РОССИЙСКИЙ ЖУРНАЛ

ПРОБЛЕМЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ САНИТАРИИ, ГИГИЕНЫ И ЭКОЛОГИИ

№ 2(12), 2014

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере коммуникаций и охране культурного наследия (ПИ № ФС77-34154 от 20.11.2008). Выходит один раз в полугодие. Распространяется в Российской Федерации и других странах. Статьи рецензируются.

Учредитель: ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии» Россельхозакадемии.

Адрес редакции: 123022, Россия,
Москва, Звенигородское шоссе, дом 5
Тел.:(499)256-35-81;
Факс:(499)256-35-81
E-mail: vniivshe@mail.ru

Отпечатано в типографии Россельхозакадемии:
115598, Россия, Москва, ул. Ягодная, 12
Тел.: (495) 976-35-78, 329-45-00
Факс: (495) 976-12-21
E-mail: typograf-rashn@yandex.ru

Тираж 500 экз. Заказ №
Формат 70x108/16. Объем 8,8 усл.п.л.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Рукописи публикуются бесплатно.

Журнал включен в утвержденный ВАК перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны публиковаться основные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук

© «Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»

Подписано в печать 20.11.2014 г.

ISSN 2075-1818

Редакция:
Смирнов А. М. – главный редактор
Дорожкин В. И. – зам. главного редактора
Бутко М. П. – ответственный редактор
Гуненкова Н. К. – редактор
Ярных Е. В. – редактор
Макарова Г. С. – редактор

Редакционный совет:
Антипов В. А., д-р вет. наук, чл.-корр. РАСХН;
Боровков М. Ф., канд. вет. наук, проф.;
Боченин Ю. И., д-р вет. наук;
Виноградов П. Н., канд. с.-х. наук, доцент;
Долгов В. А., д-р вет. наук, проф.;
Донник И. М., д-р биол. наук, акад. РАСХН;
Желтов В. А., д-р биол. наук;
Кабардиев С. Ш., д-р вет. наук;
Кононенко А. Б., канд. биол. наук, доцент;
Кононенко Г. П., д-р биол. наук, проф.;
Мирзоев Д. М., д-р вет. наук, проф.; чл-корр. Таджикской академии сельскохозяйственных наук;
Попов Н. И., д-р вет. наук; проф.;
Светличкин В. В., д-р биол. наук, проф.;
Серегин И. Г., канд. вет. наук, проф.;
Стегний Б. Т., д-р вет. наук, проф.; акад. Украинской академии аграрных наук, иностранный член РАСХН;
Тюрин В. Г., д-р вет. наук, проф.;
Удавлиев Д. И., д-р. биол. наук;
Уша Б. В., д-р вет. наук, акад. РАСХН.
Ятусевич А. И., д-р вет. наук, проф,.; иностранный член РАСХН.

Подписной индекс 38706

СОДЕРЖАНИЕ

Бутко М. П., Фролов В. С., Попов П. А., Лемясева С. В. Новое направление в получении биоцидов и их прикладное значение 6

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНОЕ КАЧЕСТВО И БЕЗОПАСНОСТЬ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОВОДСТВА И КОРМОВ

Бабунова В. С., Жунина О. А. Определение в молоке широкого спектра ингибирующих веществ с использованием индикатора метиленового голубого. 11

Королева Л. Г. Экспресс-методы производственного контроля безопасности молока 16

Удавлиев Д. И., Андрианова Т. Г., Киселева Ю. А. Ветеринарно-санитарные исследования кормов в Рязанской области 22

Пирязева Е. А., Малиновская Л. С. Микобиота сенажированных кормов, заготовленных в Московской области. 26

ВЕТЕРИНАРНАЯ САНИТАРИЯ (ДЕЗИНФЕКЦИЯ, ДЕЗИНСЕКЦИЯ, ДЕЗАКАРИЗАЦИЯ, ДЕРАТИЗАЦИЯ)

Сироткин И. В. Санитарно-микробиологический мониторинг эффективности режимов профилактической дезинфекции поверхностей технологического оборудования мясосырьевого цеха 33

Кадиров А. Ф., Клементьева С. А. Новая форма приманок на основе органических гелеобразующих веществ для борьбы с синантропными грызунами в объектах ветеринарного обслуживания 37

САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Кононенко А. Б., Банникова Д. А., Британова С. В., Светличкин О. В., Лобанов А. В. Эффективность использования препаратов на основе коллоидного серебра в целях контроля содержания энтеробактерий на объектах ветеринарного надзора 41

Ларионов Г. А., Миловидова Н. И., Дмитриева О. Н., Сергеева М. А. Обработка вымени коров для регулирования качества микроорганизмов в молоке..... 47

Алиев А. Ю. Чувствительность кокковой микрофлоры, выделенной из секрета молочных железы у овец, к антибиотикам 51

ЗООГИГИЕНА

Шабунин С. В., Алехин Ю. Н., Курило Н. Ф., Галкин А. В. Влияние содержания кислорода в атмосферном воздухе на состояние здоровья свиней 55

ЭКОЛОГИЯ

Нохрин Д. Ю., Грибовский Ю. Г., Давыдова Н. А. Качество воды в ряде животноводческих хозяйств Челябинской области 60

ВЕТЕРИНАРНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ И РАДИОБИОЛОГИЯ

Дорожкин В. И., Кроль М. Ю. Токсикологическое и санитарное значение тяжелых металлов 65

Жоров Г. А., Рубченков П. Н., Захарова Л. Л. Биопротекторная роль серосодержащих соединений и перспективы применения натрия тиосульфата как полифункционального препарата 69

Ческидова Л. В. Эмбриотоксические и тератогенные свойства препарата флоропен. 74

Папуниди К. Х., Кадиков И. Р., Тремасов М. Я., Вафин И. Ф., Иванов А. А. Клинико-гематологические показатели крови овец при сочетанном отравлении диоксином и Т-2 токсином в малых и сверхмалых дозах 77

Исмагилова А. Ф., Чудов И. В. Терапевтическая эффективность применения композиции МЭК+А+П при лечении токсической диспепсии у телят..... 80

Степанова А. М., Тарабукина Н. П., Неустроев М. П., Федорова М. П., Парникова С. И., Ефимова П. А, Сафонова Н. В. Применение пробиотиков в самом северном зоопарке России..... 87

Чудов И. В., Шарипов А. Р. Изучение противоязвенной активности бисизодиникотиноата бетулина 91

Масимов Н. А., Байматов В. Н., Тимченко М. Д., Хромова Е. В., Масимов Э. Н. Стимуляция специфических и неспецифических защитных механизмов организма кошек препаратом форвет при микроспории 95

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Сотникова В. М., Шурдуба Н. А. Методы обнаружения энтеротоксинов золотистых стафилококков, выделенных из молока больных маститом коров..... 100

CONTENTS

Butko M. P., Frolov V. S., Popov P. A., Lemyaseva S. V. A new trend in obtaining biocides and their practical importance 6

VETERINARY-SANITARY QUALITY AND SAFENESS OF FOOD PRODUCTS AND FEEDSTUFFS

Babunova V. S., Zhunina O. A. Determination of a wide range inhibitory substances by using indicator methylen blue in milk 11

Koroleva L. G. Express-methods for practical control of milk safety..... 16

Udavliev D. I., Andrianova T. G., Kiseleva Yu. A. Veterinary-sanitary studies on feeds in Ryazan region 22

Piryazeva E. A., Malinovskaya L. S. Mycobiota of hay forage laid in Moscow region 26

VETERINARY SANITATION (DISINFECTION, DISINSECTION, DISACARISATION, DERATIZATION)

Sirotkin I. V. Sanitary-microbiological monitoring the effectiveness of preventive disinfection regimes for the surfaces of the technological equipment in meat raw shop... 33

Kadirov A. F., Klementieva S. A. A new form of the baits on a base of organic gel-forming substances against the commensal rodents in veterinary care object..... 37

SANITARY MICROBIOLOGY

Kononenko A. B., Bannikova D. A., Britova S. V., Svetlichkin O. V., Lobanov A. V. Effectiveness of using the preparation on a base of colloidal silver to control a number of enterobacteries at the veterinary surveillance objects 41

Larionov G. A., Milovidova N. I., Dmitrieva O. N., Sergeeva M. A. Treatment of cow udder to control the number of microorganisms in cow milk 47

Aliev A. Yu. Sensitivity of microflora isolated from milk gland secret of sheep to antibiotics 51

ZOOHYGIENE

Shabunin S. V., Alekhin Yu. N., Kurilo N. F., Galkin A. V. Effect of oxygen level in ambient air onto the health of the pigs..... 55

ECOLOGY

Nokhrin D. Yu., Gribovsky Yu. G., Davydova N. A. Water quality at several animal raising farms in Chelyabinsk region 60

VETERINARY PHARMACOLOGY, TOXYCOLOGY, RADIOBIOLOGY

Dorozhkin V. I., Krol M. Yu. Toxicological and sanitary significance of heavy metals . 65

Zhorov G. A., Rubchenkov P. N., Zakharova L. L. Bioprotective role of sulfur-containing combinations and perspectives of using sodium thiosulphate as polyfunctional preparation 69

Cheskidova L. V. Embryotoxical and teratogenic properties of floropen preparation . 74

Papunidi K. Kh., Kadikov I. R., Tremasov M. Yu., Vafin I. F., Ivanov A. A. The clinical and hematological indices in sheep blood in case of combined intoxication with dioxin and T-2 toxin in slight and over slight doses 77

Ismagilova A. F., Chudov I. V. Treatment of toxic dyspepsia in calves 80

Stepanova A. M., Tarabukina N. P., Neustroev M. P., Fedorova M. P., Parnikova S. I., Efimova P. A., Safonova N. V. Using the probiotics in the most northen zoo of Russia..... 87

Chudov I. V., Sharipov A. R. A study on antiulcerated activity of betulin bisizodinicotionatum 91

Masimov N. A., Baimatov V. N., Masimov E. N., Timchenko M. D., Khromova E. V. Stimulation of specific and nonspecific protective mechanisms in cat body in case of microsporia 95

REVUES

Sotnikova V. M., Shurduba N. A. Methods of detecting *Staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with mastitis..... 100

ПРАВИЛА

оформления статей для опубликования в «Российском журнале «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»

В журнале публикуются научные статьи по результатам экспериментальных исследований, а также обзоры литературы по фундаментальным и прикладным вопросам ветеринарной санитарии, гигиены и экологии.

Статьи по экспериментальным материалам должны включать:

название статьи; фамилию, имя и отчество автора(ов); название учреждения(й); контактные телефоны или адрес электронной почты; резюме на русском языке; ключевые слова; введение; материалы и методы; результаты и обсуждение; выводы (заключение); список литературы; резюме на английском языке; ключевые слова на английском языке.

Обзорные статьи, статьи теоретического и концептуального характера должны включать:

название статьи; фамилию, имя и отчество автора(ов); название учреждения(й); контактные телефоны или адрес электронной почты; резюме на русском языке; ключевые слова; введение; разделы по обсуждаемым вопросам; выводы; список литературы; резюме на английском языке; ключевые слова на английском языке.

Статьи представляют на русском языке на белой бумаге формата А4 в печатном (1 экз.) и электронном виде (на дискете 3,5 дюйма или компакт-диске) в редакторе Word 98 и выше, объемом не более 10 страниц, включая таблицы, схемы, рисунки и список литературы; шрифт Times New Roman, размер 14, интервал 1,5; с полями: левое – 3 см, правое – 2 см, верхнее и нижнее – 2 см, абзац 5 знаков. Страницы должны быть пронумерованы сверху по центру. Объем обзорных статей не должен превышать 14 стр.

Таблицы должны включать обобщенные и статистически обработанные материалы.

При обработке экспериментального материала используют международную систему единиц (СИ). При написании числовых значений десятые доли отделяют от целого числа запятой (не точкой).

Каждая таблица должна быть снабжена заголовком и вставлена в текст сразу после абзаца с первой ссылкой на нее.

Число графического материала (схемы, рисунки) не должно превышать 5 единиц. Приведенные в них данные не должны повторять материалы таблиц. Каждый рисунок должен иметь подпись и вставлен в текст после ссылки на него.

Сокращенное написание слов, названий допускается только после предварительного полного написания.

Библиографические ссылки в тексте статьи даются в квадратных скобках в соответствии с нумерацией в списке литературы.

В списке литературы в алфавитном порядке должны быть перечислены фамилии и инициалы сначала отечественных авторов, затем зарубежных, далее дано название статьи, наименование издания, указаны место и год издания, номер тома, выпуска, а также число страниц (от и до).

Если авторов не более четырех, они упоминаются все, при большем числе авторов перечисляют первые три, далее пишут «и др.».

Статья должна быть подписана всеми авторами, на первой странице иметь визу руководителя учреждения «В печать».

Статью на бумажном носителе (1 экз.), дискету или компакт-диск в сопровождении официального направления учреждения, в котором выполнена данная работа, а также письменное согласие авторов на переиздание (копирование, в том числе путем создания электронной копии) их статьи в «РУНЭБ» направляют в редакцию журнала нарочным или почтой.

Статьи, оформленные не по правилам, не рассматриваются.

Все статьи, поступившие в редакцию, подлежат рецензированию. Присланные рукописи обратно не возвращаются.

Статьи следует направлять по адресу: 123022, Москва, Звенигородское шоссе, дом 5, ГНУ ВНИИВСГЭ, редакция «Российского журнала «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии».

Справки по телефону 499-256-04-88; 499-253-13-89

УДК 619:614.48

НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В ПОЛУЧЕНИИ БИОЦИДОВ И ИХ ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ

М. П. Бутко, В. С. Фролов, П. А. Попов, С. В. Лемясева

ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

В статье приведены данные по получению дезинфицирующих средств электрохимическим синтезом растворов хлорида натрия и технология их применения на объектах агропромышленного комплекса.

Ключевые слова: электрохимический синтез, дезинфицирующее средство, перспектива и эффективность применения, области использования.

Введение

Важное значение для отраслей сельскохозяйственного производства и предприятий по выпуску готовой пищевой продукции животного и растительного происхождения имеет обеспечение ее безопасности при употреблении человеком, что требует соблюдения высокого санитарного уровня их производства, хранения и реализации. В связи с этим следует обращать внимание на выбор дезинфицирующих средств, к которым необходимо предъявлять следующие требования: они должны обладать широким спектром обеззараживающего действия, эффективно уничтожать бактерии, вирусы, грибы и споры; обладать моющей и минимальной коррозионной способностью; быть безопасными для человека и животных; максимально простыми в применении; быть при этом относительно недорогими, а также безопасными для окружающей среды. Как следует из научных публикаций последних лет, этим требованиям не соответствует большинство типов антимикробных средств, действующие вещества которых представлены стабильными химическими соединениями, несмотря на то что такие препараты (гидроксид натрия, формалин, хлорная известь, фенолы, крезолы, кислоты, йодофоры и др.) и композиции на их основе широко применяются в настоящее время в практике. Используемые для дезинфекции средства, содержащие хлор, пероксид водорода, формальдегид и др., обладают высокой летучестью, токсичностью, экологически небезопасны. В России разрешено применение более 400 химических средств отечественного и зарубежного производства [5], и их число постоянно растет. Разработка новых дезинфицирующих препаратов идет в основном за счет создания композиций химических средств.

