means by kappa-casein gene] / R.R.Vafin, T.M.Ahmetov, EH.F.Valiullina, [et al.] / Veterinarnaya praktika. – 2007. – № 2. – P. 54-59.

4. Nauchnye osnovy i tekhnologicheskie principy proizvodstva molochnykh konservov gerodieticheskogo naznacheniya [Scientific bases and technological principles of production of gerodietetic canned milk] / A.G.Galstyan, A.N.Petrov, I.A.Radaeva [et al.] // Voprosy pitaniya. – 2016. – T. 85, № 5. – P. 114-119.

5. Uluchshenie kachestva molochnykh konservov za schyot ispolzovaniya pasterizovannogo moloka-syrya [Improvement of the canned milk products quality due to the application of the pasteurized raw milk] / A.G.Galstyan, I.A.Radaeva, V.V.CHervecov, [et al.] // Molochnaya promyshlennost. – 2015. – № 5. – P. 42-44.

6. Gladyr, E.A. Diagnostika polimorfizma gena alfa-laktalbumina krupnogo rogatogo skota [Diagnosis of polymorphism for alpha-lactalbumin gene in cattle] / E.A.Gladyr, O.V.Kostyunina, N.A.Zinoveva // Sovremennye dostizheniya i problemy biotekhnologii selskohozyajstvennyh zhivotnyh [Modern achievements and problems in biotechnologies of livestock animals]. – Dubrovicy, 2002. – P. 109-110.

7. Dolmatova, I.Yu. Ocenka geneticheskogo potenciala krupnogo rogatogo skota po markernym genam [Assessment of the cattle genetic potentials by marker genes] / I.Yu.Dolmatova, F.R.Valitov // Vestnika Bashkirskogo universiteta. – 2015. – T. 20, № 3. – P. 850-853.

8. Kostyunina, O.V. Molekulyarnaya diagnostika geneticheskogo polimorfizma osnovnykh molochnykh belkov i ikh svyaz s tekhnologicheskimi svoystvami moloka: avtoref. diss. ... kand. biol. nauk: 03.00.23 [Molecular diagnostics of genetic polymorphism of main milk proteins and their connection with technological properties of milk: abstract from Dis. ... kand. of biol. sci. / O.V.Kostyunina. – Dubrovicy, 2005. – 21 p.

9. Polimorfizm bykoproizvodyaschikh korov holmogorskoy porody po genam molochnykh belkov [Polymorphism of bulls-mother cows of Kholmogor breed by milk proteins genes] / I.Yu.Pavlova, L.A.Kalashnikova, V.L.Yaluga, T.A.Rukhlova // Zootekhniya. – 2011. – № 6. – P. 6-7.

10. Proizvodstvo molochnykh konservov: innovacii v formirovanii svoystv syrya [The canned milk production: innovations in the formation of raw materials properties] / A.N.Petrov, I.A.Radaeva, A.G.Galstyan, S.N.Turovskaya // Molochnaya promyshlennost. – 2010. – № 5. – P. 74-77.

11. Rakina, Yu.A. Vzaimosvyaz polimorfizma genov alfa-laktoalbumina i beta-laktoglobulina korov s produktivnostyu i tekhnologicheskimi svoystvami moloka: avtoref. dis. ... kand. s.-h. nauk [Correlation of polymorphism for genes of alpha-lactoalbumin and beta-lactoglobulin of cows with productivity and technological properties of milk: abstract from Dis. kand. of agric. sci.] / Yu.A. Rakina. – Ufa, 2013. – 21 p.

12. Ocenka molochnoy produktivnosti korov s raznykh porod v svyazi s polimorfizmom po genu alfa-laktalbuminu [Evaluation of milk productivity in cows of different breeds in connection with the alpalactalbumin gene polymorphism] / V.I.Seltsov, O.V.Kostyunina, Yu.P.Zagorodnev [et al.] // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2013. - № 3. – P. 57-60.

13. Harakteristika bykov-proizvoditeley s raznymi genotipa alfa S1-kazeina po proiskhozhdeniyu [The characteristics of bull-producers with different genotypes of alpha S1-casein by origin] / S.V.Tyulkin, T.M.Akhmetov, A.V.Muratova, R.R.Vafin // Uchenye zapiski KGAVM. – 2012. – T. 212. – P. 384-390.

14. Shaydullin, R.R. Ocenka polimorfizma gena kappa-kazeina u zhivotnykh cherno-pestroy porody [Evaluation of genetic polymorphism of kappa-casein gene in animals of Black-and White breed] / R.R.Shaydullin, A.S.Ganiev // Vestnik Ulyanovsk GSKHA. – Ulyanovsk, 2015. - № 3 (31). – P. 104-109.

15. Haplotype Analysis Involving a Novel Polymorphism in Bovine Alpha-Lactalbumin 5/ Flanking Region / G.W.Kazmer, P.Zhou, J.L.Troyer, L.D.Strausbaugh / J.Dairy Sci. – 2001. – Vol. 84. – P. 1542-1544.

16. Genetic polymorphism of milk proteins: Quantitative variability and molecular diversity / P.Martin, L.Bianchi, C.Cebo, G.Miranda // Advanced dairy chemistry. Springer Science+Business, Media. – New York, 2013. Vol. 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th ed. – P. 387-429. – [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4714-6].

ВЕТЕРИНАРНЫЙ ВРАЧ

УДК 636.082.2:636.034

СОВМЕСТИМОСТЬ ВЫСОКОЙ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ В РАЗРЕЗЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЛЕПТИН (LEP)

[1,2]Н.Ю.Сафина – аспирант, мл.н.с.; [1]Ш.К.Шакиров – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, гл.н.с.; [1]Ю.Р.Юльметьева – кандидат биологических наук, ст.н.с.; [2]Т.М.Ахметов – доктор биологических наук, профессор.

[1]Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», г.Казань (420059, Казань, Оренбургский тракт, 48, e-mail: tatniva@mail.ru).
[2]ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им.Н.Э.Баумана», г.Казань, (420074, Казань, Сибирский тракт, 35, e-mail: natysafina@gmail.com).

Важную роль в молочном скотоводстве, наряду с такими факторами как кормление и содержание первотелок до отела и после, него играет генетическая предрасположенность, обусловленная полиморфизмом генов-кандидатов, отвечающих за репродуктивные качества. Предположительно ген лептин оказывает влияние на передачу статуса энергетических резервов в центральную нервную систему и служит регулятором потребления корма и репродуктивной функции у жвачных животных. Цель исследования заключалась в проверке гипотезы о возможном оказываемом эффекте полиморфизма гена лептин на совместимость высокой молочной продуктивности с воспроизводительной способностью коров-первотелок голштинской породы. В ходе исследования по локусу гена лептин методом ПЦР-ПДРФ были генотипированы 172 первотелки СХПК «Племзавод им.Ленина» Атнинского района РТ. Установлено, что изучаемый ген полиморфен в изучаемой популяции. Распределение по генотипам гена лептин составило: СС – 35,5% (61 гол.), ТС – 53,3% (90 гол.), ТТ – 12,2% (21 гол.), по частоте встречаемости аллелей С и Т – 0,62 и 0,38 соответственно. Анализ исследуемого поголовья показал, что максимальный удой за первую лактацию получен от коров-первотелок с генотипом лептина ТТ, превосходящий уровень удоя особей с генотипами СС и ТС на 459,1 кг (6,1%) и 673,4 кг (8,9%; P⩽0,01). Эта же группа животных отличилась более поздним возрастом и высоким показателем живой массы во время первого плодотворного осеменения. Так же отмечено, что на фоне общего удлиненного сервис-периода и пониженного показателя выхода телят, особи с генотипом LEPTT имеют сервис-период равный 141 дню и 78,6 голов живых телят на 100 коров. Таким образом, коровы-первотелки голштинской породы, несущие гомозиготный аллель-Т по локусу гена LEP являются желаемым типом животных для селекции на высокую молочную продуктивность в сочетании с воспроизводительной способностью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ген, лептин, полиморфизм, корова-первотелка, осеменение, отел, репродуктивная функция, телята, сервис-период.

Применение молекулярных маркеров наряду с традиционными методами селекции позволяют прогнозировать продуктивность животных в раннем возрасте, что может оказывать влияние при отборе молодняка и формирования маточного поголовья. Наряду с такими факторами как кормление и содержание первотелок до отела и после него, важную роль играет генетическая предрасположенность, обусловленная полиморфизмом генов-кандидатов, отвечающих за репродуктивные качества крупного рогатого скота. Лептин является гормоном, синтезированным и секретируемым преимущественно белыми адипоцитами [1]. Предполагается, что этот белок участвует в регуляции массы тела путем передачи липостатического сигнала от адипоцитов к рецептору лептина в гипоталамусе, что приводит к подавлению аппетита и увеличению термогенеза [2]. Ген лептин чувствителен к диетическим манипуляциям и, по-видимому, играет важную роль в передаче статуса энергетических резервов в центральную нервную систему для регулирования потребления корма и репродуктивной функции у жвачных животных [3]. После связывания с рецептором на нейронах гипоталамуса, синтезирующих гонадолиберин, лептин стимулирует биосинтез этого медиатора и увеличивает секрецию гипофизом гонадотропинов: лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, которые активируют половое созревание и репродуктивную функцию [4]. Исследования ассоциации молочной продуктивности крупного рогатого скота и их воспроизводительной функцией проводились неоднократно, но ученые не пришли к единому мнению о возможном влиянии показателей удоя на репродуктивные качества коров.

Целью данного исследования являлось проверить гипотезу о возможном оказываемом эффекте полиморфизма гена лептин на совместимость высокой молочной продуктивности с воспроизводительной способностью коров-первотелок голштинской породы.

Материалы и методы. Работа проводилась с использованием образцов крови, полученной от 172

коров-первотелок СХПК ПЗ им. Ленина Атнинского района Республики Татарстан. Отбор проб осуществлялся в вакуумные пробирки EDTA K-3 (APEXLAB, Китай) из хвостовой вены. Последующая экстракция ДНК из биологического материала происходила в лаборатории ТатНИИСХ посредством набора «Ампли Прайм ДНК-сорб В» (ИнтерЛабСервис, Россия), согласно инструкции изготовителя. Генотипирование опытных животных выполнялось с применением олигонуклеотидных тетрапраймеров, разработанных E.Armstrong и др. [5], по протоколу с оптимальными температурно-временными режимами [6]. Продукты ПЦР-анализа разделяли в агарозном геле, в присутствии TBEx10 буфера и этидия бромида при напряженности электрического поля в 20 В/см в течение 30 минут. Для дальнейшей визуализация и документирования использовалась система Gel&Doc (Bio RAD, США).

Данные о показателях воспроизводства (возраст первого плодотворного осеменения, продолжительность сервис-перода, сухостойного периода, межотельного периода) исследуемого поголовья были получены из информационно-аналитической системы «СЕЛЭКС – Молочный скот».

Для расчета коэффициента воспроизводительной способности первотелок применялась формула Крамаренко (1974):

$$КВС = 365 / МОП,$$ где:

КВС – коэффициент воспроизводительной способности;
МОП – продолжительность межотельного периода, дн;
365 – число дней в году.

Выход живых телят на 100 голов вычисляли расчетным методом по формуле [7]:

$$ВТ = (365-СП)/285 \times 100,$$ где

ВТ – выход телят, гол.;
СП – сервис-период (время между отелом и оплодотворением), дн.;
365 – число дней в году;
285 – средняя продолжительность стельности, дн.

Индекс плодовитости коров определяли по формуле, предложенной венгерским ученым И.Дохи (1961):

$$T = 100 - (K + 2 \times МОП),$$ где:

Т – индекс плодовитости;
К – возраст коровы при первом отеле, мес.;
МОП – средний межотельный период, мес.

Обработка данных совершалась в программе MS Excel с использованием формул биометрического анализа, достоверность проверялась согласно критерию t-Стьюдента.

Результаты исследований. В результате детекции было установлено, что изучаемый ген полиморфен в исследуемой популяции. Распределение по генотипам гена лептин составило: СС – 35,5% (61 гол.), ТС – 53,3% (90 гол.), ТТ – 12,2% (21 гол.), по частоте встречаемости аллелей С и Т – 0,62 и 0,38 соответственно. Данные об удое за первую лактацию свидетельствуют о высокой молочной продуктивности коров-первотелок (табл.). Живая масса животного и возраст первого плодотворного осеменения оказывают значительное влияние на последующую продуктивность первотелок, слишком раннее осеменение приводит к замедлению развития и отодвигает срок максимального раздоя. Из наших данных видно, что наибольшую живую массу на момент первой случки имели телочки с генотипом LEP^{TT}, превосходя телочек с генотипами LEP^{CC} и LEP^{TC} на 12,7 кг и 18,1 кг ($P \leqslant 0,05$), соответственно. Эта же группа животных характеризуется поздним возрастом первого осеменения – 19,2 мес, по сравнению со сверстницами, плодотворно осемененными в 17,2–17,4 мес ($P \leqslant 0,01$; $P \leqslant 0,05$). Следует отметить, что разница по уровню удоя между особями с генотипом ТТ и генотипами СС и ТС составила 459,1 кг (6,1%) и 673,4 кг (8,9%; $P \leqslant 0,01$). Похожие результаты наблюдал F.C.Buchanan и др.: в его исследовании животные, гомозиготные по Т-аллелю, продуцировали больше молока против СС-животных [8].

Таблица

Ассоциация полиморфизма гена LEP и воспроизводительных качеств коров

Показатель	Генотип LEP		
	СС (n=61)	ТС (n=90)	ТТ (n=21)
Возраст 1 осеменения, мес.	17,2±0,3**	17,4±0,3*	19,2±0,7
Живая масса при 1 осеменении, кг	420,5±3,4	415,1±3,1*	433,2±3,1
Межотельный период, дн.	404,3±11,3	397,6±11,9	404,6±20,4
Сервис-период, дн.	145,5±10,2	162,1±1,7	141,0±17,1
Сухостойный период, дн.	52,5±1,9	52,9±2,5	53,5±5,9
Выход телят, гол.	77,0±3,6	71,8±4,1	78,6±6,0
КВС, %	93,3±2,4	95,3±2,2	93,0±3,8
Индекс плодовитости коровы	55,9±0,9	56,5±0,8	54,1±1,8
Удой за 305 дн., кг	7073,5±117,4	6859,2±139,4**	7532,6±235,7

Примечание: * – $P \leqslant 0,05$; ** – $P \leqslant 0,01$ по отношению большего значения к меньшему.