Таким образом, разработка новых высокоэффективных, дешевых и многофункциональных, экологически безопасных дезинфицирующих средств представляет собой важное и приоритетное направление исследований в области санитарии.

Новое направление в получении биоцидов

Альтернативой стабильным химическим препаратам являются электрохимически активированные растворы хлорида натрия (ЭХА-растворы), до 99,5% действующего вещества которых находится в метастабильном состоянии. Технология получения биологически активных растворов электрохимической активацией растворов хлорида натрия (ЭХАР) разработана и описана профессором В. М. Бахиром в 1972 г. [1], а само понятие «электрохимическая активация» было предложено в 1973 г. Дезин-

фицирующие растворы синтезируются в установках «СТЭЛ» (анолит АНК) и «Аквахлор» (раствор оксидантов) и их модификациях.

Электрохимически активированные растворы анолита АНК и оксидантов – это высокоэффективные дезинфицирующие и моющие растворы, которые характеризуются набором следующих оксидантов: хлорноватистая кислота (HClO), гидропероксидные (H_2O_2) и хлоркислородные оксиданты (ClO^-, ClO_2); диоксид хлора (ClO_2), молекулярный хлор (Cl_2), синглетный молекулярный кислород ($^1O_2$), озон (O_3), все компоненты находятся в активной фазе. Растворы могут применяться без средств индивидуальной защиты в присутствии людей, так как относятся к минимальному (4-му) классу токсичности; благодаря метастабильному составу действующих веществ после окончания дезинфекционной обработки деградируют до неопасных веществ и не требует дальнейшей утилизации; не накапливаются во внешней среде.

Основные отличия ЭХА-растворов от традиционных антимикробных средств состоят в следующем: концентрация действующих веществ, как минимум, в 5 раз меньше, чем в растворах большинства других известных дезинфицирующих, стерилизующих и моющих средств, что при их общей малой минерализации полностью исключает адсорбционно-осмотическое увлажнение пористых материалов за счет поглощения влаги из воздуха после окончания обработки и испарения воды, увлажнение поверхностей в процессе аэрозольной обработки. Действующие вещества этих растворов (аналита и раствора оксиданта) не выделяются в воздух помещений после окончания их обработки.

В отличие от дезинфицирующих и стерилизующих растворов [на основе глутарового альдегида, формальдегида, хлорамина, дихлоризоциануратов, надуксусной кислоты, четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), соединений тяжелых металлов] ЭХА-растворы оксидантов не содержат чуждых организму человека и теплокровных животных веществ-ксенобиотиков. Антимикробные вещества ЭХА-растворов (биокаталитически активная низкоконцентрированная смесь хлоркислородных и гидропероксидных оксидантов) обычно синтезируются в организме человека и теплокровных животных специализированными электрохимически активными ферментами клеток и участвуют в процессах нейтрализации вредных и чужеродных веществ в организме в процессе фагоцитоза [3].

Метастабильная смесь ЭХА-растворов является наиболее эффективным из известных средств уничтожения микроорганизмов; обеспечивает полное отсутствие адаптации (привыкания) микроорганизмов к раствору оксидантов. Себестоимость раствора, для получения которого используют раствор пищевой поваренной соли, при удельном расходе электроэнергии 2...3 Вт-ч/л, составляет 13...50 коп. за 1 л с учетом амортизации установки. Например, для получения 1 кг оксидантов в установках «Аквахлор» расходуется не более 200...255 г/л хлорида натрия. Это позволяет использовать растворы оксидантов в больших объемах на месте применения на любых объектах, где есть подводка электричества и воды.

После применения они не оставляют следов и не требуют последующей нейтрализации. Благодаря метастабильному составу действующих веществ ЭХА-растворы после окончания дезинфекционной обработки деградируют до исходных веществ (слабоминерализованная вода), не требуют дальнейшей утилизации и не накапливаются на обрабатываемых поверхностях и во внешней среде, что обеспечивает их экологическую безопасность. Кроме того, исключить развитие резистентности микроорганизмов к антимикробным средствам возможно только при применении растворов с метастабильными действующими веществами, самопроизвольный распад которых во время экспозиции обеспечивает множественность и непредсказуемость (для микроорганизмов) путей развития

реакций, нарушающих процессы их жизнедеятельности [2, 3].

Перспектива и области применения дезинфицирующих растворов, получаемых электрохимическим синтезом

К настоящему времени ЭХА-растворы широко испытаны в различных отраслях народного хозяйства и наработан большой теоретический и практический материал, что позволяет, на наш взгляд, говорить о наиболее перспективном направлении синтеза и применения биоцидных средств. Так, последние испытаны с положительным результатом и применяются в медицине, ветеринарии, сельскозяйственном производстве и пищевой промышленности, на транспорте. Кроме того, ЭХА-технология нашла применение в коммунальном хозяйстве, военном деле, при обработке металлов в черной и цветной металлургии, бурении скважин, разработке нефтяных и газовых месторождений, нефтехимической, химической, электронной, деревообрабатывающей промышленности, горном деле, лесной, целлюлозно-бумажной отрасли, в производстве строительных материалов.

Из всех характеристик ЭХАР на одно из первых мест по значимости следует ставить высокую антибактериальную активность оксидантов, в частности, для применения с целью дезинфекции объектов в различных отраслях [2 – 5].

Применение ЭХА-растворов в сельскохозяйственном производстве и пищевой промышленности

Накопленные результаты экспериментальных и производственных испытаний применения ЭХАР на объектах АПК позволяют подтвердить их высокую эффективность [6, 7, 9, 10]:

• в животноводстве: для мойки и дезинфекции помещений различного назначения, оборудования, тары и других объектов;

• при инфекционных заболеваниях животных: эшерихиозе, сальмонеллезе, кишечных инфекциях новорожденных телят, ньюкаслской болезни, гриппе птиц, сибирской язве, инфекционной диарее телят, кампилобактериозе птиц, а также для инактивации вирусов, бактерий, бактериофагов, дрожжей и токсинов;

• в мясо-молочной промышленности: для дезинфекции помещений и оборудования мясоперерабатывающих предприятий, помещений и оборудования молокозаводов; при хранении мяса; в процессе созревания сыров; для раскисления молока; при откорме молодняка крупного рогатого скота для улучшения качества мяса и др.;

• в птицеводстве и птицеперерабатывающей промышленности: для обеззараживания цехов убоя и переработки птиц, санации тушек (в том числе при сальмонеллезе); применение аэрозолей анолита и католита для профилактической и вынужденной дезинфекции (при эшерихиозе и сальмонеллезе) птицеводческих помещений в отсутствии и присутствии птицы, тары и других объектов, при кампилобактериозе; для дезинфекции перьев; для влажной и аэрозольной обработки инкубационных яиц кур, уток и индеек, а также обработки инкубаторов; как способ обработки яиц сельскохозяйственной птицы; для поения бройлеров; орошения тушек птицы; как способ ослабления удерживаемости оперения тушек перед его снятием; при инкубации куриных яйц и др.;

• в пчеловодстве: для санитарной обработки пасек в целях профилактики инфекционных заболеваний и стимуляции роста и развития семей, для дезинфекции и лечения пчелиных семей при аскосферозе и американском гнильце;

• в рыбоводческой отрасли: при ферментативном гидролизе мелкой рыбы в процессе производства гидролизатов; при получении структурообразователя из кожи рыб, обработке охлажденной рыбы; в составе коптильного препарата; при рафинации рыбного жира; при производстве хитина из панцирьсодержащего сырья; при производстве икры лососевых видов рыб; для дезинфекции на рыбопе-

ререрабатывающих предприятиях; при электроактивации икры рыб *Danio rerio* (из семейства карповых) и др.;

• в кожевенно-меховой отрасли: при обработке натурального меха для облагораживания волосяного покрова меховых шкур, выделки меховых шкур, первичной обработки шерсти овец и др.;

• в растениеводстве: при обработке зерна; в качестве стерилизующего агента для сахарной свеклы; для хранения свеклы; повышения урожайности зерновых культур и предпосевной обработки семян зерновых культур; при силосовании; при хранении цитрусовых плодов, обработке какао тертого; в качестве консерванта зеленной массы сельскохозяйственных культур и зеленой массы кукурузы; при обработке грубого растительного сырья, хлопкового волокна и семян хлопчатника; при консервации сочных кормов, для длительного хранения картофеля; повышения продуктивности тутового шелкопряда; в производстве плодовых соков; при получении пектинового концентрата из яблочных выжимок; для характеристики антиоксидантной активности различных напитков и витаминных комплексов; при получении азотных удобрений; при осаждении белка из подсолнечного шрота;

• на транспорте, используемом для перевозки животноводческих грузов: разработаны и испытаны на практике режимы и технология дезинфекции вагонов, автотранспорта, контейнеров и погрузочно-разгрузочных платформ в отношении вегетативной и споровой микрофлоры растворами аналита АНК и оксидантов; для аэрозольной дезинфекции аналитом вагонов-рефрижираторов на Октябрьской железной дороге при обсеменении их кислотоустойчивыми и споровыми формами микроорганизмов и др.;

• в пищевых и иных отраслях: в хлебопечении (в частности, при выпечке пшеничного хлеба); при производстве водки и для стабилизации пива против коллоидных помутнений; при обработке сред в процессе изготовления какао-продуктов; при регенерации окисления жиров; как способ производства солода, при обработке питьевой воды. Применение в ряде стран: Вьетнам – при выращивании креветок и для обеспечения высокого качества фруктов, овощей, зеленых кормов, а также при переработке морепродуктов и приготовлении льда на рыболовецких предприятиях (2002); Южная Африка (г. Йоханнесбург) – при хранении продуктов убоя; сохранении стерильности пластиковых бутылочек для кетчупа (2002); Ирландия – на предприятиях по производству сухих пищевых концентратов; добавление в питьевую воду (2002); Канада – для борьбы с вирусными и грибковыми болезнями растений в тепличном хозяйстве, при обработке ирригационной системы (2002); Казахстан (1999), Украина (2003), Эквадор (2004) – для очистки питьевой воды на станциях водоподготовки.

Заключение

Подводя итог изложенному, можно заключить, что наиболее эффективными и малотоксичными (4-й класс) являются метастабильные маломинерализованные антимикробные растворы, полученные электрохимическим синтезом из растворов хлоридов. Они экологически безопасны, кроме того, их можно получать при минимальных затратах. ЭХА-растворы применяют при влажной и аэрозольной дезинфекции.

Полученные теоретические данные и результаты практического применения ЭХА-растворов позволяют утверждать, что их использование в перспективе может получить широкое распространение, и эти препараты вытеснят традиционные дезинфицирующие средства из различных областей системы АПК.

Электрохимические блоки различной мощности могут состоять из ряда полностью автономных блоков, могут быть составлены с любым количеством установок с учетом объема работы и произвольно установлены в помещении: в один или два ряда, у стены или на любом свободном пространстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бахир В. М.* Электрохимическая активация. – М.: ВНИИИМТ, 1992. – Ч. 2 – 657 с.
2. *Бахир В. М., Леонов Б. И., Прилуцкий В. И., Шомовская Н. Ю.* Дезинфекция: проблемы и решения // Вестник новых медицинских технологий. – 2003.– № 4.– С.78-80.
3. *Бахир В. М., Леонов Б. И., Прилуцкий В. И. и др.* Химический состав и функциональные свойства хлорсодержащих дезинфицирующих растворов // Вестник новых медицинских технологий. – 2003. – № 4. – С.8.
4. *Бутко М. П., Фролов В. С., Тиганов В. С.* Применение электрохимически активированных растворов хлорида натрия для санации объектов АПК // Ветеринария и кормление. – 2007.– № 1.– С. 26–27.
5. *Закомырдин А. А., Ваннер Н. Э., Грузнов Д. В.* Дезинфекция: компромисс между экономикой и экологией // Ветеринарная жизнь. – 2009. – № 16. – С. 7.
6. Первый Международный Симпозиум «Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности». Тезисы докладов и краткие сообщения. – М.: МИС-РТ, 1997, № 21 – 1, 1999. – 197 с.
7. Второй Международный Симпозиум «Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности». – М., 1999. ч. 1.
8. Третий Международный Симпозиум «Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности» // Доклады и краткие сообщения. – М. 2001, 266 с.
9. *Плутахин Г. А., Аидер Мухамед., Кощаев А. Г., Гнатко Е. Н.* Практическое применение электрохимически активированных водных растворов // Научный журнал КубГАУ. – 2013. – № 92(08).
10. *Бахир В. М., Задорожний Ю. Г., Леонов Б. И. и др.* Электрохимическая активация: универсальный инструмент зеленой химии. – ЗАО «Институт Витольда Бахира», 2005. – 176 с.

Сведения об авторах: *Бутко Михаил Павлович*, заслуженный деятель науки Российской Федерации, академик РАЕН, д-р вет. наук, профессор, зав. лаб. ветсанитарии на госгранице, транспорте и МПП, ГНУ ВНИИВСГЭ; *Фролов Виктор Степанович*, ст. научн. сотр., канд. вет. наук; *Попов Петр Александрович*, научн. сотр., канд. биол. наук; *Лемясева Светлана Васильевна*, мл. научн. сотр., тел. 8(499)253-13-89.

A NEW TREND IN OBTAINING BIOCIDES AND THEIR PRACTICAL IMPORTANCE

M. P. Butko, V. S. Frolov, P. A. Popov, S. V. Lemyaseva

The data on obtaining the disinfectants with electrochemical synthesis of sodium chloride solutions are presented in the paper as well as a technology of their application in agricultural facilities.

Key words: electrochemical synthesis, disinfectant, perspective and efficacy, spheres of application.

УДК 619:614.31:637.12

ОПРЕДЕЛЕНИЕ В МОЛОКЕ ШИРОКОГО СПЕКТРА ИНГИБИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДИКАТОРА МЕТИЛЕНОВОГО ГОЛУБОГО

В. С. Бабунова, О. А. Жунина
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

Проведенные эксперименты позволили установить, что метод ГОСТ 23454-79 «Молоко. Методы определения ингибирующих веществ» определяет бóльший спектр групп антибиотиков, чем указано в аннотации, а именно: цефалоспорины, фениколы, ансамицины, линкозамиды, нитрофураны, а также сульфаниламидные препараты, моющие и дезинфицирующие средства, широко применяемые в ветеринарной практике. Следует отметить, что данный метод не выявляет антибиотики группы хинолонов.