Установлена так же положительная корреляция живой массы при первом осеменении и удоем по всем генотипам лептина: чем выше масса, там выше молочная продуктивность. Существует и тенденция в ассоциации уровня лактации с продолжительностью сервис-периода и межотельного периода после первого отела. При средних значениях 80 и 385 дней эти показатели у опытных групп с разными генотипами лептина составляют: у первотелок с генотипом LEP^{CC} – 145,5 и 404,3 дня, с генотипом LEP^{TC} – 162,1 и 397,6 дней, с генотипом LEP^{TC} – 141,0 и 404,6 дня. О взаимосвязи сервис-периода с удоем свидетельствуют данные, опубликованные Часовщиковой М.А., сообщавшей о коровах, характеризующихся высокой молочностью (7895,8 кг; $P \leqslant 0{,}001$), но при этом имеющих продолжительность сервис-периода 121–160 дней [9]. Увеличение этих периодов связано с рядом факторов, таких как технология содержания, низкое качество кормов, несбалансированный рацион с дефицитом энергии, влекущих за собой нарушение обменных процессов. Исследователи в своих работах фиксировали подобное отклонение от нормы до 151–193 дней у высокопродуктивных животных в различных породах и типах [10, 11]. Наращивание удоев в первые месяцы лактации после того, как усвоенная с кормом обменная энергия не покрывает затраты на молочную продуктивность, влечет за собой отрицательный энергетический баланс, восстанавливающийся за счет внутренних резервов, и, как следствие, потеря живой массы, упитанности, нарушение обмена веществ. К тому же Кононов В.П. отмечает, что вместе с ростом молочной продуктивности происходит сокращение продуктивной жизни коров до 2–3 лактаций, снижение зачатий с первого осеменения до 40% [12]. Вследствие таких нарушений невозможно улучшить показатели выхода телят на 100 голов. Выход живых телят оказался выше у особей с гомозиготными генотипами ТТ и СС, разница с гетерозиготными животными по этому показателю составила 6,8 гол. (8,7%) и 5,2 гол. (6,8%), соответственно. Р.В.Тамарова и др. в сравнении молочного скота различной селекции заявляет так же о невысоком проценте выхода телят (77%) у канадских голштинов [10]. Коэффициент воспроизводительной способности имеет достаточно высокое значение у всего исследуемого нами поголовья (93,0–95,3%). По индексу плодовитости Дохи, объединяющего межотельный период и возраст первого плодотворного осеменения, группа коров-первотелок с генотипом LEPTC незначительно превосходит две другие группы. Стоит отметить, что этот показатель находится на достаточно высоком уровне (54,1–56,5) у всего стада и свидетельствует о хорошем уровне фертильности изучаемой популяции.

Заключение. Анализ изучаемого поголовья коров-первотелок голштинской породы показал, что максимальный удой за первую лактацию получен от коров-первотелок с генотипом лептина ТТ. Эта же группа животных отличилась более поздним возрастом и высоким показателем живой массы во время первого плодотворного осеменения. Установлено, что на фоне общего удлиненного сервис-периода и пониженного показателя выхода телят, особи с генотипом LEPTT имеют сервис-период равный 141 дню и 78,6 голов живых телят на 100 коров. Таким образом, коровы-первотелки голштинской породы, несущие гомозиготный аллель-Т по локусу гена LEP являются желаемым типом животных для селекции на высокую молочную продуктивность в сочетании с воспроизводительной способностью.

Статья подготовлена в рамках государственного задания: Мобилизация генетических ресурсов растений и животных, создание новаций, обеспечивающих производство биологически ценных продуктов питания с максимальной безопасностью для здоровья человека и окружающей среды. Номер регистрации: АААА-А18-118031390148-1.

Литература

1. Metabolic Parameters Concentrations In Blood Serum Of Czech Pied Bulls Depending On Single Nucleotide Polymorphism Of Leptin Gene / A.Pavlík, P.Sláma, Z.Havlíček, R.Filipčík // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2014. – №. 3 (2). – P. 145–147.

2. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue / Y.Zhang, R.Proenca, M.Maffei [et al.] // Nature. – 1994. – №. 372. – P. 425–432.

3. Zieba, D.A. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review / D.A.Zieba, M.Amstalden, G.L.Williams // Domestic Animal Endocrinology. – 2005. – №. 29. – P. 166–185.

4. Панков, Ю.А. Белковые гормоны, рецепторы и другие белки в механизмах гормональной регуляции / Ю.А.Панков // Биомедицинская химия. – 2004. – Том 50 (2). – С. 122–135.

5. Molecular markers related to marbling in uruguayan Creole cattle / E.Armstrong, F.Penagaricano, R.Artigas [et al.] // Archivos de Zootecnia. – 2011. – №. 60 (231). – P. 707–716.

6. Ассоциация полиморфизма гена-кандидата лептин с энергией роста и физическим развитием голштинского крупного рогатого скота / Н.Ю.Сафина, Ю.Р.Юльметьева, Т.М.Ахметов [и др.] // Ветеринарный врач. – 2017. – № 6. – С. 52–56.

7. Термины и определения, используемые в селекции, генетике и воспроизводстве сельскохозяйственных животных / И.М.Дунин [и др.]. – М.: ВНИИплем, 1996. – 306 с.

8. Hot Topic: An Association Between a Leptin Single Nucleotide Polymorphism and Milk and Protein Yield / F.C.Buchanan, A.G.Van Kessel, C.Waldner [et al.] // Journal of Dairy Science. – 2003. – Vol. 86, Issue. 10. – P. 3164–3166.

9. Часовщикова, М.А. Влияние сервис-периода на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы / М.А.Часовщикова // Вестник КрасГАУ. – 2012. – № 10. – С. 136–138.

10. Тамарова, Р.В. Сравнительная оценка по биологическим и хозяйственно полезным качествам молочного скота зарубежной и отечественной селекции / Р.В.Тамарова, А.С.Ермишин // Мясное и молочное скотоводство. – 2016. – № 7. – С. 14–18.

11. Шаталов, С.В. Влияние уровня раздоя первотелок на продуктивность и длительность эксплуатации молочного скота / С.В.Шаталов, В.К.Томилин, В.С.Шаталов // Научный журнал КубГАУ. – 2012. – № 77 (03). – С. 785–794.

12. Кононов, В.П. Проблемы совместимости высокой молочной продуктивности, воспроизводительной способности и продуктивной жизни коров в современном скотоводстве / В.П.Кононов // Зоотехния. – 2013. – № 1. – С. 40–45.

COMPATIBILITY OF HIGH MILK PRODUCTION AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN HOLSTEIN HEIFERS IN THE CONTEXT OF LEPTIN GENE (LEP) POLYMORPHISM

[1,2]Safina N.Yu. – postgraduate student; [1]Shakirov Sh.K. – Doctor of Agricultural Sciences, professor; [1]Yulmetyeva Yu.R. – Candidate of Biological Sciences; [2]Akhmetov T.M. – Doctor of Biological Sciences, professor.

[1]Tatar Scientific Research Institute of Agriculture – Subdivision of the Federal State Budgetary Institution of Science "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan (e-mail: tatniva@mail.ru).
[2]N.E.Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine, Kazan (e-mail: natysafina@gmail.com).

The genetic predisposition due to polymorphism of candidate genes responsible for reproductive qualities plays an important part in dairy cattle breeding along with such factors as feeding and keeping heifers before and after calving. The leptin gene is presumed to influence the transmission of the status of energy reserves to the central nervous system and serve as a regulator of feed intake and reproductive function in ruminants. The aim of the study was to test the hypothesis about the possible influence of leptin gene polymorphism on the compatibility of high milk production and reproductive ability in Holstein heifers. In the course of the study on the leptin gene locus by PCR-RFLP, 172 heifers of Integrated Agricultural Production Centre "Stud farm named after Lenin" of Atninsky district of the Republic of Tatarstan were genotyped. The studied gene is found to be polymorphic in the studied population. The genotype distribution of the leptin gene was as follows: CC – 35.5% (61 animals), TC – 53.3% (90 animals), TT – 12.2% (21 animals), the distribution in frequency of occurrence of alleles C and T was 0.62 and 0.38, respectively. The analysis of the studied livestock showed that the maximum milk yield for the first lactation was obtained from heifers with leptin genotype TT which exceeded the milk yield level of species with genotypes CC and TC by 459.1 kg (6.1%) and by 673.4 kg (8.9%; P⩽0,01), respectively. The same group of animals was distinguished by later age and a high rate of live weight during the first fruitful insemination. It is also noted that against the background of the general extended service period and reduced calf crop index, the species with genotype LEPTT had a service period equal to 141 days and 78.6 live calves per 100 cows. Thus, the Holstein heifers bearing the homozygous allele T at the locus of the LEP gene are the desired type of animals for the breeding of high milk production combined with reproductive ability.

KEYWORDS: gene, leptin, polymorphism, heifer, insemination, calving, reproductive function, calves, service period.

References

1. Metabolic Parameters Concentrations In Blood Serum Of Czech Pied Bulls Depending On Single Nucleotide Polymorphism Of Leptin Gene / A.Pavlík, P.Sláma, Z.Havlíček, R.Filipčík // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2014. – №. 3 (2). – P. 145-147.

2. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue / Y.Zhang, R.Proenca, M. Maffei [et al.] // Nature. – 1994. – №. 372. – P. 425-432.

3. Zieba, D.A. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review / D.A.Zieba, M.Amstalden, G.L.Williams // Domestic Animal Endocrinology. – 2005. – №. 29. – P. 166–185.

4. Pankov, Yu.A. Belkovye gormony, retseptory i drugie belki v mekhanizmakh gormonalnoy regulyatsii [Peptide hormones, receptors and other proteins in the mechanisms of hormonal regulation] / Yu.A.Pankov // Biomeditsinskaya khimiya. – 2004. –Vol. 50 (2). – P. 122-135.

5. Molecular markers related to marbling in uruguayan Creole cattle / E.Armstrong, F.Penagaricano, R.Artigas [et al.] // Archivos de Zootecnia. – 2011. – №. 60 (231). – P. 707-716.

6. Assotsiatsiya polimorfizma gena-kandidata leptin s energiey rosta i fizicheskim razvitiem golshtinskogo krupnogo rogatogo skota [Association of polymorphism in leptin candidate gene with energy of growth and physical development in Holstein cattle] / N.Yu.Safina, Yu.R.Julmetyeva, T.M.Akhmetov [et al.] // Veterinarny vrach. – 2017. – № 6. – P. 52-56.

7. Terminy i opredeleniya, ispolzuemye v selektsii, genetike i vosproizvodstve selskokhozyaystvennykh zhivotnykh [Terms and definitions used in breeding, genetics and reproduction of agricultural animals] / I.M.Dunin [et al.]. – M.: VNIIplem, 1996. – 306 p.

8. Hot topic: An association between a leptin single nucleotide polymorphism and milk and protein yield / F.C.Buchanan, A.G.Van Kessel, C.Waldner [et al.] // Journal of Dairy Science. – 2003. – Vol. 86, Issue. 10. – P. 3164-3166.

9. Chasovschikova, M.A. Vliyanie servis-perioda na molochnuyu produktivnost korov cherno-pestroy porody [Service-period influence on black-marked breed cow's milk productivity] / M.A.Chasovschikova // Bulletin of Krasnodar GAU. – 2012. – № 10. – P. 136-138.

10. Tamarova, R.V., Ermishin, A.S. Sravnitelnaya otsenka po biologicheskim i hozyaystvenno poleznym kachestvam molochnogo skota zarubezhnoy i otechestvennoy selektsii [Comparative assessment of biological and economic-useful qualities of milk cattle of foreign and domestic selection] / R.V.Tamarova, A.S.Ermishin // Myasnoe i molochnoe skotovodstvo. – 2016. – № 7. – P. 14-18.

11. Shatalov, S.V. Vliyanie urovnya razdoya pervotelok na produktivnost i dlitelnost ekspluatatsii molochnogo skota [Influence of the heifers milk yield level on the further milk productivity and duration of exploitation of dairy cattle] / S.V.Shatalov, V.K.Tomilin, V.S.Shatalov // Nauchny zhurnal Kubanskiy GAU. – 2012. – № 77 (03). – P. 785-794.

12. Kononov, V.P. Problemy sovmestimosti vysokoy molochnoy produktivnosti, vosproizvoditelnoy sposobnosti i produktivnoy zhizni korov v sovremennom skotovodstve [The compatibility problem of high milk production, reproductive performance and productive longevity of cows in modern dairy cattle] / V.P.Kononov // Zootehniya. – 2013. – № 1. – P. 40-45.

УДК 574.22:539.16:58(470.43)

КОНЦЕНТРАЦИЯ РАДИОНУКЛИДОВ В МЕДОНОСНЫХ РАСТЕНИЯХ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ЮЖНЫХ И ВОСТОЧНЫХ РАЙОНОВ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

***Ю.Н.Залыбина** – аспирант; **В.С.Григорьев** – доктор биологических наук, профессор, зав.кафедрой.*

ГБОУ ВО «Самарская государственная областная академия (Наяновой)», г.Самара (443001, Самара, ул. Молодогвардейская, 196, тел.:+7 (846) 200-10-10, e-mail: mnu@nayanova.edu).

В работе приведены данные по результатам оценки миграции радиоактивных элементов из почвы, воздуха и воды, поступающие в медоносные растения: липа, подсолнечник, гречиха, клен и эспарцет, которые культивируются на территории Южного и Восточного районов Самарской области. По результатам проведенного исследования обнаружены повышенные концентрации K^{40} и Be^{7} в почве и воздухе на территории Южного и Восточного районов. Полученные максимальные концентрации в почве, воде и воздухе безопасны, однако медоносные растения более чувствительны к радиоактивному загрязнению, что снижает биологическую ценность меда. Поэтому экологически чистый и биологически полноценный от радионуклидов (Cs^{137}) нектар пчелы собирают с эспарцета (0,76 Бк/кг), подсолнечника (0,46 Бк/кг), липы (0,26 Бк/кг) и гречихи (0,15 Бк/кг). Установленные наиболее высокие концентрации Ra^{226} отмечены в цветах эспарцета (9,12 Бк/кг), Th^{232} – в цветках гречихи (9,06 Бк/кг). Такие концентрации радионуклидов не оказывают вредного воздействия на живые организмы, но снижают качество меда. Хотя нельзя забывать про особенность радиоактивных элементов к аккумуляции, что в последствии оказывает вредное воздействие на человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Восточный район, Южный район, Самарская область, радиоактивные элементы, медоносные растения, вода, почва, воздух, концентрация радионуклидов.

Использование ядерной энергии в различных сферах деятельности человека связано с поступлением в биосферу огромного количества радионуклидов и участие их во многих биологических процессах, происходящих в организме человека и животных, которое формирует дополнительное к природному фону облучение живых систем [8]. Необходимо учитывать проявление вторичных эффектов загрязнения, связанных с выносом продуктов деления на поверхность земли талыми и ливневыми водами, ветровым переносом, что способствует миграции радионуклидов по пищевым цепочкам человека и животных [8]. Дозы облучения, полученные биотой значительно выше, чем дозы полученные человеком и животными [1, 3]. В сложившихся условиях особую роль приобретает проблема накопления радиоактивных веществ в окружающей среде, преимущественно в почве, воде и растительности [10]. Радионуклиды в цепочке «почва – вода – растение – животное», накапливаются в продуктах питания животного и растительного происхождения, что неблагоприятно влияет на здоровье человека [11].