Ключевые слова: молоко, ингибирующие вещества, антибиотики, сульфаниламиды, моющие и дезинфицирующие средства, действующее вещество (ДВ).

Введение

Проблема загрязнения молока различными ингибирующими веществами с каждым годом приобретает все большее значение.

В соответствии с требованиями нормативных документов молоко, направляемое на переработку, не должно содержать ингибирующих веществ. Это объясняется тем, что использование такого молока приводит к нарушению процессов сквашивания и снижению качества молочных продуктов, что обусловливает большой экономический ущерб в молочной промышленности.

Ингибирующие вещества – собирательное понятие для нескольких химических веществ и соединений, которые препятствуют или тормозят развитие разного рода бактерий в пищевых продуктах. Следует отметить, что при тепловой обработке молока ингибирующие вещества не разрушаются.

К числу ингибирующих веществ принято относить антибиотики (бета-лактамы, тетрациклины, макролиды, аминогликозиды и т.д.), сульфаниламиды, нитрофураны, пестициды, нитраты, консервирующие (формалин, пероксид водорода), нейтрализующие (сода, гидроксид натрия, аммиак), моющие и дезинфицирующие средства (активный хлор, йод, четвертичные аммонийные соединения) и др. [1, 4].

Возможные источники попадания ингибиторов в молоко следующие:

– нарушения в браковке молока при лечении животных;
– санитарная обработка доильного и молочного оборудования;
– использование некачественных кормов;
– попадание ряда химических веществ с кормом.

Наличие остаточных количеств антибиотиков представляет большую опасность для здоровья человека и серьезную проблему для молочной промышленности. Чаще всего это остатки антибиотиков в молоке от коров, проходивших лечение, по ошибке попавшем в молоко, отгружаемое на молокозавод на переработку. Наиболее опасно внутривыменное введение противомаститных лекарственных средств, содержащих в качестве действующих веществ антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны, так как после прекращения лечения эти препараты определенное время сохраняются в организме

животного и выводятся вместе с молоком. Согласно стандартам молоко от пролеченной коровы нельзя сдавать в течение 27 сут, поэтому необходимо следить, чтобы оно не попадало в общий удой.

Причинами появления ингибиторов в молоке может быть скармливание животным некачественных кормов (прелого сена; заплесневевшей муки, сенажа или силоса; кормов с повышенным содержанием нитратов или нитритов).

Зачастую для раскисления сырого молока и повышения его сохранности от скисания недобросовестные производители используют карбонат или бикарбонат натрия (сода), так как ее присутствие вызывает смещение значения pH молока в щелочную сторону. Аналогично применяют аммиак и аммонийные соединения для снижения кислотности в молоке-сырье. Наличие таких нейтрализующих веществ в молоке приводит к ряду затруднений технологического характера, что отрицательным образом сказывается на качестве готовой продукции. Поэтому в молоке, поступающем на предприятия молочной промышленности, не допускается наличие нейтрализующих веществ. ГОСТ 24065-80 «Молоко. Методы определения соды» и ГОСТ 24066-80 «Молоко. Методы определения аммиака» устанавливают методики определения нейтрализующих веществ. Однако при применении этих методик часто возникают ошибки или могут быть получены неоднозначные результаты.

Моющие и дезинфицирующие средства нередко остаются в молокопроводе после недостаточной промывки молочного оборудования и затем попадают в молоко во время дойки. Наибольшее значение в этом отношении имеют препараты, содержащие хлор и четырехзамещенные соединения аммония. При наличии в молоке гипохлорита и четырехзамещенных соединений аммония значительно увеличивается продолжительность редуктазной пробы [4].

В настоящее время существует много чувствительных методов определения в молоке ряда ингибирующих веществ, таких как тест-системы серии Snap (компания IDEXX, США), Delvotest T, Kalidos MP, Betastar Combo HS и др. [1].

В ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии были проведены исследования, показавшие возможность применения иммуномикрочиповой технологии для определения в молоке и молочных продуктах антибиотиков различных групп (фирма Randox, Великобритания) [2].

Однако наряду с современными методами на территории РФ продолжает действовать ГОСТ 23454-79 «Молоко. Методы определения ингибирующих веществ». В данном документе указаны две методики – с использованием индикатора резазурина и индикатора метиленового голубого [3].

В настоящей статье хотелось бы подробнее остановиться на второй методике.

Данный метод достаточно прост в исполнении, для его проведения не требуются дорогостоящее оборудование и специально обученный персонал. Он основан на восстановлении метиленового голубого при развитии в молоке чувствительных к ингибирующим веществам микроорганизмов вида *Streptococcus thermophilus*.

Чувствительность метода позволяет обнаружить пенициллин от 0,01 до 0,1 МЕ/мл; стрептомицин от 30 до 50 мкг/мл; тетрациклин; окситетрациклин – 1 МЕ/мл; олеандомицин – 10 МЕ/мл; массовую долю формалина – более 0,003%; массовую долю пероксида водорода – более 0,01%.

В связи с тем, что, как ранее уже было отмечено, в последние годы спектр применяемых в ветеринарной практике ингибирующих веществ значительно расширился, целью нашего исследования явилось установление чувствительности данного метода к некоторым из них, не указанных в ГОСТе.

Материалы и методы

Для проведения исследований в образцы стерилизованного молока, не содержащего ингибиторов, вносили антибиотики различных групп и сульфаниламиды в дозе, приблизительно равной 1 мг/л, а также моющие и дезинфицирующие сред-

ства, используемые в молочном производстве. Опыт проводили в трехкратной повторности для каждого образца.

Образцы стерилизованного молока отбирали из оборота торговой сети, антимикробные препараты, моющие и дезинфицирующие средства – при проведении их сертификации в ГНУ ВНИИВСГЭ Россельхозакадемии.

Проведение анализа. В чистые пробирки наливали 10 см^3 исследуемого молока и неплотно закрывали резиновыми пробками. Пробирки с исследуемым молоком нагревали на водяной бане до температуры 87±2ºС, выдерживали до 10 мин и охлаждали до 43±2ºС. После этого в пробирки стерильной пипеткой вносили по 2 см^3 приготовленной смеси для определения ингибирующих веществ в молоке с метиленовым голубым, перемешивали трехкратным переворачиванием и выдерживали на водяной бане от 1 ч 40 мин до 2 ч 20 мин при температуре 41...42ºС.

Обработка результатов. При отсутствии в молоке ингибирующих веществ содержимое пробирок имело белый цвет. Синее кольцо, образующееся в пробирке на поверхности молока высотой 1 см, в расчет не принималось.

Результаты исследований

Результаты определения чувствительности метода ГОСТ 23454-79 к антибиотикам различных групп отражены в таблице 1. Использовали антибиотики разных производителей, применяемые для лечения коров от маститов и эндометритов, а также инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта, органов дыхания и т.д.

Таблица 1

Результаты определения чувствительности метода ГОСТ 23454-79 к различным антибиотикам, внесенным в молоко

Коммерческое название внесенного в молоко антимикробного препарата и его действующее вещество (ДВ)	Группа антибиотиков	Результат определения наличия ингибирующих веществ, n=3
1	2	3
Гентамицина сульфат	Аминогликозиды	+
Неомицина сульфат	Аминогликозиды	+
Офлоксацинвет 10% (ДВ офлаксацин)	Фторхинолоны	+
Норфлоквет 20% (ДВ норфлаксацин)	Фторхинолоны	–
Ципрофлоксацин (ДВ ципрофлоксацин)	Фторхинолоны 2 поколения	–
Энрофлон (ДВ энрофлоксацина гидрохлорид)	Фторхинолоны	+
Кламоксил (ДВ амоксициллин)	Пенициллины	+
Стрептофур (ДВ стрептоцид и фурагин)	Сульфаниламиды; нитрофураны	+
Фуразолидон (ДВ 3-(5-нитро-2-фуранил) метилен-амино-2-оксазолидон)	Нитрофураны	+
Тиамукол (ДВ тиамулина гидрогена фумарат и колистина сульфат)	Макролиды; полимиксины	+
Тиломаг (ДВ тилозин)	Макролиды	+
Тилозин (ДВ тилозин)	Макролиды	+
Кобактан (ДВ ß-лактамный антибиотик цефкином)	Цефалоспорины 4 поколения	+
Тиоцефур (ДВ цефтиофур натрия)	Цефалоспорины 3 поколения	+
Тримеразин (ДВ сульфамеразин и триметоприм)	Сульфаниламиды; Бактериостатический антибиотик	+

1	2	3
Триметин (ДВ сульфометоксазол и триметоприм)	Сульфаниламиды; Бактериостатический антибиотик	+
Флорфеникол (ДВ флорфеникол)	Фениколы	+
ФЛОвет 30% (ДВ флорфеникол)	Фениколы	+
Линкомицин (ДВ Линкомицин)	Линкозамиды	+
Рифампицин (ДВ Рифампицин)	Ансамицины	+
Флавомицин гранулят кормовой АБ (ДВ бамбермицин (флавофосфолипол))	Фосфогликолипидные антибиотики из группы стрептомицинов	–
Метронидазол (ДВ 1-(b-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазол)	Нитроимидазолы	–

Примечание: «+» наличие ингибирующих веществ; «–» отсутствие ингибирующих веществ.

Результаты определения чувствительности метода ГОСТ 23454-79 к различным современным моющим и дезинфицирующим средствам, используемым на молочно-товарных фермах, приведены в табл. 2.

Также в молоко вносили другие ингибирующие вещества. Результаты этих исследований представлены в табл. 3.

Таблица 2

Результаты определения чувствительности метода ГОСТ 23454-79 к различным моющим и дезинфицирующим средствам, внесенным в молоко

Вносимое моющее и дезинфицирующее средство и его ДВ	Результат определения наличия ингибирующих вещество, n=3
Диабак-вет (ДВ алкилдиметилбензиламмоний хлорид, неионогенный ПАВ)	+
Сода кальцинированная	+
Дезсредство Ligrocid (ДВ четвертичные аммонийные соединения, глутаровый альдегид)	–
«ХАМРА» мыло для очищения вымени коров	–
Средство для ухода за сосками вымени «Калгодип Амадин» (ДВ молочная кислота, ПАВ)	–
Средство для ухода за сосками вымени «Калгодип Грин» (ДВ молочная кислота, ПАВ, хлоргексидин)	–
Средство для ухода за сосками вымени, содержащее репеллент от мух «Калгодип Специал» (ДВ репеллент, хлоргексидин)	–
Концентрированное моющее средство для влажной очистки вымени перед доением «Калгонит ЕР Софт» (ДВ ПАВ)	–

Примечание: «+» наличие ингибирующих веществ; «–» отсутствие ингибирующих веществ.

Таблица 3

Результаты определения чувствительности метода ГОСТ 23454-79 к различным ингибирующим веществам, внесенным в молоко

Вносимое ингибирующее вещество и его ДВ	Результат определения наличия ингибирующих веществ, n=3
1	2
Пероксид водорода 3%	+

1	2
Средство для профилактики и лечения маститов у коров «Мастоксидин» (ДВ диоксидин)	+
Эндометромаг (ДВ бета-адреноблокатор пропранолол гидрохлорид, антисептик бензетоний хлорид)	–

Примечание: «+» наличие ингибирующих веществ; «–» отсутствие ингибирующих веществ.

Заключение

Как видно из представленных в таблицах данных, метод выявления ингибирующих веществ с метиленовым голубым (ГОСТ 23454-79) кроме указанных групп (тетрациклиновая, пенициллиновая, макролиды и аминогликозиды) позволяет определять наличие антибиотиков, относящихся к другим группам, – цефалоспорины, фениколы, ансамицины, линкозамиды и нитрофураны, а также сульфаниламидные препараты. Следует отметить, что данный метод не всегда выявляет широко применяемые антибиотики из группы хинолонов, а также некоторые моющие и дезинфицирующие средства, используемые на молочных фермах. Согласно проекту Технического регламента Таможенного союза «Молоко и молочная продукция», в сыром молоке, обезжиренном молоке и сырых сливках не допускается содержания никаких ингибирующих веществ. Поэтому расширение списка выявляемых ГОСТ 23454-79 ингибиторов очень важно.

Метод доступен, прост, имеет низкую стоимость при большой производительности. Данный метод определения ингибирующих веществ не позволяет их дифференцировать и не является количественным методом измерения, но в то же время может и в дальнейшем использоваться для предварительной оценки их присутствия в молоке.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аспандиярова М.* Экспресс-метод выявления ингибирующих веществ // Переработка молока. – 2010. – № 4. – С. 44–45.
2. *Бабунова В. С., Онищенко Д. А., Ярова О. А., и др.* Применение иммуномикрочиповой технологии для контроля безопасности и качества пищевых продуктов // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2011. – № 1 (5). – С. 12–17.
3. Молоко. Методы определения ингибирующих веществ: ГОСТ 23454–79. – Введ. 01.01.1980. – М.: Стандарты, 1989. – 6 с.
4. *Родионов Г. В., Акинина Н. А., Ермошина Е. В., Ананьева Т. В.* Контроль ингибирующих веществ в молоке // Молочная промышленность. – 2008. – № 2.

Сведения об авторах: *Бабунова Вероника Сергеевна,* отдел технического регулирования, стандартизации и сертификации, ст. научн. сотр., канд. вет. наук; *Жунина Ольга Александровна*, отдел технического регулирования, стандартизации и сертификации, научн. сотр., канд. биол. наук, тел. 8(499)253-13-97.

DETERMINATION OF A WIDE RANGE INHIBITORY SUBSTANCES BY USING INDICATOR METHYLEN BLUE IN MILK

V.S. Babunova, O.A. Zhunina

The experiments revealed that the method of GOST 23454-79 «Milk. Methods for determination of inhibitory substances» defines the range of groups of antibiotics higher than indicated in the annotation, namely cephalosporins fenicoles, ansamycins, lincosamides, nitrofurans and sulfanilamides, detergents and disinfectants widely used in veterinary practice. It should be noted that this method does not always reveal antibiotics quinolones.

Key words: milk, inhibiting substances, antibiotics, sulfonamides, detergents and disinfectants, active substance (AS).

УДК 637.564

ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО КОНТРОЛЯ БЕЗОПАСНОСТИ МОЛОКА

Л. Г. Королева
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

Изучена эффективность применения современных приборов турбидофлуориметр «Био ТФ» и «4SENSOR» для экспресс-контроля молока в условиях крупных молокоперерабатывающих предприятий. Определены показатели исследования экспресс-методами, полученные с помощью системы «Био ТФ» и «4SENSOR», в сравнении с другими методами исследования молока при реализации или сдаче и приеме на переработку. Установлена высокая точность микробиологического анализа молока с помощью прибора турбидофлуориметр «Био ТФ» и эффективность прибора «4SENSOR» при выявлении антибиотиков в молоке.

Ключевые слова: молоко, приборы турбидофлуориметр «Био ТФ» и «4SENSOR», микробная загрязненность, антибиотики, входной контроль, экспресс-методы.