Распределение радиоактивных элементов для медоносных пчел зависит от территориальных экологических условий, где культивируются медоносные растения. Поведение радионуклидов в почвах в значительной степени определяется типом почв и составом. Например, тяжелые по механическому составу почвы больше накапливают поглощенные радионуклиды, чем легкосуглинистые и супесчаные почвы с низким содержанием мелкодисперсных частиц [1]. В пределах одного и того же типа почв, зависящие от их свойств (емкости поглощения, содержания обменных форм кальция и калия, органического вещества и кислотности почвенного раствора) в растениях накапливаются стронций (Sr^{90}) и цезий (Cs^{137}), которые на кислых почвах поступают в растения в больших количествах, чем на нейтральных и щелочных [1]. Из почвы радионуклиды наиболее активно поглощаются такими растениями, как подсолнечник, гречиха и эспарцет. Пчелы собирают нектар на травянистых растениях, кустарниках и деревьях высотой до 10 м. Из выше изложенного следует, что изучение распределения радионуклидов по пищевым цепям пчел на территории Южных и Восточных районов Самарской области является актуальным.

Проблема исследования состоит в необходимости снизить концентрацию радионуклидов в медоносных растениях, культивируемых на территории Южного и Восточного районов Самарской области, что повысит биологическую безопасность продуктов пчеловодства.

Цель исследования – выявить уровень концентрации радиоактивных элементов в почве, воде и воздухе, поступающих в медоносные растения, которые произрастают на территории Южного и Восточного районов Самарской области.

Материалы и методы. Исследования по определению концентрации радиоактивных элементов в воздухе, почве и воде в течение 2017-2018 гг. на территории Южного и Восточного районов Самарской области проводили один раз в месяц с апреля по ноябрь. Для определения концентрации радионуклидов в медоносных растениях – липе, подсолнечнике, гречихе, клене и эспарцете – сбор цветков проводили в период их активного цветения.

Отбор проб воздуха проводили на фильтр с тканью Петрянова с помощью воздухо-фильтрующей установки «Тайфун-3А». Затем пробу, отобранную за сутки, озоляли в муфельной печи при температуре 450^{0}С. Полученный пепел помещали в чашку Петри и равномерно распределяли [6].

Пробы почвы с естественных ландшафтов отбирали лопатой на глубине 5 см, просушивали и помещали в сосуд Маринелли. Масса навески составляла 1 кг.

Пробы воды естественных водоемов (река или озеро) отбирали пробоотборником и помещали в сосуд Маринелли, объемом 1 л.

Концентрацию радиоактивных элементов определяли с помощью гамма-спектрометрического анализа на полупроводниковом гамма-спектрометре «Гамма-1П» с программным обеспечением «Spectra Line» [6, 7].

Полученный цифровой материал подвергнут статистической обработке методами вариационной статистики с расчетом достоверности данных с помощью критерия Стьюдента и уровня значимости (Р) по специальным компьютерным программам.

Результаты исследований. Территория Самарской области расположена на юго-востоке европейской части России – в «плодородном треугольнике» – это объясняет высокое видовое разнообразие флоры и характеризуется значительной неоднородностью почвенного покрова, так как связано с расположением области в двух природных зонах – лесостепной и степной, каждая из которых занимает примерно половину территории. Почвенный покров лесостепной зоны представлен выщелоченными и типичными чернозёмами (73% территории) [5]. Относительно небольшое распространение имеют оподзоленные чернозёмы и серые лесные почвы. Основной фон почвенного покрова степной зоны образуют обыкновенные и южные чернозёмы. Большинство почв (до 80%) имеют глинистый и тяжелосуглинистый механический состав. Почвы со среднесуглинистым механическим составом составляют около 11% территории, легкосуглинистые и супесчаные – около 7%. Около 12% территории Самарской области занимают широколиственные леса (основные породы – дуб, липа, клён и другие медоносные растения) [5]. Кроме этого возделываются зерновые, масленичные и другие сельскохозяйственные культуры, которые имеют практическое значение для пчеловодства. Опыление с помощью пчел – высокоэффективный агротехнический прием, повышающий урожайность сельскохозяйственных растений, качество их плодов и семян [2, 4].

По данным В.Н.Кулакова [4] для Самарской области характерен липово-подсолнечниково-многолетнетравный тип медосбора. Липа представляет наибольшую ценность для пчеловодства, так как богата ароматным и полезным нектаром. Медопродуктивность липы до-

полняется тем ценным свойством, что её цветение совпадает с периодом наивысшей силы и активности пчелиных семей. В 2017 году на территории Самарской области площади под насаждения липы занимали 134 тыс. га: 76 тыс. га – на территории Южных районов и 58 тыс. га – на территории Восточных районов.

Подсолнечник – масленичная культура – цветет в июле - начале августа, привлекает пчел своим нектаром и пыльцой, сбор которого приходится на фазу работоспособности пчелиных семей. Площадь под подсолнечник в 2017 году на территории Самарской области составляла 259 тыс. га (154 тыс. га – Южные районы, 105 тыс. га – Восточные районы).

Клен – цветет очень рано – в апреле-мае, до распускания листьев. Цветение клена продолжается около 7-10 дней, но иногда затягивается до 16-17 дней. Пчелы собирают с его цветков нектар и пыльцу. Однако медосбор с клена часто срывается из-за холодной погоды во время его цветения. Кленовый мёд относится к светлым сортам с прекрасными вкусовыми качествами. С 1 га цветущего клёна остролистного пчёлы добывают 200 кг мёда, но обычно весь собранный мед расходуется пчелами для роста пчелиных семей.

Гречиха: в зависимости от погодных условий цветение начинается через месяц после посева и продолжается до конца лета. Культура не всегда выделяет нектар – этому процессу способствует тёплая, но не жаркая влажная погода. На территории Самарской области в 2017 году гречишные поля занимали 84 тыс. га: 37 тыс. га – на территории Южного района и 47 тыс. га – на территории Восточного района.

Эспарцет – считается одним из лучших медоносов. Цветки эспарцета выделяют нектар при температуре воздуха от 22^{0}С до 25^{0}С. Период цветения – май-июнь – совпадает с периодом активного сбора нектара пчелами. Мёд богат белками, углеводами, аскорбиновой кислотой и другими веществами, полезными для человека [4]. Посевы эспарцета в 2017 г. занимали 27 тыс. га территории Самарской области: 8 тыс. га – на территории Южных районов и 19 тыс. га – на территории Восточных районов.

По результатам радиоэкологического исследования были обнаружены повышенные концентрации K^{40} в почве и Be^7 в воздухе на территории Южных районов (рис.1).

В таблице 1 приведены результаты исследования концентрации радионуклидов (Be^7, Cs^{137}, K^{40}, Th^{232}, Ra^{226} и Sr^{90}) в почве, воде и воздухе на территории Южных и Восточных районов Самарской области. В результате исследования почвы было выявлено повышенное содержание K^{40} – максимальная концентрация обнаружена на территории Южных районов и составляла 311,14±4,55 Бк/кг. В почве Южных районов так же был обнаружен Cs^{137} (2,13±0,14 Бк/кг), Th^{232} (24,34±1,75 Бк/кг), Ra^{226} (17,08±1,94 Бк/кг) и Sr^{90} (6,49±1,37 Бк/кг). Минимальное содержание радиоактивных элементов было обнаружено на территории Восточного района. Полученные результаты исследования соответствуют нормам радиационной безопасности, т.е. согласуются с референдными данными [9].

В результате исследования содержания радиоактивных элементов в почве, воде и воздухе на территории Восточных районов Самарской области было выявлено высокое содержание Cs^{137}, K^{40}, Th^{232} и Ra^{226} в почве. Минимальная концентрация Cs^{137} и K^{40} наблюдалась в воздухе, которая составляла $0{,}017*10^{-5}$±0,005 Бк/м^3 и $0{,}31*10^{-5}$ ±0,02 Бк/м^3 соответственно. Повышенное содержание Sr^{90} зарегистрировано в воде и не превышало 7,92 ± 0,93 Бк/л, минимальное – в почве на уровне 5,48±0,05 Бк/кг. Высокое содержание Be^7 ($197{,}36*10^{-5}$ ±1,63 Бк/м^3) выявлено только в воздухе. Полученные результаты исследования соответствуют нормам радиационной безопасности, т.е. согласуются с референдными данными [9].

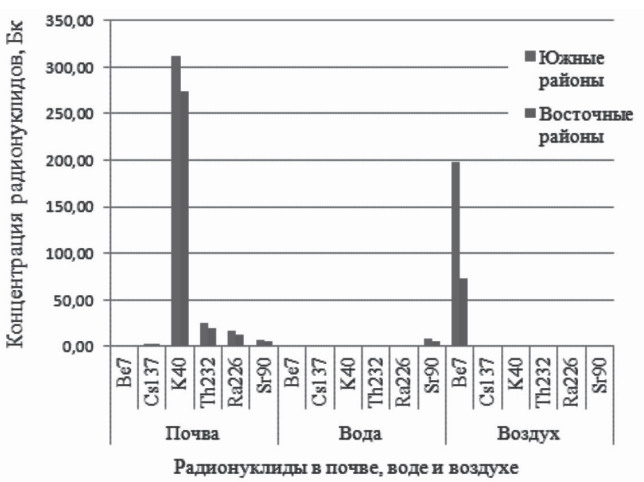

Рис. 1. Концентрация радионуклидов в почве, воде и воздухе на территории Южного и Восточного районов Самарской области.

Таблица 1

Концентрация радиоактивных элементов на территории Самарской области

Радиону-клид	Стат. показатель	Южный район			Восточный район		
		почва, Бк/кг	вода, Бк/л	воздух, n*10^{-5} Бк/м^3	почва, Бк/кг	вода, Бк/л	воздух, n*10^{-5} Бк/м^3
Be^7	M±m	-	-	197,36±1,63	-	-	72,18±0,76
Cs^{137}	M±m	2,13±0,14**	1,69±0,11**	0,063±0,012**	1,84±0,12**	1,57±0,10**	0,017±0,005**
K^{40}	M±m	311,14±4,55	-	1,54±0,26*	274,01±0,04**	-	0,31±0,02**
Th^{232}	M±m	24,34±0,75	-	-	18,76±0,64	-	-
Ra^{226}	M±m	17,08±0,94	-	-	12,71±0,53	-	-
Sr^{90}	M±m	6,49±0,37*	7,92±0,93	-	5,11±0,07**	5,48±0,05**	-

Достоверность: *P ⩾ 0,95; **P ⩾ 0,99

В таблице 2 отражены результаты определения концентрации радионуклидов в медоносных растениях, которые культивируются на территории Южного и Восточного районах Самарской области. Так, на территориях Южного района было выявлено повышенное содержание Cs^{137} в зеленой массе клена – 1,91±0,09 Бк/кг. Максимальная концентрация K^{40} и Sr^{90} обнаружена в подсолнечнике (1,83±0,09 Бк/кг и 5,18±0,49 Бк/кг, соответственно), Th^{232} – в гречихе (9,06±0,94 Бк/кг), Ra^{226} – в эспарцете (9,12 ±0,81 Бк/ кг). Необходимо отметить, что наименьшее содержание Cs^{137} зафиксировано в зеленой массе гречихи (0,72±0,09 Бк/кг). Минимальная концентрация K^{40} (1,23±0,05 Бк/кг), Th232 (3,15±0,65 Бк/ кг) и Ra^{226} (5,71±0,75 Бк/кг) наблюдалась в зеленой массе клена. В липе обнаружено минимальное содержание Sr^{90} – на уровне 2,82±0,28 Бк/кг. Полученные результаты исследования соответствуют нормам радиационной безопасности, т.е. согласуются с референдными данными [9].

Таблица 2

Концентрация радиоактивных элементов в медоносных растениях на территории Самарской области

Район	Медоносы	Стат. показатель	Радионуклид, Бк/кг				
			Cs^{137}	K^{40}	Th^{232}	Ra^{226}	Sr^{90}
Южный	Липа	M±m	0,89±0,07**	1,28±0,09**	5,17±0,52*	6,19±0,84	2,82±0,28**
	Подсолнечник	M±m	1,12±0,11**	1,83±0,09**	7,54±0,21**	7,28±0,74*	5,18±0,49*
	Гречиха	M±m	0,72±0,09**	1,45±0,07**	9,06±0,94	7,11±0,82	3,22±0,41*
	Клен	M±m	1,91±0,09**	1,23±0,05**	3,15±0,65*	5,71±0,75*	3,04±0,27**
	Эспарцет	M±m	1,22±0,08**	1,53±0,08**	8,62±0,71*	9,12±0,81	4,54±0,62
Восточные	Липа	M±m	0,26±0,08**	0,72±0,07**	3,81±0,24*	4,05±0,27*	0,95±0,09**
	Подсолнечник	M±m	0,46±0,04**	0,84±0,08**	4,30±0,28*	5,75±0,65	3,90±0,35*
	Гречиха	M±m	0,15±0,01**	0,79±0,08**	7,02±0,79	5,03±0,62	1,68±0,21*
	Клен	M±m	1,17±0,07**	0,81±0,04**	1,72±0,54*	3,17±0,29**	1,73±0,58
	Эспарцет	M±m	0,76±0,06**	0,63±0,03**	4,15±0,25*	7,24±0,75	2,97±0,64

Достоверность: *P ⩾ 0,95; **P ⩾ 0,99

На территориях Восточного района в зеленой массе клена обнаружено повышенное содержание Cs^{137} на уровне 1,17±0,07 Бк/кг. В подсолнечнике зафиксирована высокая концентрация K^{40} – 0,84±0,08 Бк/кг и Sr^{90} – 3,90±0,35 Бк/кг. Повышенное содержание Th^{232} (7,02±0,79 Бк/кг) и Ra^{226} (7,24±0,75 Бк/кг) отмечалось в гречихе и эспарцете, соответственно. Полученные результаты исследования соответствуют нормам радиационной безопасности, т.е. согласуются с референдными данными [9].

По результатам исследований необходимо отметить, что повышенное содержание Cs^{137} зафиксировано на территориях Южного района в зеленой массе клена (1,91±0,09 Бк/кг), минимальное – обнаружено на территориях Восточного района – в зеленой массе гречихи (0,15±0,01 Бк/кг). Максимальная концентрация K^{40} зарегистрирована на территориях Южного района – в подсолнечнике и не превышала 1,83±0,09 Бк/кг (рис.2). Наименьшее содержание K^{40} обнаружено на уровне 0,63±0,03 Бк/кг в эспарцете (территория Восточного

Рис. 2 Концентрация радионуклидов в медоносных растениях, культивируемых на территории Южных и Восточных районов Самарской области

района). Повышенная концентрация Th^{232} была отмечена в гречихе (9,06±0,94 Бк/кг), которая культивируется на территории Южного района (рис.2). Минимальное содержание Th^{232} обнаружено на уровне 1,72±0,54 Бк/кг в клене (территория Восточного района). Максимальное значение Ra^{226} зарегистрировано на территориях Южного района в эспарцете, которое не превышало 9,12±0,81 Бк/кг (рис.2). Минимальная концентрация Ra^{226} зафиксирована на территориях Восточного района – в клене (3,17±0,29 Бк/кг). Повышенное содержание Sr^{90} обнаружено на территориях Южного района – в подсолнечнике (5,18±0,49 Бк/кг), минимальное – на территориях Восточного района – в липе (0,95±0,09 Бк/кг). Полученные результаты исследования соответствуют нормам радиационной безопасности, т.е. согласуются с референдными данными [9].