Введение

Молоко – один из основных продуктов питания. Ежедневно необходимо употреблять два-три стакана молока. При этом оно должно быть доброкачественным и безопасным. Вместе с тем в реализацию обычно поступает сборное молоко, полученное от многих коров, а среди многочисленного дойного поголовья могут быть скрыто больные коровы или коровы, подвергавшиеся лечению различными антибиотиками. Это создает определенную угрозу здоровью человека и других потребителей молочной продукции. У коров, больных незаразными или заразными болезнями, молоко отличается высокой микробной загрязненностью, в том числе патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, а при лечении коров антибиотиками последние выделяются в течение 7…28 сут, что влияет на качество и технологичность сырого молока. В ветеринарных сопроводительных документах не всегда указываются результаты ветеринарного исследования коров и сроки лечения их антибиотиками, что часто вводит в заблуждение потребителей и переработчиков молочной продукции.

В последние годы увеличился объем молока, реализуемого на рынках. Но большая доля сырого молочного сырья поступает на предприятия для изготовления различных кисломолочных продуктов.

Высокотехнологичная переработка молока осуществляется, главным образом, на крупных молочных предприятиях, на которые натуральная молочная продукция поступает из многих регионов Российской Федерации и ряда зарубежных стран. Это создает определенные трудности для предприятия с точки зрения контроля условий получения и хранения молочной продукции в хозяйствах-поставщиках. Поэтому большая ответственность возлагается на входной контроль молока в лабораториях ветеринарно-санитарной экспертизы молокоперерабатывающих предприятий [5].

Входной ветеринарно-санитарный контроль молока при приеме на переработку на предприятиях осуществляется в строго определенном порядке и с помощью общепринятых органолептических, физико-химических и микробиологических методов в соответствии с требованиями ГОСТ и Технического регламента

на молоко и молочную продукцию (2008, 2014). При необходимости в лабораториях определяют содержание антибиотиков и ксенобиотиков, влияющих на технологичность молочного сырья и доброкачественность кисломолочных продуктов. Утвержденные методы исследования считаются достаточно надежными для оценки сортности и безопасности сырого молока, но для их выполнения требуется много времени и большие материальные затраты [3, 4]. Кроме того, при поступлении на предприятие большого числа партий молока время для контроля вынужденно сокращаться, что может отрицательно влиять на эффективность лабораторного анализа принимаемого на переработку молочного сырья. Поэтому возникла необходимость дальнейшего совершенствования производственного контроля молока с применением экспресс-методов и использованием для этого различных приборов. Известна аксиома: «…правильно оценить любой продукт (в том числе молоко) можно, только измерив его показатели, а измерить их достоверно можно только с помощью приборов». Это определяет актуальность данной темы и задачи наших исследований, проводимых непосредственно в производственной лаборатории предприятия ООО «Данон Индустрия».

Методы исследования

Для исследования брали пробы сырого молока из 15 хозяйств, поставляющих молочную продукцию для переработки на предприятие ООО «Данон Индустрия» (Московская область). Биологическую безопасность молока определяли общепринятыми микробиологическими методами и с помощью приборов турбидофлуориметр «Био ТФ» и «Ентеробак». Контролем служили показатели КМАФАнМ, КОЕ/см^3, полученные при посевах на питательные среды. Показатели контаминации молока микроорганизмами в партиях продукции разных поставщиков анализировали в сравнительном аспекте.

Содержание в молоке различных антибиотиков [тетрациклин, ампициллин, стрептомицин, хлорамфеникол (левомицетин)] определяли с помощью мультиплексного тест-набора «4SENSOR» и его индикаторных полосок. Чувствительность тест-набора «4SENSOR» при определении хлорамфеникола (левомицетин) составляет не более 0,3 мкг/кг, стрептомицина – 175 мкг/кг, тетрациклина и окситетрациклина – 7...10 мкг/кг, ампициллина – 4 мкг/кг, бензилпенициллина – 4 мкг/кг, что ниже нормы, установленной в России и других странах Таможенного союза. Вероятность получения положительного результата при минимально допустимой концентрации антибиотиков не ниже 95...100%. Этот экспресс-метод предназначен для использования при контроле молока на территории России и других стран Таможенного союза. Он прост в использовании, не требует дополнительной подготовки пробы молока, результаты исследования можно оценить визуально или инструментально за 10...12 мин проведения испытания.

Результаты исследования

Выпуск высококачественной и безопасной молочной продукции предполагает строгое соблюдение предприятиями санитарно-гигиенических требований на всех этапах производства, начиная с приемки молока-сырья и заканчивая выпуском готовой продукции. Эти требования наиболее значимы для крупных предприятий молочной промышленности. На таких предприятиях из-за специфики технологических процессов, особенностей производства молочной продукции и условий ее хранения в высшей степени важным является микробиологический контроль сырья и готовой продукции. Поэтому высокое качество выпускаемой продукции на крупных молочных предприятиях неразрывно связано с организацией своевременного микробиологического контроля сырья и смывов на отдельных участках производственного процесса.

Молоко как объект исследований представляет собой сложную поликомпонентную систему, в которой составные вещества находятся в тесной взаи-

мосвязи, обеспечивающей интенсивное развитие биохимических и микробиологических процессов сразу после доения и сбора продукции.

В последние годы для анализа молока и молочных продуктов в условиях производственных лабораторий все более широкое применение получают приборы с использованием интенсивности светорассеяния и флуоресценции, для определения численности микроорганизмов, а также приборы, определяющие клональные антитела в биосубстрате. Один из современных приборов – турбидофлуориметр «Био ТФ», который предназначен для динамических измерений интенсивности светорассеяния и флуоресценции при заданной температуре в мутных растворах биологических жидкостей. Тест-пробирка содержит флуоресцентный зонд, который взаимодействует с ферментными системами микроорганизмов. Скорость флуоресценции зонда прямо пропорциональна численности микроорганизмов. Прибор турбидофлуориметр «БиоТФ» регистрирует динамику флуоресценции, а приложение «Старт» рассчитывает скорость флуоресценции и соответствующее ей число микроорганизмов. Анализаторы «Био ТФ» совмещают в себе современное программное и метрологическое обеспечение и позволяют определить любые отклонения в контролируемых показателях молока и молочных продуктов. При этом продукт анализируется без изменения физических и химических свойств.

Турбидофлуориметры «Био ТФ» представляют собой специализированный фотометр, состоящий из измерительной платформы с термостатируемым кюветным отделением, подключенной с помощью USB-кабеля к персональному компьютеру с пакетом программы «Био ТФ». Принцип действия турбидофлуориметра «Био ТФ» основан на свойствах света рассеиваться и поглощаться поверхностью взвешенных в жидкости частиц (канал турбидиметра) и на оптическом явлении флуоресценции – свечении вещества в момент воздействия возбуждающим светом (канал флуориметра) в фиксированном диапазоне длин волн. Образец исследуют в микропробирке среднестенной с плоской крышкой. В качестве источников света использованы светодиодные источники излучения. Рассеянный световой поток через светофильтры попадает на фотоприемники, преобразующие падающий свет в электрический сигнал.

Система управления турбидофлуориметром «Био ТФ» разработана на основе микроконтроллеров семейства STM8L с использованием высокоточных аналого-цифровых преобразователей и прецизионных усилителей фотопотока. Микроконтроллер обеспечивает сбор данных с фотодиодных датчиков, поддержание заданной интенсивности излучения светодиодами и стабильную работу термостата. Обработка результатов производится с применением программы «Био ТФ», которая предназначена для реализации биологических приложений на турбидофлуориметре «Био ТФ».

Биологическое приложение это формализованная на языке программирования методика выполнения измерений. Программное обеспечение «Био ТФ» интерпретирует команды приложения для измерительной платформы, собирает и обрабатывает данные в соответствии с алгоритмом приложения.

Другим современным и эффективным прибором для определения безопасности молока является приборная система тест-набора «4SENSOR», с помощью которой можно в производственных условиях быстро определить содержание антибиотиков в сборном сыром или пастеризованном молочном сырье.

С помощью тест-набора «4SENSOR» возможен непрямой сравнительный анализ, основанный на использовании запатентованных в Бельгии рецепторов и моноклональных антител в формате индикаторной полоски, позволяющей обнаруживать одновременно антибиотики четырех групп, наиболее часто применяемых для лечения коров в странах Таможенного союза.

Приборы экспресс-аналитического контроля типа «Био ТФ» и «4SENSOR» имеют определенные преимущества перед другими, так как позволяют значительно сократить время проведения анализа, имеют легкую настройку калибровки и низкие эксплуатационные расходы. Кроме того, значительно снижается использование опасных и (или) дорогостоящих химических веществ, а также потребление энергии, что делает эти приборы экологически благоприятными.

Мы провели комплекс лабораторных исследований натурального молока из разных хозяйств-поставщиков с помощью прибора турбидофлуориметр «Био ТФ» в сравнении с прибором «Ентеробак» и обещепринятыми микробиологическими методами (посевы на различные питательные среды). Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты исследования молока на микробную загрязненность

Хозяйства – поставщики сырого молока	Методы исследований					
	КМАФАнМ, КОЕ/см^3				«Ентеробак»	«Био ТФ»
	3-кратн. разв.	4-кратн. разв.	5-кратн. разв.	КОЕ/см^3		
Алешинский	168	20	н.и.	$7x10^5$	$6,50x10^4$	$7,39x10^4$
Барыбино	117	9	н.и.	$1,1x10^5$		$3,91x10^4$
Гурьяново	246	43	н.и.	$2,6x10^5$	$1,90x10^5$	$2,39x10^5$
Киров	212	25	н.и.	$2,2x10^5$	$8,0x10^4$	$6,26x10^4$
Кострово	252	25	н.и.	$2,5x10^5$	$1,40x10^6$	$6,84x10^4$
им. Ленина	211	35	н.и.	$2,2x10^5$	$3,10x10^4$	$2,16x10^5$
Правда Н	168	27	н.и.	$1,8x10^5$	$3,0x10^5$	$2,04x10^5$
50-летия СССР	38	3	н.и.	$3,4x10^4$		$4,8x10^4$
Белая поляна	н.и.	544	168	$6,5x10^7$		$1,84x10^5$
Вощажниково	9	4	н.и.	$1,2x10^4$		$4,25x10^6$
Новый путь	45	8	н.и.	$4,8x10^4$		$5,05x10^4$
Простор	23	5	н.и.	$2,5x10^4$		$4,99x10^4$
Красногорбатский		88	5	$8,5x10^5$	$5,65x10^5$	$1,31x10^5$
Молот	396	41	н.и.	$4,0x10^5$	$1,54x10^5$	$3,96x10^4$
Лестехстрой	434	27	н.и.	$4,2x10^5$	$2,42x10^5$	$1,11x10^5$
В среднем	178	63	86	$3,3x10^5$	$2,61x10^5$	$3,9x10^5$

Из данных, представленных в таблице 1, видно, что во всех пробах молока при посевах на питательные среды обнаружились микроорганизмы в количестве $1,2x10^4$...$6,5x10^7$ КОЕ/см^3. С помощью прибора «Ентеробак» выявляли микроорганизмы в количестве $3,10x10^4$...$5,65x10^5$ КОЕ/см^3, а с помощью турбидофлуориметр «Био ТФ» – $3,91x10^4$...$4,25x10^6$ КОЕ/см^3. В среднем показатели КОЕ/см^3 в посевах молока составили $3,30x10^5$, при исследовании с помощью «Ентеробак» – $2,61x10^5$, а при исследовании с помощью турбидофлуориметр «Био ТФ» – $3,9x10^5$, что превосходит соответственно на $0,60x10^5$ и $1,29x10^5$ показатели первых двух методов.

При использовании системы «Био ТФ» продолжительность исследования сокращается с 24...48 ч до 15...20 мин, т.е. в 72...144 раза, по сравнению с общепринятым методом. Прибор турбидофлуориметр

«Био ТФ» прост в использовании и специальной подготовки для лаборанта или ветеринарного специалиста не требуется.

С помощью тест-набора «4SENSOR» мы определяли остаточные количества 4 антибиотиков в сборном молоке, поступившим на переработку из 15 указанных выше хозяйств. Всего было исследовано 356 партий сборного молока, не имеющих каких-либо показаний на загрязненность антибиотиками. Результаты таких исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты исследования молока на антибиотики

Хозяйства – поставщики молока	Исследовано партий молока	Антибиотики				
		тетрациклин	ампициллин	стрептомицин	хлорамфеникол	всего
Алешинский	22	1	0	0	0	1
Барыбино	18	0	1	0	0	1
Гурьяново	21	0	0	0	0	0
Киров	21	0	1	0	0	1
Кострово	24	1	0	1	0	2
им. Ленина	23	0	1	0	0	1
Правда Н	19	0	0	0	0	0
50-летия СССР	25	1	0	0	0	1
Белая поляна	22	0	0	0	0	0
Вощажниково	26	0	1	1	0	2
Новый путь	23	0	1	0	0	1
Простор	24	0	1	1	0	2
Красногорбатский	22	0	0	0	0	0
Молот	25	1	0	0	0	1
Лестехстрой	20	1	0	0	0	1
ВСЕГО	356	5	6	3	0	14

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что из 356 исследованных партий сборного молока антибиотики обнаружены в 14 партиях, что составляет 3,9%. При этом тетрациклин с помощью тест-набора выявляли в 5 партиях молока (1,4%), ампициллин – в 6 (1,7%) и стрептомицин – в 3 партиях (0,8%), хлорамфеникол (левомицетин) в исследуемых пробах молока не обнаруживали. При анализе 18...26 партий молока из 11 хозяйств-поставщиков в 1...2 случаях выявлен один из определяемых антибиотиков. Достоверность таких данных была подтверждена другими методами исследования молочного сырья. По результатам наших исследований партии молока, содержащие антибиотики, подлежали возврату в хозяйство.

Заключение

Полученные результаты исследования позволяют заключить, что на крупных предприятиях по переработке молока с целью своевременного и быстрого осуществления входного контроля молочного сырья необходимо использовать приборы типа турбидофлуориметр «Био ТФ» и «4SENSOR», позволяющие сокращать время анализа в 72...144 раза, снизить затраты на питательные среды и дорогостоящие химреактивы. С помощью высокоэффективной системы «Био ТФ» можно получать результаты бактериологическо-

го анализа на 1,29x10^5 КОЕ/см^3 выше, чем при исследовании молока в приборе «Ентеробак» и на 0,60x10^5 КОЕ/см^3 выше, чем при бактериологических посевах продукции на питательные среды. Экспресс-анализ молока с помощью прибора турбидофлуориметр «Био ТФ» можно считать наиболее эффективным и надежным методом определения микробной загрязненности молока в условиях производственных лабораторий крупных молокоперерабатывающих предприятий.