Заключение. Повышенное содержание таких радионуклидов, как Cs^{137}, K^{40}, Th^{232}, Ra^{226} и Sr^{90} наблюдали на территориях Южного района Самарской области, что обусловлено негативным влиянием промышленных предприятий на окружающую среду. Почвы Восточного района Самарской области оказались наиболее благоприятными – обнаруженные максимальные концентрации радионуклидов значительно ниже по сравнению с максимальными значениями на территории Южного района Самарской области.

Литература

1. Распространение радионуклидов вблизи урановых разработок Д.А.Зарединов [и др.] // Радиационная гигиена. – 2016. – Т. 9, №4.– С. 37-40.

2. Ишемгулов А.М. Оценка кормовой базы заказника «Алтын Солок» как основа для сохранения и размножения башкирской бортевой пчелы / А.М Ишемгулов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013 - №1 (39) – С. 239.

3. Крышев, И.И. Радиоэкологическая обстановка в биосфере и реальность ее оптимизации / И.И.Крышев, Т.Г. Сазыкина // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». – 2009 – Том 1, №2. – С. 203-212.

4. Кулаков, В.Н. Медоносные ресурсы субъектов Российской Федерации: монография / В.Н. Кулаков. – М., 2013. – 329 с.

5. Ларионов, А.И. Государственный доклад о состоянии окружающей среды и природных ресурсов Самарской области за 2014 год. Выпуск 25 / А.И.Ларионов. – Самара, 2015. – 298 с.

6. Наблюдения за радиоактивным загрязнением природной среды: наставление гидрометеорологическим станциям и постам / под ред. В.Г.Булгакова [и др.]. – Обнинск: НПО «Тайфун», 2015. – Вып. 12. – 96 с.

7. Нурлыбаев, К. Государственный реестр средств измерений РФ: приборы радиационного контроля. Часть 2. Носимые радиометры-дозиметры / К. Нурлыбаев // Анри – 2007. – №4 (51). – С. 2-9.

8. Радиационная обстановка на территории России и сопредельных государств в 2015 году. Ежегодник / под ред. В.М.Шершакова, В.Г.Булгакова, С.М.Вакуловского [и др.] – Обнинск: ВНИИГМИ-МЦД, 2016. – 348 с.

9. Критерии реабилитации объектов и территорий, загрязненных радионуклидами в результате прошлой деятельности: Часть 1. Выбор показателей для обоснования критериев реабилитации / И.К.Романович, И.П.Стамат, Н.И.Санжарова, А.В. Панов // Радиационная гигиена. – 2016. – Т. 9, № 4. – С. 6-15.

10. Семенихина, М.Е. Некоторые аспекты радиоэкологического мониторинга объектов окружающей природной среды в районе размещения КАЭС / М.Е.Семенихина // Вестник МГТУ. – 2006. – Том 9, № 5. – С. 843-846.

11. Топурия, Л.Ю. Эффективность препаратов тимуса при лучевой патологии животных / Л.Ю.Топурия, Е.Г. Семёнова // Известия Оренбургского государственного агарного университета. – 2004. – № 2. – С. 107-108.

CONCENTRATION OF RADIONUCLIDES IN HONEY PLANTS CULTIVATED IN THE SOUTHERN AND EASTERN REGIONS OF THE SAMARA REGION

***Zalybina Yu.N.** – postgraduate student; **Grigoriev V.S.** – Doctor of Biological Sciences, professor.*

Samara State Regional Academy (Nayanova), Samara (e-mail: ula160688@yandex.ru).

The paper presents data on the results of the assessment of radioactive elements migration from soil, air and water entering the honey plants: linden, sunflower, buckwheat, maple and sainfoin, which are cultivated in the Southern and Eastern regions of the Samara region. According to the results of the study, the increased concentrations of K40 and Be7 in soil and air in the Southern and Eastern regions were found. The obtained maximum concentrations in soil, water and air are safe, but honey plants are more sensitive to radioactive contamination, which reduces the biological value of honey. Therefore, the environmentally harmless and biologically safe from radionuclides (Cs137) nectar is collected by bees from sainfoin (0.76 Bq/kg), sunflower (0.46 Bq/kg), Linden (0.26 Bq/kg) and buckwheat (0.15 Bq/kg). The highest concentrations of Ra226 were found in the flowers of sainfoin (9.12 Bq/kg), Th232 – in the flowers of buckwheat (9.06 Bq/kg). Such concentrations of radionuclides do not have harmful effects on living organisms, but reduce the quality of honey. Although, we must not forget about the feature of radioactive elements to accumulate, which subsequently has a harmful effect on humans.

KEYWORDS: Eastern region, Southern region, Samara region, radioactive elements, honey plants, water, soil, air, concentration of radionuclides.

References

1. Rasprostranenie radionuklidov vblizi uranovykh razrabotok [Spreading radionuclides in the vicinity of uranium developments] / D.A.Zaredinov [et al.] // Radiatsionnaya gigiena. – 2016. - Vol. 9, № 4. - P. 37-40.

2. Ishemgulov, A.M. Otsenka kormovoy bazy zakaznika «Altyn Solok» kak osnova dlya sokhraneniya i razmnozheniya bashkirskoy bortevoy pchely / A.M.Ishemgulov [Evaluation of the forage base of the Altyn Solok reserve as a basis for the preservation and reproduction of the Bashkir wild-bee] / Ishemgulov A.M. // Proceedings from the Orenburg State Agrarian University. – 2013 – №1 (39) – P. 239.

3. Kryshev, I.I. Radioekologicheskaya obstanovka v biosfere i realnost ee optimizatsii [Radioecological situation in the biosphere and the reality of its optimization] / I.I.Kryshev, T.G Sazykina // Interdisciplinary scientific and applied journal "Biosphere" – 2009. –Vol. 1, № 2. – P. 203-212.

4. Kulakov, V.N. Medonosnye resursy subyektov Rossiyskoy Federatsii: monografiya [Honey resources of subjects of the Russian Federation: monograph] / V.N.Kulakov. – M., 2013. – 329 p.

5. Larionov, A.I. Gosudarstvenny doklad o sostoyanii okruzhayuschey sredy i prirodnykh resursov Samarskoy oblasti za 2014 god. Vypusk 25 [State report on the state of the environment and natural resources of the Samara region for 2014. Issue 25] / A.I.Larionov. – Samara, 2015. – 298 p.

6.. Nablyudeniya za radioaktivnym zagryazneniem prirodnoy sredy: nastavlenie gidrometeorologicheskim stantsiyam i postam [Monitoring of radioactive contamination of the environment: instruction to hydrometeorological stations and posts] / edited by V.G.Bulgakov [et al.]. – Obninsk: the "Typhoon", 2015. – Issue. 12. – 96 p.

7. Nurlybaev, K., Gosudarstvenny reestr sredstv izmereniy RF. pribory radiatsionnogo kontrolya. Chast 2. Nosimye radiometry-dozimetry [State register of measuring instruments of the Russian Federation: radiation monitoring devices. Part 2. Portable radiometers-dosimeters] / K.Nurlybaev // Anry-2007. – №4 (51). – P. 2-9;

8. Radiatsionnaya obstanovka na territorii Rossii i sopredelnykh gosudarstv v 2015 godu. Ezhegodnik [Radiation situation in Russia and neighbouring countries in 2015. Yearbook] / edited by V.M.Shershakov, V.G.Bulgakov, S.M.Vakulovsky [et al.]. – Obninsk: VNIIGMI-MCD, 2016. – 348 p.

9. Kriterii reabilitatsii obyektov i territoriy, zagryaznennykh radionuklidami v rezultate proshloy deyatelnosti: Chast 1. Vybor pokazateley dlya obosnovaniya kriteriev reabilitatsii [Criteria for the rehabilitation of facilities and areas contaminated with radionuclides as a result of past activities: Part 1. Selection of indicators to justify the criteria for rehabilitation] / I.K.Romanovich, I.P.Stamat, N.I.Sanzharova, A.V.Panov // Radiatsionnaya gigiena. – 2016. – Vol. 9, № 4. – P. 6-15.

10. Semenikhina, M.E. Nekotorye aspekty radioekologicheskogo monitoringa obyektov okruzhayuschey prirodnoy sredy v rayone razmescheniya KAES [Some aspects of radioecological monitoring of environmental objects in the area of KAES location] / M.E.Semenikhina // Bulletin of Moscow GTU. – 2006. – Vol. 9, № 5. – P. 843-846.

11. Topuriya, L.Yu. Effektivnost preparatov timusa pri luchevoy patologii zhivotnykh [The effectiveness of drugs of the thymus in radiation diseases of animals] / L.Yu.Topuriya, E.G.Semenova // Proceedings from the Orenburg State Agrarian University. – 2004. – №. 2. – C. 107-108.

ЛИДЕР МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ ГОТОВИТСЯ К ВЫСТАВКЕ «MVC: ЗЕРНО-КОМБИКОРМА-ВЕТЕРИНАРИЯ-2019»

ООО «ЭкоНива-АПК Холдинг» примет участие в **XXIV Международной специализированной торгово-промышленной выставке «MVC: Зерно-Комбикорма-Ветеринария-2019»**, которая состоится **с 29 по 31 января 2019 года** в павильоне **№ 75 ВДНХ** (Москва). Компания проведет семинар, посвященный молочному животноводству.

Мероприятие состоится **30 января** в конференц-зале № 239 (зал В) с 15:00 до 17:00. С докладами выступят заместитель генерального директора по животноводству ООО «ЭкоНива-АПК Холдинг» Михаил Гурнов, руководитель отдела кормления Виктор Косинцев, главный ветеринарный врач холдинга Сергей Куприянов. Специалисты расскажут о ключевых аспектах сбалансированного кормления высокопродуктивного молочного скота и организации воспроизводства стада на крупных животноводческих комплексах.

ООО «ЭкоНива-АПК Холдинг» – один из ведущих аграрных холдингов России. По данным Центра изучения молочного рынка (ЦИМР), предприятие занимает первую строчку ТОП-50 в рейтинге крупнейших производителей молока России. По версии журнала «Агроинвестор», компания «ЭкоНива» вошла в пятерку самых медийных компаний агросектора.

Сельхозпредприятия холдинга работают в Воронежской, Курской, Новосибирской, Калужской, Рязанской, Оренбургской и Тюменской областях на площади более 460 000 га, обеспечивая рабочими местами порядка 9420 человек.

Приоритетным направлением в работе компании является молочное производство. Агрохолдинг является одним из крупнейших производителей молока в России и Европе (по данным на 3 декабря 2018 г., за сутки холдинг произвел около 1500 тонн молока). ООО «ЭкоНива-АПК Холдинг» занимается племенным и мясным скотоводством, семеноводством, растениеводством, органическим производством. Холдинг имеет четыре молокоперерабатывающих завода и агротуристический проект «Академия Молочных Наук», целью которого является популяризация молока, здорового образа жизни и сельских профессий.

Напомним, в деловую программу XXIV Международной специализированной торгово-промышленной выставки «MVC: Зерно-Комбикорма-Ветеринария-2019» входит порядка 20 мероприятий. К участию в выставке готовятся **более 430 компаний из 28 стран**: Австрии, Азербайджана, Беларуси, Бельгии, Болгарии, Великобритании, Германии, Дании, Италии, Испании, Казахстана, Канады, Китая, Кореи, Нидерландов, Норвегии, Польши, Сербии, Словении, США, Турции, Украины, Финляндии, Франции, Чехии, Швейцарии, Японии и **40 регионов России**. Занимаемая площадь выставки – **свыше 24.000 кв.м.**

Полную версию деловой программы и бесплатный электронный билет на выставку ищите на сайте: www.mvc-expohleb.ru

Для журналистов предусмотрена аккредитация, которую необходимо пройти на сайте до 16 января.

Контакты оргкомитета:
(495) 755-50-38, (495) 755-50-35, (495) 974-00-61; info@expokhleb.com

Мы в социальных сетях:
https://www.facebook.com/groups/141080153114178/?ref=bookmarks

https://vk.com/club149073600

https://www.instagram.com/mvc_zerno/

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ:

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ - ВНИВИ»).

РЕДАКЦИОННО-ЭКСПЕРТНЫЙ СОВЕТ

Председатель редакционно-экспертного совета – **К.Х.Папуниди** – доктор ветеринарных наук, профессор.

Н.М.Василевский – доктор ветеринарных наук, профессор.
В.В.Евстифеев – доктор биологических наук.
Г.В.Конюхов – доктор биологических наук, профессор.
Х.Н.Макаев – доктор ветеринарных наук, профессор.
Э.И.Семенов – кандидат биологических наук.
В.И.Степанов – кандидат ветеринарных наук.
А.Н.Чернов – доктор биологических наук.

Журнал включен в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Ответственный секретарь – Т.Ю.Скурко
Переводчик – Ю.Л. Бикмухаметова
Корректор – Ю.Л. Бикмухаметова
Верстка – Р.З.Бухмина
С предложениями о размещении РЕКЛАМЫ звоните по телефону (843) 239-53-26

Подписной индекс: в Российской Федерации «Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы» – 43596

Печатается с макетов, представленных авторами.

Адрес редакции: 420075, г. Казань, Научный городок-2, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».
Тел./факс: (843) 239-53-26 (редакция),
239-53-20 (приемная),
e-mail: vetvrach-vnivi@mail.ru, www.vetvrach-vnivi.ru

Подписано к печати 20.12.2018. Тираж 1350 экз.
Зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. (Роскомнадзор).
Свидетельство ПИ № ФС 77-47773 от 16 декабря 2011 г.
Отпечатано в типографии «КОНВЕРС», г. Казань, ул. Сары Садыковой, 61.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор **Андрей Иванович Никитин** – кандидат ветеринарных наук, директор ФГБНУ "ФЦТРБ-ВНИИВИ".

Ф.И.Василевич – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ректор МГАВМиБ им. К.И.Скрябина (Москва, Россия).

М.И.Гулюкин – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия).

А.С.Донченко – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, председатель ГНУ «Сибирское региональное отделение РАН» (Краснообск, Россия).

И.М.Донник – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, вице-президент РАН (Екатеринбург, Россия).

А.Н.Панин – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия).

Р.Х.Равилов – доктор ветеринарных наук, профессор, ректор КГАВМ им. Н.Э.Баумана (Казань, Россия).

М.В.Розовенко – доктор ветеринарных наук, профессор, главный советник Аппарата Комитета Совета Федерации по аграрно-продовольственной политике и природопользованию (Москва, Россия).

А.Я.Самуйленко – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН (пос. Биокомбинат, Московская область, Россия).

Ф.С.Сибагатуллин – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент АН РТ, депутат Государственной думы РФ (Казань, Россия).

А.М.Смирнов – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия).

В.В.Сочнев – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой, Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия (Нижний Новгород, Россия).

А.А.Стекольников – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ректор Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины (Санкт-Петербург, Россия).

Б.В.Уша – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой МГУПП (Москва, Россия).

С.В.Шабунин – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, директор ВНИВИПФиТ (Воронеж, Россия).

Gormley E.P. – PhD (Genetics) (Дублин, Ирландия).

Harkiss G.– BSc, PhD (Эдинбург, Соединенное Королевство).

Kasem Soytong – BSc, PhD, Associate professor, президент ассоциации сельскохозяйственных технологий Юго-Восточной Азии (Бангконг, Таиланд).