Использование тест-набора «4SENSOR» при входном контроле сборного молока позволит за 10...12 мин определить остаточное содержание антибиотиков 4 групп, которые в настоящее время широко используют при лечении коров. Применение тест-полосок не ограничивает число исследуемых проб молочного сырья за единицу времени.

Оба экспресс-метода просты в осуществлении и не требуют дополнительной специальной подготовки по работе с приборами и системами «Био ТФ» и «4SENSOR».

Организация системы приборного контроля молока на крупных молокоперерабатывающих предприятиях будет более надежно гарантировать соответствующее нормам качество принятого молочного сырья, соблюдение технологических процессов и выпуск доброкачественной продукции. В современных условиях производства требуются именно приборные экспресс-аналитические методы, которые позволяют осуществлять непрерывный входной контроль поступающего на завод сырья и браковать не соответствующие требованиям фальсифицированные партии молочной продукции. Внедрение приборных экспресс-методов повышает не только качество выпускаемой продукции, но и экономическую эффективность работы предприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р 5552504-2003 Молоко натуральное коровье – сырье. – М.: Из-во стандартов, 2003.
2. ГОСТ 13264-88 Молоко коровье. Требование при закупках.
3. *Инихов Т. С., Брио Н. П.* Методы анализа молока и молочных продуктов. – М.: Пищевая промышленность.
4. Инструкция по порядку и периодичности контроля за содержанием микробиологических и химических загрязнителей в молоке и молочных продуктах на предприятиях молочной промышленности (1995).
5. *Серегин И. Г., Дунченко Н. И., Михалева Л. П.* Производственный ветеринарно-санитарный контроль молока и молочных продуктов. – М.: ДеЛи принт, 2009, 401с.
6. Технический регламент на молоко и молочную продукцию. ФЗ-88. – М., 2008; 2014.

Сведения об авторе: *Королева Лариса Геннадьевна*, ветеринарный врач ООО «Данон индустрия», аспирант ГНУ ВНИИВСГЭ, 8(926)939-12-34, E-mail: korolevalarisa@list.ru Научный руководитель — канд. вет. наук, доцент Шурдуба Николай Александрович, тел. 8(495)256-54-73.

EXPRESS-METHODS FOR PRACTICAL CONTROL OF MILK SAFETY

L. G. Koroleva

The effectiveness of using the contemporary devices – Turbidofluorimetr BIO TF and 4 SENSOR – for express-control of milk under conditions of the large milk processing enterprises was studied. The indices of research with express-method being produced by means of BIO TF and 4 SENSOR were detected in comparison of the other methods at realization or receiving for processing. A high precision of the microbiologic analysis of milk by means of Turbidofluorimetr BIO TF was established as well as effectiveness of 4 SENSOR for revealing the antibiotics in milk.

Key words: milk, Turbidofluorimetr BIO TF and 4 SENSOR devices, microbial contamination antibiotics, control, express-method.

УДК 619:616.91

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КОРМОВ В РЯЗАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Д. И. Удавлиев
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

Т. Г. Андрианова
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»

Ю. А. Киселева
ФГБОУ ВПО «Рязанский государственный агротехнологический университет»

В статье приведены результаты микологических исследований различных видов кормов, кормовых добавок и сырья для производства кормов. Пробы поступали из различных хозяйств Рязанской области при возникновении у животных, в том числе птиц, заболеваний невыясненной этиологии и снижении их продуктивности. В результате исследований установлено, что корма, независимо от времени года, были контаминированы спорами грибов.

Ключевые слова: корма, кормовые добавки, микологические исследования, токсины плесневых грибов.

Введение

В последнее время нередки случаи микотоксикозов у различных сельскохозяйственных животных. В России зарегистрированы случаи массовых абортов у свиноматок, коров, овцематок, гибель откормочного молодняка вследствие микотоксикозов после скармливания зернофуража и кормов, пораженных микроскопическими грибами. Подобная патология у животных отмечается и в других странах.

Микотоксикозы у животных, в том числе птиц, обычно возникают внезапно. Заболевание носит резко выраженный массовый характер, поражая ежедневно большое число животных.

В России в настоящее время изучены более 120 опасных для животных и человека микотоксинов, из них наиболее токсичными считаются 30...40 из них, в том числе: афлатоксины, охратоксины, фузариотоксины, микотоксины трихотеценового ряда, фумонизины, патулин и др.

Распространенность плесневых грибов, а также выделяемых ими микотоксинов изучали путем анализа микологических и химико-токсикологических данных, полученных в Рязанской ветеринарной лаборатории, в ИФА лаборатории по исследованию кормов при ОАО «Бройлер Рязани», а также по материалам собственных микологических исследований.

Материалы, методы и результаты исследований

Проведен анализ результатов токсико-микологических исследований кормов и комбикормового сырья на наличие микроскопических грибов и выделяемых ими микотоксинов за период 2012–2013 гг.

Микологическому исследованию было подвергнуто 154 образца разных видов кормов, кормовых добавок, сырья для производства кормов. В 2012 г. исследовано 63 пробы, в 2013 г. – 91 проба.

Пробы поступали в течение 2012–2013 гг. из различных хозяйств Рязанской области при возникновении у животных и птиц заболеваний невыясненной этиологии и снижении их продуктивности.

Согласно данным микологического исследования, пробы кормов были контаминированы спорами грибов независимо от времени года. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

Контаминация плесневыми грибами кормов в 2012–2013 гг.

Вид плесневых грибов	Пораженных проб			
	2012 г.		2013 г.	
	число	%	число	%
Aspergillus flavus	34	54	28	30,8
Aspergillus niger	-	-	3	3,3
Mucor spp.	2	3,2	17	18,7
Penicillium spp.	4	6,4	5	5,5
Trichothecium spp.	-	-	1	1,1
Trichoderma spp.	-	-	2	2,2
Cladosporium spp.	1	1,6	2	2,2
Alternaria spp.	-	-	1	1,1
Rhizopusnigricans	-	-	1	1,1
Всего	40	63,5	60	65,9
Исследовано	63	91		

За период 2012–2013 гг. чаще всего выделяли грибы следующих видов – *Aspergillus flavus*, *Mucor* spp., *Penicillium* spp.

Такое разнообразие качественного и количественного состава микроскопических грибов зависело от погодно-климатических условий в Рязанской области. Так, средняя температура в 2013 г. составила 6,4°С, в то время как в 2012 г. – 5,7°С; среднее количество выпавших осадков в 2012 г. было 672 мм, а в 2013 г. – 768 мм.

В процентном отношении самая высокая контаминация кормов и сырья для их производства отмечена в 2013 г., меньшая – в 2012 г. Это можно объяснить тем, что климатические условия в 2013 г. были оптимальными для роста и развития плесневых грибов.

Данные погодные условия в Рязанской области оказали влияние и на количественный состав грибов: в 2013 г. корма в большей степени поражались микроскопическими грибами, чем в 2012 г.

Для изучения уровней контаминации токсинами плесневых грибов в 2012–2013 гг. исследовано 268 образцов комбикормов и сырья для их производства, поступивших из различных хозяйств Рязанской области. Результаты исследований содержания микотоксинов в комбикормах и сырье для их производства представлены в табл. 2.

Таблица 2

Содержание микотоксинов в комбикормах и сырье для их производства

Виды сырья	Число исследованных образцов			
	2012 г.		2013 г.	
	всего	пораженных	всего	пораженных
1	**2**	**3**	**4**	**5**
Кукуруза	13	12	4	4
Пшеница	16	13	13	9
Жмых подсолнеч.	2	1	2	2
Соя	15	14	21	20
Глютен	88	36	16	15
Ячмень	3	3	2	2
Шрот соевый	2	2	4	4
Отруби	5	5	1	0
Овес	0	0	1	1
Комбикорма	18	18	24	21

1	2	3	4	5
Предстартер	6	6	1	1
Мясо-костная мука	0	0	12	0
Рыбная мука	0	0	2	0
БВМК	0	0	6	0
Всего	169	110	99	79

В 2012 г. были выделены следующие виды микотоксинов: Т-2-токсин с уровнем накопления 0,0001...0,8342 мг/кг; афлатоксин – 0,0004...0,0452 мг/кг; охратоксин – 0,0002...0,2485 мг/кг. Концентрация Т-2-токсина превышена более чем в 8 раз, афлатоксина – в 2 раза, охратоксина – в 5 раз. В кормах и сырье микотоксины были обнаружены: Т-2-токсин – 101 проба (59,7 %), афлатоксин – 86 проб (50,9%), охратоксин – 108 проб (63,4%) (табл. 3).

Таблица 3

Микотоксины с превышением МДУ в кормах и сырье для их производства за период 2012–2013 гг.

Микотоксин	МДУ	Уровни накопления, мг/кг	
		2012 г.	2013 г.
Т-2-токсин	0,1	0,0001...0,8342	0,0012...0,5154
Охратоксин	0,05	0,0002...0,2485	0,0001...0,0090
Афлатоксин	0,025	0,0004...0,0452	0,0002...0,0128

Наибольшее загрязнение микотоксинами в 2012 г. отмечено по глютену, комбикорму, пшенице и кукурузе.

Т-2-токсин продуцируют грибы рода *Fusarium*, афлатоксины — продукты обмена грибов рода *Aspergillus*, охратоксин вырабатывается грибами родов *Aspergillus* и *Penicillium*.

В 2013 г. были выявлены микотоксины: Т-2-токсин с уровнем накопления 0,0012...0,5154 мг/кг; афлатоксин – 0,0002...0,0128 мг/кг; охратоксин – 0,0001...0,0090 мг/кг. Концентрация Т-2-токсина превышена более чем в 5 раз, содержание афлатоксина и охратоксина сохранялось в пределах нормы. В кормах и сырье были обнаружены Т-2-токсин – в 64 пробах (64,6%), афлатоксин – в 33 пробах (33,3%), охратоксин – в 43 пробах (43,4%).

Таким образом, анализ результатов исследований показал, что в Рязанской области плесневые грибы широко распространены в комбикормах и фураже.

Токсико-микологическими исследованиями установлено, что за период исследования более 70% проб всех кормов содержали микотоксины. Лидирующее место по превышению МДУ занял Т-2-токсин. В 2012 г. показатели МДУ также были превышены по афлатоксину и охратоксину. Это связано с благоприятными условиями для роста и токсинообразования грибов рода *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., являющимися их основными продуцентами.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гогин А. Е.* Микотоксины: значение и контроль // Ветеринария. – 2006. – № 3. – С. 9–11.
2. *Киселева Ю. А., Андрианова Т. Г.* Ветеринарно-санитарные и экологические мероприятия при микотоксикозах / Живые системы и биологическая безопасность населения: матери-

алы X Международной научной конференции студентов и молодых ученых, МГУПП. – М., 2013, С. 15–17.
3. *Тутельян В. А.* Природные токсины и проблемы биобезопасности // Тез.док. 2-го съезда токсикологов России. – М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России, 2003. С. 32–35.
4. *Чулков А., Тремасов М., Иванов А.* О профилактике микотоксикозов животных // Ветеринария с/х животных. – 2009. – № 9. – С. 11.
5. *Киселева Ю. А., Андрианова Т. Г.* Мониторинговые исследования микотоксинов в Рязанской области / Теоретические и практические вопросы науки XXI века: Сборник статей Международной научно-практической конференции / РИЦ БашГУ. – Уфа, 2014. С. 197–200.

Сведения об авторах: *Удавлиев Дамир Исмаилович*, д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией, тел. 8(499) 256-04-88; *Андрианова Татьяна Геннадьевна*, д-р вет. наук, профессор, тел. 8(499) 750-01-11 (доб. 4360); *Киселева Юлия Алексеевна*, аспирант.

VETERINARY-SANITARY STUDIES ON FEEDS IN RYAZAN REGION

D. I. Udavliev, T. G. Andrianova, Yu. A. Kiseleva

The results of mycological studies on the various types of feeds, feed additives and raw materials for feed production are presented in the paper. The samples were obtained from the different farms of Ryazan region in case of morbidity of animals a poultry with the decreasing their productivity. As a result of studies conducted it was found that the feeds were contaminated with fungal spores, irrespective of the season.

Key words: fodder, feed additives, mycological research, toxins of fungi.

УДК 619:616.992.28/099

МИКОБИОТА СЕНАЖИРОВАННЫХ КОРМОВ, ЗАГОТОВЛЕННЫХ В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Е. А. Пирязева, Л. С. Малиновская
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

В статье приведены результаты изучения микобиоты 253 проб сенажированных кормов, проведенного в 1988 г. и 2013–2014 гг. Установлено, что чаще всего контаминантами сенажа являлись *P. roqueforti, A. fumigatus*, виды группы *A. glaucus*, представители семейства Mucoraceae, дрожжи, *B. nivea* и *Monascus ruber*. Показано, что в недоброкачественном по органолептическим показателям сенаже, а также в сенаже с пониженной влажностью происходит интенсивное развитие грибов: *A. fumigatus, P. roqueforti*, видов семейства Mucoraceae. В сенаже, имеющем показатели, свойственные силосу, возможно массовое развитие *B. nivea*.

Ключевые слова: микобиота, сенаж.

Введение

Сенаж представляет собой продукт в большинстве случаев биологического консервирования зеленой массы, при этом основными факторами являются физиологическая сухость среды, препятствующая развитию микробиологических процессов, а также герметизация сенажируемых кормов, необходимая для предотвращения роста микромицетов [1, 5]. Нарушение правил заготовки, в частности, несоблюдение сроков закладки и допустимых параметров влажности сенажируемой массы, герметичности консервирования, возникающей, например, при нарушении правил выемки корма, способствует интенсивному развитию плеснеобразующих грибов, среди которых токсигенные и патогенные виды.

Микобиота свежезаготовленного сенажа представлена «полевыми» грибами, в первую очередь факультативными паразитами вегетирующих растений (виды рода *Fusarium*, темноокрашенные гифомицеты), видовой и количественный состав которых находится в зависимости от вида сенажируемых растений, почвенно-климатических условий, фитопатологической ситуации. На сенажируемых зеленых кормах присутствуют также грибы-космополиты, называемые «плесенями хранения», попавшие на растения с пылью и дождем из почвы (виды родов *Aspergillus, Penicillium*, семейства Mucoraceae и др.). Нарушения технологии приготовления, хранения или выемки сенажа обусловливают интенсивное развитие ряда факультативных паразитов и, особенно, «плесеней хранения», приводящему к снижению не только питательности и переваримости корма, но также и его санитарного качества в связи с наличием токсигенных и патогенных свойств у некоторых грибов. Работами ряда исследователей [2, 5, 6] установлено, что микобиоту сенажа представляют виды родов *Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Chaetomium*, семейства Mucoraceae. Развитие указанных грибов связывают с нарушениями правил технологии сенажирования. Эти грибы, по существу, являются контаминантами кормов любых других видов.

Материалы и методы

При проведении настоящих исследований была поставлена цель – изучить специфическую микобиоту сенажа, заготовленного в условиях Московской области, а также определить доминантные виды.

Изучено 193 средние пробы сенажа различного ботанического состава (злаковые, бобовые, бобово-злаковые смеси), полученные из 98 хозяйств 30 районов Московской области в период с декабря 2013 по апрель 2014 г. (табл. 1). Кроме того, приведены результаты исследований 60 проб сенажа, отобранных из сенажных сооружений спустя 6...7 месяцев после его закладки, осуществленные в 1988 г. и ранее не публиковавшиеся.

Таблица 1

Число исследованных проб сенажа

№ п/п	Район	Число хозяйств	Число исследованных проб сенажа					
			Общее число проб	в том числе по датам отбора				
				декабрь 2013 г.	январь 2014 г.	февраль 2014 г.	март 2014 г.	апрель 2014 г.
1	Волоколамский	4	7	0	4	0	3	0
2	Воскресенский	3	3	3	0	0	0	0
3	Дмитровский	6	8	8	0	0	0	0
4	Домодедовский	3	10	0	4	0	6	0
5	Зарайский	7	26	9	8	0	0	9
6	Истринский	3	3	3	0	0	0	0
7	Каширский	1	2	0	2	0	0	0
8	Клинский	3	3	0	0	2	1	0
9	Коломенский	5	6	0	6	0	0	0
10	Ленинский	3	3	0	0	3	0	0
11	Лотошинский	4	15	3	5	5	2	0
12	Можайский	2	4	2	2	0	0	0
13	Ногинский	3	4	3	1	0	0	0
14	Одинцовский	6	18	7	7	0	4	0
15	Озерский	3	3	0	3	0	0	0
16	Орехово-Зуевский	1	2	1	1	0	0	0
17	Павлово-Посадский	1	2	1	0	0	0	1
18	Подольский	1	3	2	1	0	0	0
19	Пушкинский	3	4	2	0	0	0	2
20	Раменский	6	12	6	6	0	0	0
21	Рузский	3	3	3	0	0	0	0
22	Сергиево-Посадский	4	5	5	0	0	0	0
23	Серебряно-Прудский	6	15	7	8	0	0	0
24	Серпуховской	2	2	2	0	0	0	0
25	Солнечногорский	1	1	0	0	0	0	1
26	Талдомский	3	7	2	2	2	1	0
27	Чеховский	4	7	5	2	0	0	0
28	Шатурский	3	9	5	2	0	2	0
29	Шаховской	3	5	2	2	1	0	0
30	Щелковский	1	1	0	1	0	0	0
ВСЕГО:		**98**	**193**	**81**	**67**	**13**	**19**	**13**

Каждую пробу подвергали микологическому анализу, включающему первичное выделение грибов, выделение их в чистые культуры и идентификацию.

Первичное выделение грибов проводили, помещая материал, предварительно нарезанный на фрагменты (2 см), в чашки Петри на поверхность агара Чапека–Докса, содержащего 10% медицинской консервированной желчи, 50 тыс. ЕД пенициллина и 100 тыс. ЕД стрептомицина (на 1 л среды). Посевы инкубировали в течение 7...10 сут при температуре 23...25°С и 37°С для выявления как мезофильных, так и термотолерантных грибов.

Предметом нашего изучения были в первую очередь представители родов *Penicillium, Aspergillus, Byssochlamys, Monascus, Fusarium*, широко известные своими токсигенными свойствами. Выделение этих грибов начинали после 7...10 сут культивирования, для чего колонии высевали сначала в чашки Петри с агаром Чапека–Докса, содержащим желчь и антибиотики, затем, после культивирования в течение 5...7 сут и подтверждения их чистоты, отсевали на косяки с агаром Чапека–Докса.

Видовую идентификацию изолятов проводили с использованием микологических ключей в пособиях по определению аспергиллов [8], пенициллов [9], фузариев [7] и других микромицетов [3, 4].

Результаты исследований

Микологическое исследование 193 проб, поступивших на исследование в 2013–2014 гг., показало, что в 186 пробах (96,4%) выявлены микромицеты, относящиеся к родам *Penicillium, Aspergillus, Byssochlamys, Monascus, Scopulariopsis, Geotrichum, Trichoderma, Fusarium, Paecilomyces, Phoma, Sopdaria, Chaetomium, Trichothecium*, а также к семейству Mucoraceae, темноокрашенным гифомицетам и дрожжам, родовую и видовую идентификацию которых не проводили.

Согласно данным, представленным в табл. 2, наибольшую распространенность имели грибы рода *Penicillium* – они обнаружены в 133 пробах (68,9% от числа исследованных), при этом доминировал вид *P. roqueforti* Thom (116 проб, 60,1%), другие виды, такие как *P. cyclopium* Westling, *P. urticae* Bainier, *P. chrysogenum* Thom, *P. brevi-compactum* Dierckx, *P. martensii* Biourge, *P. aurantio-virens* Biourge, *P. palitans* Westling, *P. expansum* Link встречались значительно реже (в 0,5...4,7% проб).

Таблица 2

Распространенность микроскопических грибов в пробах сенажа из хозяйств Московской области

Грибы	Число проб, пораженных грибами					
	Общее число	в том числе по датам отбора				
		декабрь 2013 г.	январь 2014 г.	февраль 2014 г.	март 2014 г.	апрель 2014 г.
1	2	3	4	5	6	7
ВСЕГО:	186/193*	80/81	63/67	12/13	19/19	12/13
Род *Penicillium*	133	56	41	10	17	9
P. roqueforti	116	43	38	10	16	9
P. cyclopium	9	7	2	0	0	0
P. urticae	4	4	0	0	0	0
P. chrysogenum	4	3	0	0	1	0
P. brevi-compactum	3	2	1	0	0	0
P. martensii	1	1	0	0	0	0

1	2	3	4	5	6	7
P. aurantio-virens	1	1	0	0	0	0
P. palitans	1	1	0	0	0	0
P. expansum	1	1	0	0	0	0
Penicillium spp.	5	4	1	0	0	0
Род *Aspergillus*	122	47	50	11	10	4
A. fumigatus	89	25	41	10	9	4
A. pseudoglaucus	26	13	12	1	0	0
A. candidus	9	4	5	0	0	0
A. niger	9	6	2	1	0	0
A. nidulans	8	5	2	0	1	0
A. amstelodami	7	4	1	1	1	0
A. flavus	7	4	3	0	0	0
A. chevalieri	5	2	3	0	0	0
A. versicolor	4	3	1	0	0	0
A. repens	2	1	1	0	0	0
A. wentii	1	1	0	0	0	0
Aspergillus spp.	3	2	1	0	0	0
Mucoraceae	102	41	41	6	12	2
Дрожжи	85	29	37	8	5	6
Byssochlamys nivea	56	21	23	3	6	3
Monacsus ruber	47	21	13	7	5	1
Scopulariopsis spp.	17	8	8	0	0	1
Geotrichum candidum	15	8	5	2	0	0
Темноокрашенные гифомицеты	12	9	3	0	0	0
Trichoderma spp.	5	2	2	0	0	1
Fusarium sporotrichioides	3	2	1	0	0	0
Paecilomyces sp.	1	0	1	0	0	0
Phoma sp.	1	0	1	0	0	0
Chaetomium sp.	1	1	0	0	0	0
Trichothecium roseum	1	0	1	0	0	0
Sordaria sp.	1	1	0	0	0	0

Примечание: * – здесь и далее по строке – число пораженных грибами проб/число исследованных проб.

Приблизительно с такой же частотой выявляли представителей рода *Aspergillus* (122 пробы, 63,2%), среди которых преимущественное распространение имел вид *A. fumigatus* Fresenius (89 проб, 46,1%). Пятая часть проб (20, 2%) контаминирована видами из группы *Aspergillus glaucus*, в частности *A. pseudoglaucus* Blochwitz (13,5%), *A. amstelodami* (Mangin) Thom et Church (3,6%), *A. chevalieri* (Mangin) Thom et Church (2,6%) и *A. repens* (Corda) De Bary (1,0%). Часто встречающиеся,

например, в комбикормах виды *A. niger* van Tieghem, *A. candidus* Link, *A. flavus* Link в наших исследованиях выявляли эпизодически: в 3,6...4,7% проб. Так же редко обнаруживали виды *A. nidulans* Eidam (4,1%), A. *versicolor* (Vuill.) Tiraboschi (2,1%) и *A. wentii* Wehmer (0,5%).

Широкую распространенность в пробах сенажа имели мукоровые грибы (52,8%), в состав которых входили микроаэрофилы, способные развиваться при незначительном содержании кислорода – в условиях, создающихся в сенажной массе. В 44,0% проб присутствовали дрожжи и дрожжеподобные грибы.

Почти треть (29,0%) изученных кормов контаминирована *Byssochlamys nivea* Westling, который более типичен для силосованных кормов, имеющих более высокий, чем у сенажа, уровень влажности.

Достаточно часто выявляли такие термотолерантные грибы, как *Monascus ruber* van Tieghem (24,35%), *Geotrichum candidum* Link ex Persoon (7,8%) и виды рода *Scopulariopsis* (8,8%).

В изученных пробах довольно редко и, как правило, лишь на первых этапах исследований, выявляли «полевые грибы» – виды рода *Fusarium* (1,55%) и темноокрашенные гифомицеты (6,2%), обычно присутствующие в сене; по-видимому в процессе сенажирования они быстро прекращают свое развитие и замещаются другими грибами.

Представители родов *Trichoderma, Paecilomyces, Phoma, Sordaria, Chaetomium*, а также вид *Trichothecium roseum* Link показали незначительную степень контаминации проб корма – первый из них обнаружен в 2,6% проб, остальные – в 0,5%.

Исследование 60 проб сенажа, проведенное в 1988 г., показало, что по органолептическим показателям (цвет, запах, консистенция, значение pH и влажность) 26% от общего числа относится к хорошему корму, 35% – к среднему, 22% – к плохому; 17% проб имели показатели, свойственные силосу (влажность их составляла свыше 60%), в связи с чем выявленная в них микобиота не может считаться свойственной сенажу. В ряде случаев (10% проб) наблюдали заметное невооруженным глазом заплесневение.

Результаты микологического исследования приведены в табл. 3.

Таблица 3

Частота контаминации сенажа микромицетами

Грибы	Кол-во контаминированных проб, %
1	**2**
Род *Mucor* Mich. em. Ehrenb.	26
M. griseo-ochraceum Naum.	8
M. circinelloides v. Tiegh.	10
M. hiemalis Wehmer	6
M. racemosus Fres.	2
Род *Absidia* v. Tiegh.	12
A. ramosa (Lindt) Lendn.	4
A. corymbifera (Cohn) Sacc. et Trott	8
Род *Rhizopus* Ehrenb.	6
R. oryzae Went et Prin. Geerligs	4
R. nigricans Ehrenb.	2
Род *Penicillium* Link	38
P. corymbiferum Westling	14
P. ochraceum (Bainier) Thom	10
P. cyclopium	4
P. roqueforti	14
P. granulatum Bain.	6
P. expansum	4
Род *Aspergillus* Link	28
A. fumigatus	20
A. nidulans	6
A. versicolor	2
A. terreus Thom	2
A. flavus	2
A. repens	2
A. candidus	4
A. amstelodami	2
Paecilomyces viridis Segret. et Samson	4
P. varioti Bainier	2

1	2
Trichoderma viride Persoon ex Fries	2
Chrysosporium merdarium (Link) Carmichael	2
Botrytis cinerea Persoon ex Fries	2
Scopulariopsis brevicaulis Bain.	16
S. constantini Bainier	2
Geotrichum candidum	8
Byssochlamys nivea	10
Monascus ruber	34
Chaetomium globosum Kunze	6
Anixiopsis sp.	2

Анализ этих данных показывает, что наибольшее распространение имели пенициллы (в 38% проб), при этом доминировали микроаэрофил *P. roqueforti* (14%), а также *P. corymbiferum* Westling (14%) и *P. ochraceum* (Bainier) Thom (10%). Первый из названных видов выявляли, главным образом, в пробах сенажа плохого качества (иногда при этом он вызывал заметное невооруженным глазом заплесневение корма) или в сенаже с влажностью, свойственной силосу.

Значительная часть проб (28%) контаминирована аспергиллами, преимущественно термотолерантным видом *A. fumigatus* (20%), интенсивное развитие которого связано во всех случаях с изменениями органолептических показателей сенажа; находили его большей частью в пристеночных участках и поверхностном слое хранящейся в траншее партии, а также в слишком сухом сенаже с влажностью 20…30%. В сенаже удовлетворительного качества его не обнаруживали вовсе, либо выявляли в незначительном количестве.

Весьма часто (в 26% проб) обнаруживали мукоровые грибы, в частности из родов *Mucor* (в 26% проб), *Absidia* (в 12%) *Rhizopus* (в 6% проб).

Названные виды грибов обнаруживали, как правило, в сенаже с неудовлетворительными органолептическими показателями, причем эти показатели находились в прямой зависимости от интенсивности поражения корма грибами. Однако в ряде случаев (12% проб) высокая заспоренность сенажа грибами, главным образом термотолерантными (*Monascus ruber* в 34% проб, виды *Scopulariopsis* в 18% проб, *Geotrichum candidum* в 8% проб), не сопровождалась изменением органолептических показателей сенажа, возможно, что эти виды представляют собой специфическую микобиоту доброкачественного сенажа.

Гриб *B. nivea* обнаружен в 10% проб сенажа, приближающихся по своим показателям к силосу, и, по-видимому, он не является специфичным для изучаемого вида корма.

В пробах полностью отсутствовали «полевые» грибы.

Среди названных грибов значительное число видов известны как продуценты тех или иных микотоксинов. Определенную опасность могут представлять термотолерантные грибы, обладающие патогенными свойствами. К ним, кроме *A. fumigatus*, возбудителя аспергиллеза животных, в том числе молодняка крупного рогатого скота, можно отнести мукоровые грибы из родов *Mucor, Absidia, Rhizopus*, обнаруженные большей частью в сенаже плохого качества. Указанные мукоровые грибы могут при определенных условиях вызывать микозы и микотические аборты у животных.

Выводы

1. Установлено, что основными контаминантами сенажа являются *P. roqueforti, A. fumigatus*, виды группы *A. glaucus*, представители семейства Mucoraceae, дрожжи, *B. nivea* и *Monascus ruber*.

2. Интенсивное развитие в сенаже микроскопических грибов связано с изменением органолептических показателей корма; происходит оно большей частью в плохо утрамбованных местах, в поверхностном слое сенажа, в пристеночных участках, а также в корме с пониженной влажностью. В этом случае отмечено развитие прежде всего *A. fumigatus* и *P. roqueforti.*

3. В сенаже, имеющем показатели, свойственные силосу, может произойти массовое развитие микроаэрофильного гриба *B. nivea*.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Богданов Г. А., Привало О. Е.* Сенаж и силос – М.: Колос, 1983. – С. 48–89.
2. *Карпова Л. И., Белобородова Л. С., Коробейникова К. В., Устинова Л. Д.* Санитарно-микологические показатели и питательная ценность сенажа в условиях Тюменской области // Материалы по ветеринарной арахно-энтомологии и ветеринарной санитарии. – Тюмень, 1971. Вып. 3. – С. 377–383.
3. *Кириленко Т. С.* Атлас родов почвенных грибов. – Киев: Наукова Думка, 1977. – 128 с.
4. *Милько А. А.* Определитель мукоральных грибов. – Киев: Наукова Думка, 1974. – 303 с.
5. *Спесивцева Н. А., Хмелевский Б. Н.* Санитария кормов. – М.: Колос, 1975. – С. 101–128.
6. *Хмелевский Б. Н.* Ветеринарно-санитарный контроль качества сенажа // Ветеринария. – 1972. – № 1. – С. 22–25.
7. *Booth C.* The genus Fusarium // Commonwealth Mycological Institute / Kew. Surrey. – England, 1971. – 237 pp.
8. *Raper K. B., Fennel D. I.* The genus Aspergillus. – Williams and Wilkins Co. Baltimore. 1965.
9. *Raper K. B., Thome C.* A manual of the Penicillia. – Williams and Wilkins Co. Baltimore. 1949.

Сведения об авторах: *Пирязева Елена Алексеевна*, канд. биол. наук, ст. научн. сотр. лаб. микотоксикологии, 8(499)256-80-31; *Малиновская Л. С.*, канд. биол. наук.

MYCOBIOTA OF HAY FORAGE LAID IN MOSCOW REGION

E. A. Piryazeva, L. S. Malinovskaya

The results of a study on mycobiota of 253 hay forage samples conducted in 1988 and 2013–2014 are presented in the paper. It was detected that the most frequent contaminants of hay forage were P. roqueforti, A. fumigatus, species of A. glaucus group, representative of Mucoraceae family, yeast, B. nivea and Monascus rubber. It was shown, that in hay forage with bad quality according to organoleptic indices and in hay forage with reducing humidity occurred intensive development of fungi – A. fumigatus, P. roqueforti, species of Mucoracea family. In hay forage with the indices like to silage mass development of B. nivea may occurred.

Key words: micobiota, hay forage.

УДК 619:614.31

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕЖИМОВ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ ПОВЕРХНОСТЕЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ МЯСОСЫРЬЕВОГО ЦЕХА

И. В. Сироткин
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

В статье освещены вопросы санитарно-микробиологического мониторинга дезинфекции поверхностей технологического оборудования мясоперерабатывающего предприятия в зависимости от используемых режимов обработки.

Ключевые слова: санитарно-показательные микроорганизмы, КМАФАнМ, энтеробактерии, БГКП, стафилококки, технологическое оборудование, дезинфектанты, петрифильмы, микробиологический мониторинг.

Введение

Современные требования к качеству и безопасности мясного сырья, полуфабрикатов и готовой продукции обусловливают необходимость постоянного санитарно-микробиологического и гигиенического мониторинга всех критических точек производства в соответствии с основными принципами НАССР. Производство безопасной мясной продукции высокого качества может быть обеспечено лишь при строгом соблюдении санитарно-гигиенических условий с использованием эффективных режимов и средств для профилактической дезинфекции поверхностей технологического оборудования. Обязательная и своевременная очистка и профилактическая дезинфекция оборудования и инвентаря, применяемого при переработке мясного сырья, представляют собой важные элементы постоянного производственного санитарного контроля, который включает санитарно-микробиологический мониторинг чистоты оборудования и инвентаря, контроль качества мойки и дезинфекции [1, 3].

Производственные лабораторные санитарно-микробиологические исследования смывов после санитарной обработки поверхностей оборудования цеха помогают сделать достаточно объективное заключение о санитарном состоянии производства и о микробиологической безопасности производимых мясного сырья и мясных полуфабрикатов. Иногда данное обследование направлено на выявление конкретных патогенных микроорганизмов, но чаще на мониторинг так называемых индикаторных санитарно-показательных бактерий [2, 4].

Материалы и методы

В течение 6 мес с поверхностей производственного оборудования мясосырьевого цеха Черкизовского мясоперерабатывающего завода отбирали смывы после профилактической дезинфекции для определения остаточной санитарно-показательной микрофлоры. Объектами санитарного мониторинга являлись разделочные полимерные доски, бигбоксы, китайки, пластиковые ящики, транспортеры. Для дезинфекции применяли щелочное пенное моющее средство с дезинфицирующим эффектом (на основе ЧАС) Биомол КС3, первоначально использовавшееся на предприятии в 1%-ной концентрации при температуре 30…35°С и экспозиции 15 мин. После отработки нового режима применения данного препарата в 3%-ной концентра-

ции при температуре 45…50°С и экспозиции 15 мин смывы для мониторинга также отбирали в течении полугода. Смывы брали стерильным тампоном Eurotubo с 5 мл забуференной пептонной водой (pH 6,8…7,4) с площади 100 см^2 по общепринятой методике после дезинфекции перед началом работы цеха. КМАФАнМ, БГКП, энтеробактерии и стафилококки определяли в соответствии с МУК 4.2.2884-11 с помощью тест-подложек Petrifilm. Идентификацию оставшейся после дезинфекции микрофлоры проводили с использованием нового бактериологического компьютеризированного анализатора MicroTax (Австрия).

Результаты исследований

Анализ результатов проведенных исследований позволил установить, что при режиме дезинфекции с применением 1%-ного раствора препарата Биомол КС3 в мясосырьевом цехе средний уровень КМАФАнМ составлял 3,2•10^3…4,5•10^3 КОЕ/см^3. Количество проб, в которых были обнаружены санитарно-показательные микроорганизмы, составляло 28% числа исследованных смывов. Как видно из рис. 1, больше всего из санитарно-значимых микроорганизмов было выделено штаммов энтеробактерий (56,8% числа выделенных микроорганизмов), не включающих БГКП, несколько меньше обнаружено БГКП (32,4%) и стафилококков (10,7%).

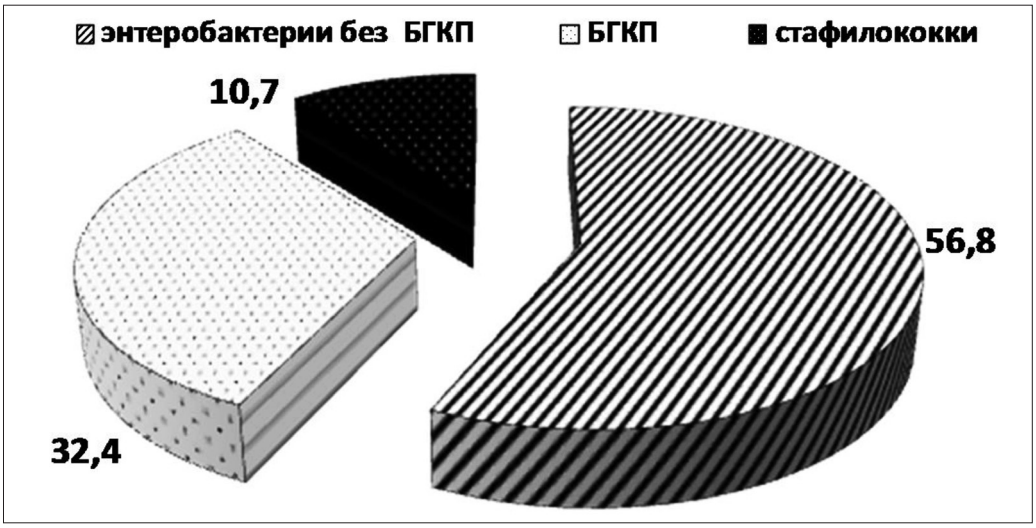

Рис. 1. Результаты идентификации санитарно-показательных групп микроорганизмов (%) на поверхностях оборудования мясоперерабатывающего цеха при использовании 1%-ного раствора препарата Биомол КС3

После опытов по отработке нового, более эффективного режима дезинфекции (3%-ный раствор препарата Биомол КС3) на этих поверхностях количество санитарно-показательных микроорганизмов значительно уменьшилось. Так, лишь в 4,9% смывов были выявлены санитарно-показательные микроорганизмы. Уровень КМАФАнМ снизился до 4,6•10^2...6,1•10^2 КОЕ/см^3. При этом (рис. 2) больше всего выявлялось энтеробактерий, не включая БГКП, (95,0%), тогда как количество БГКП составляло лишь 3,2%, стафилококков – 1,6% числа выделенных микроорганизмов.

При анализе полученных данных (рис. 3) было установлено, что новый режим применения дезинфектанта позволил снизить уровень энтеробактерий, не включающих БГКП, с 26 до 5,4 % (числа исследованных смывов), БГКП с 14,8 до 0,2% и стафилококков – с 4,9 до 0,1%.

При видовой идентификации остаточной санитарно-показательной микрофлоры после дезинфекции установлено, что наиболее часто выделялись такие пред-

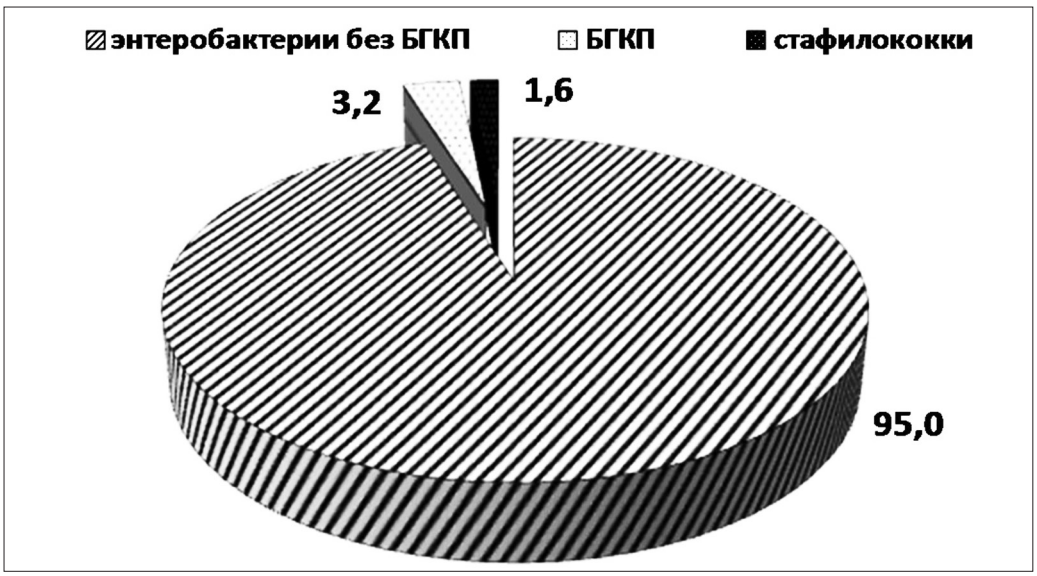

Рис. 2. Результаты идентификации санитарно-показательных групп микроорганизмов (%) на поверхностях оборудования мясоперерабатывающего цеха при использовании 3%-ного раствора препарата Биомол КС3

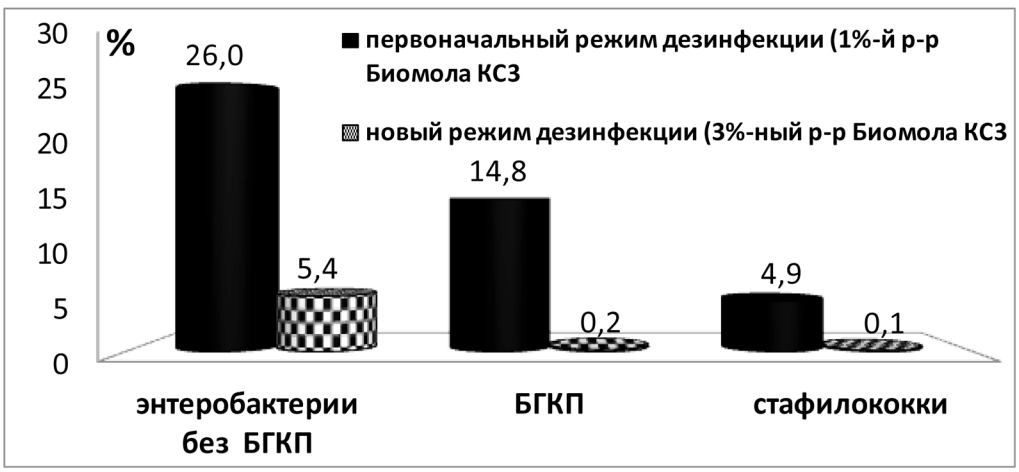

Рис. 3. Сравнительный анализ результатов групповой идентификации санитарно-показательных микроорганизмов при разных режимах дезинфекции

ставители семейства Enterobacteriaceae (помимо группы БГКП), как *Hafnia alvei, Yersinia intermedia, Providencia alcalifaciens, Providencia rettgeri, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Leclercia adecarboxylata, Rahnella aquatilis, Kuyvera cryocrescens*.

Из группы БГКП после дезинфекции обнаруживались *Citribacter freundii, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Serratia liquefaciens, Pantoea agglomerans, Serratia marcescens, Serratia plymuthica, Serratia rubidaea, Klebsiella oxytoca.*

Из рода стафилококков были выделены *S. cohnii* и *S. aureus*.

Выводы

Установлено, что действующий режим профилактической дезинфекции (1%-ный раствор Биомола КС3), применяемый на предприятии, не позволял эффективно удалять индикаторные сани-

тарно-показательные микроорганизмы с поверхностей технологического оборудования мясосырьевого цеха. После отработки нового режима применения дезинфектанта (3%-ный раствор Биомола КС3) уровень КМАФАнМ снизился в 7,2 раза, энтеробактерий (без БГКП) – в 4,8 раза, БГКП – в 74 раза и стафилококков – в 49 раз. Также было отмечено, что при любых режимах дезинфекции на поверхностях оборудования остаются энтеробактерии, не включающие БГКП, тогда как представители БГКП и стафилококки практически не обнаруживаются.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Куликовский А. В.* Эмерджентные пищевые зоонозы. – М.: Крафт+, 2004.
2. *Макаренкова Г. Ю.* Новые подходы к анализу рисков для обеспечения безопасности пищевой продукции // Мясные технологии. – 2007. – № 7. – С. 12–15.
3. *Abdussalam M., Kaferstein F. K.* Food safety and primary health care // World Health Forum. – 1994. – Vol. 15. – P. 393–399.
4. *Stringer M.* Food-Safety Objectives – Role in microbiological Food Safety Management // ILSI Europe Report Series. Marselle. – 2004. – Vol. 3. – P. 3–36.

Сведения об авторе: *Сироткин Игорь Владимирович*, аспирант; научный руководитель – Шурдуба Николай Александрович, зав. лаб. санитарии молока, канд. вет. наук, доцент; тел. (499) 256-04-50.

SANITARY-MICROBIOLOGICAL MONITORING THE EFFECTIVENESS OF PREVENTIVEDISINFECTION REGIMES FOR THE SURFACES OF THE TECHNOLOGICAL EQUIPMENT IN MEAT RAW SHOP

I. V. Sirotkin

A problem on the sanitary-microbiological monitoring the disinfection of the equipment surfaces in meat processing shop is elucidated in the paper in depending on the regimes of the preventive disinfection.

Key words: sanitary-indicative microorganisms, enterobacteria, BGKP, staphylococci, technological equipment, disinfectants, petrifilms, microbiological monitoring.

УДК 619:614.449.932.34

НОВАЯ ФОРМА ПРИМАНОК НА ОСНОВЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ГЕЛЕОБРАЗУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ БОРЬБЫ С СИНАНТРОПНЫМИ ГРЫЗУНАМИ В ОБЪЕКТАХ ВЕТЕРИНАРНОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ

А. Ф. Кадиров, С. А. Клементьева
ГНУ ВНИИ институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологи

Разработаны новые родентицидные средства – «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5» для борьбы с грызунами в объектах ветеринарного обслуживания. Изучена в лабораторных и производственных условиях возможность применения гелеобразных приманок на основе органических гелеобразующих веществ в практике дератизации.

Ключевые слова: дератизация, родентицидные приманки, антикоагулянт, синергист.

Необходимость борьбы с синантропными грызунами – крысами и мышами в объектах ветеринарного обслуживания не вызывает сомнений.

Для ветеринарных специалистов не секрет, что эти маленькие зверьки наносят огромный экономический ущерб, убивая домашнюю птицу, поедая корма для животных, продукты питания, уничтожая сотни тонн зерна, повреждая постройки, гидротехнические сооружения, одежду, мебель, различное электрооборудование.

Являясь источником или переносчиками ряда болезней человека и животных, в том числе чумы, туляремии, сибирской язвы, туберкулеза, и др., они способствуют распространению эпидемий и пандемий. По данным В. А. Рыльникова, «… из 30 наиболее распространенных зооантропонозов на земном шаре у 28 хранителями инфекций являются грызуны» [4]. А в связи с улучшением качества жизни населения России и соответственно созданием благоприятных условий для размножения и распространения крыс и мышей, проблема борьбы с синантропными грызунами не только не утратила своего значения, но и стала более актуальна.

В настоящее время основным способом дератизации является химический метод с использованием отравленных приманок. Сущность этого метода состоит в том, что яды добавляют к пищевым продуктам и жидкостям (приманкам).

Как и в нашей стране, так и в ряде других государств (США, ФРГ, Франция, Англия и др.) в качестве основных дератизационных ядов в последние 30 лет применяют различные препаративные формы антикоагулянтов – варфарин, томорин, ракумин, кумахлор, дикумарол, пролин, фумарин, нивал, валон, кумафен и др. В 70 – 80-х гг. 20 в. были разработаны антикоагулянты 2-го поколения – бромадиалон, бродифакум, дифенакум, которые обладают более высокой токсичностью даже после первичного попадания в организм грызунов. Для быстрого уничтожения грызунов на объектах иногда используют также и острые яды – фторацетат натрия или бария, фосфид цинка, крысид и др [2, 3, 5].

Однако в Российской Федерации во всех официально утвержденных инструкциях и наставлениях по применению рабочих форм родентицидных препаратов в основном изложены методы и способы приготовления и применения различных

форм пищевых приманок в виде зерновых приманок, гранул, брикетов, капсул и др., но очень мало рецептов изготовления гелеобразных форм приманок на основе органических загустителей и гелеобразователей.

Исходя из изложенного и учитывая потребности практики, в лаборатории дератизации ГНУ ВНИИВСГЭ нами были разработаны родентицидные средства – «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5», представляющие собой концентраты в форме порошка, содержащие в качестве действующего вещества антикоагулянт 1-го или антикоагулянт 2-го поколения. В состав концентрата также входят: гелеобразующий компонент, представляющий собой смеси полисахаридов из группы органических загустителей и гелеобразователей, аттрактантные вещества, краситель и другие компоненты.

Из созданных родентицидных средств готовят гель на водной основе, который затем используют для приготовления отравленных приманок.

Применение таких гелеобразных приманок в дератизации, на наш взгляд, весьма перспективно. Так, в ходе проведенных лабораторных и производственных исследований нами установлено, что изготовленные из родентицидных средств «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5» гелеобразные приманки длительное время не отвердевают, сохраняя свою вязкость, т.е. способны длительное время удерживать воду и оставаться в то же время привлекательными для грызунов. Ведь известно, что крысы – влаголюбивые животные, и потребность во влаге у них нисколько не меньше, чем потребность в кормах, а иногда даже больше. Поэтому такие приманки незаменимы будут, например, в зернохранилищах или на складах для хранения сухих кормов.

В то же время, благодаря оптимальной вязкости, в процессе поедания приманки грызуны не разбрасывают ее по сторонам.

Особенно хочется отметить способность гелеобразных приманок прилипать к различным поверхностям, что является неоспоримым преимуществом перед сыпучими приманками, так как зачастую грызуны гнездятся в полых пространствах стен и крыш, и спускаются к местам привычного кормления по трубам, перегородкам и другим конструкциям. Гелеобразная консистенсия приманок дает возможность применять их без тары или специальных емкостей и без приманочных коробочек, исключая возможность отравления нецелевых видов животных. При этом приманки не оставляют масляных пятен и следов на поверхности.

Проведенные нами в виварии ВНИИВСГЭ лабораторные исследованиями в соответствии с Методическим рекомендациям по оценке эффективности, токсичности и опасности родентицидов (утв. ГКСЭН № 01-19/127-17, 1995 г.) по изучению родентицидной активности гелеобразных приманок, изготовленных из средств «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5», в сравнении с родентицидной активностью сыпучих приманок, изготовленных из крупы пшеничной дробленой (рисунок), показали, что гель-приманки более привлекательны для грызунов и поедаются ими лучше, чем сыпучие.

Из представленных данных видно, что при одно-, двух-, трехдневном скармливании белым крысам отравленных гелеобразных приманок, изготовленных из родентицидных средств «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5», погибли 100% грызунов. Поедаемость гель-приманок при этом была несколько ниже (на 0,5...2,2% суточного рациона крыс), чем контрольного корма, и выше (на 0,9... 2,3 г/гол/сут) поедаемости сыпучих приманок.

В контрольных опытах при скармливании грызунам сыпучих приманок при наличии альтернативного корма гибель грызунов составила: при однодневном скармливании – 77%, при двухдневном – 88%, при трехдневном – 100%. Вероятно, это связано с тем, что поедаемость гелеобразных приманок подопытными грызунами несколько выше, чем приманок из крупы пшеничной, а в некоторых опы-

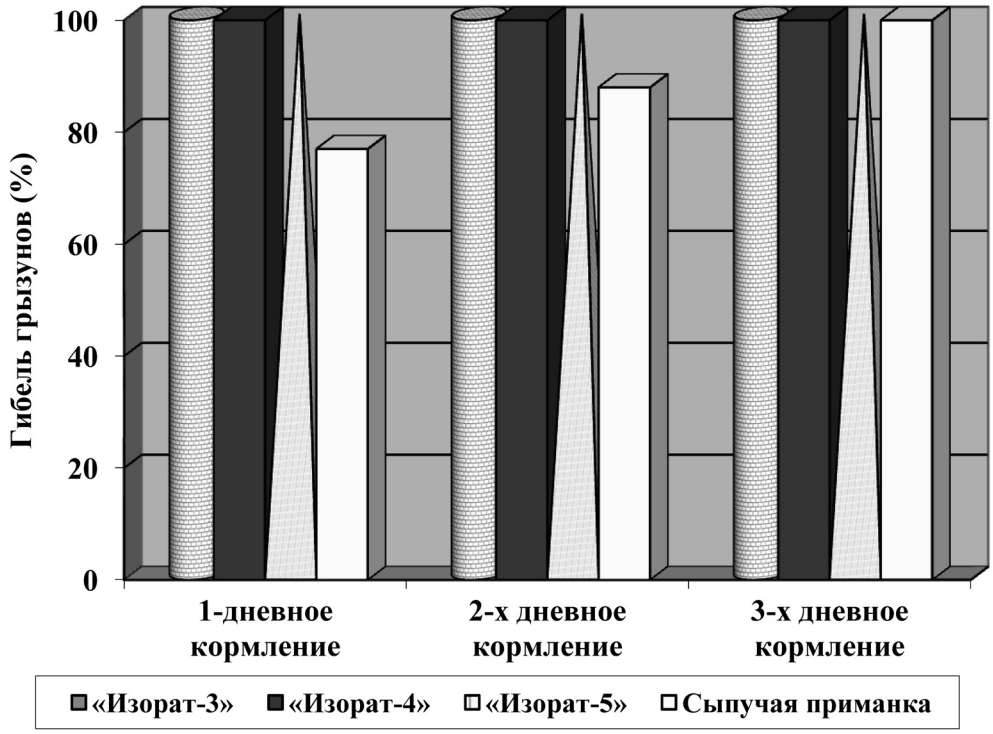

Рисунок. Результаты изучения родентицидной активности гелеобразных приманок, изготовленных из средств «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5» на белых крысах при альтернативном кормлении

тах и альтернативного корма, т.е. грызуны быстрее получают необходимую летальную дозу яда, благодаря чему увеличивается родентицидная активность приманок.

В ходе проведения практических испытаний в животноводческих хозяйствах Московской, Липецкой, Псковской областей, Республиках Чувашия, Таджикистан, Узбекистан установлено, что приманки, изготовленные из родентицидных средств «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5» эффективны в отношении серых и черных крыс, домовых мышей. Поедаемость их грызунами высока и составляет от 40 до 55% их суточного рациона. Гибель крыс составляет 86...100%, мышей 75...100% в течение 3...11 сут.

Включенный в состав родентицидных средств «Изорат-3», «Изорат-4» сульфаниламидный препарат – сульфахиноксалин – обладает синергической активностью по отношению к антикоагулянтам зоокумарину и тетрафенацину, т.е. усиливает родентицидную активность этих ядов, что способствует более быстрой гибели грызунов и позволяет добиться положительных результатов при проведении дератизационных мероприятий даже в тех объектах, где обнаружены резистентные особи [1].

Родентицидный гель, изготовленный из средств «Изорат-3», «Изорат-4», «Изорат-5», также можно применять в качестве ядовитого покрытия, или для обмазки, или для тампонирования нор грызунов.

По нашему мнению, исследования, направленные на разработку гелеобразных приманок как одной из препаративных форм родентицида и внедрение их в практику дератизации, дают возможность расширить применение родентицидного средства, увеличить эффективность дератизации и сэкономить большое количество пищевых продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кадиров А. Ф., Клементьева С. А*. Изыскание синергистов действия антикоагулянтов для повышения их родентицидной активности // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2009. – № 2. – С. 35–42
2. *Клементьева С. А*. Рецептуры ратицидных приманок на основе антикоагулянтов с применением синергиста. Дис. ... канд. вет. наук: 08.03.05. – М.: ГНУ ВНИИВСГЭ, 2006. – 145 с.
3. *Поляков И. Я*. Вредные грызуны и борьба с ними. – Л.: Колос, 1968. – 256 с.
4. *Рыльников В. А*. Управление численностью проблемных биологических видов // Дератизация. В 3-х томах. – М.: Институт пест-менеджмента. – Т. 3. – 2011. – С. 131.
5. *Траханов Д. Ф., Бричко В. Ф, Гараев И. М., Новокшонов Г. И.* Крысы и мыши и борьба с ними. – Ижевск, 1994. – 50 с.

Сведения об авторах: *Кадиров Адиль Фатулла оглы*, канд. вет. наук, заслуженный ветеринарный врач Российской Федерации, зав. лаб. дератизации; *Клементьева Светлана Алексеевна*, канд. вет. наук; тел 8 (495) 522-29-42.

A NEW FORM OF THE BAITS ON A BASE OF ORGANIC GEL-FORMING SUBSTANCES AGAINST THE COMMENSAL RODENTS IN VETERINARY CARE OBJECT

A. F. Kadirov, S. A. Klementieva

The new rodencides were developed (Izorat-3, Izorat-4, Izorat-5) for control of rodents in the veterinary care object. A possibility of application of the baits on a base of gel-forming organic substances was studied in a practice of deratization.

Key words: deratization, rodenticide baits, anticoagulant, synergist.

УДК 619:579, 842, 17

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА В ЦЕЛЯХ КОНТРОЛЯ СОДЕРЖАНИЯ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ НА ОБЪЕКТАХ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА

А. Б. Кононенко, Д. А. Банникова, С. В. Бритова, О. В. Светличкин
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

А. В. Лобанов
ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н.Семенова РАН

Препараты кластерного серебра с концентрацией наночастиц не менее 4 мг/л и размером частиц 20...30 нм, содержащие в качестве стабилизирующих и пленкообразующих компонентов додецилсульфат натрия, поливиниловый спирт, крахмал, тритон Х-100, олеиновую кислоту, обладают бактерицидной активностью в отношении *E. coli, S. aureus, Salmonella, Citrobacter, Providencia, Hafnia, Proteus, Morganella* и *Listeria*. Бактерицидная активность препаратов кластерного серебра сохранялась в течение 6 мес (период наблюдения). Препараты кластерного серебра с концентрацией наночастиц 35 мг/л при экспозиции 3 ч обеззараживали поверхности из различных гладких материалов и существенно снижали уровень контаминации тушек птицы энтеробактериями.

Ключевые слова: энтеробактерии, сальмонеллы, антибактериальные средства, методы определения устойчивости, дезинфектанты, коллоидное серебро.

Введение

В настоящее время сальмонеллез остается одним из наиболее проблемных заболеваний в структуре пищевых токсикоинфекций. Имеются данные о возрастающей роли сальмонелл, не имевших ранее большого значения, таких как *S. infantis* [1, 2]. Постоянно расширяется спектр видового разнообразия сальмонелл. Доминирующими сероварами часто называют *S. typhimurium, S. infantis* и *S. heidelberg*. Наблюдаемые изменения в этиологической структуре сальмонеллезов обязывают уделять особое внимание изучению биологических свойств возбудителей, без учета которых невозможно прогнозировать развитие эпидемического и эпизоотического процессов и разрабатывать эффективные меры по снижению заболеваемости сальмонеллезом [3, 4]. Данные литературы свидетельствуют об изменении бактериального фона окружающей среды вследствие адаптации к применяемым препаратам. Все чаще выявляются микроорганизмы, устойчивые к традиционно используемым дезинфектантам, распространение получают возбудители, мало чувствительные к внешним воздействиям [5, 6]. Бактерии приобретают способность вырабатывать антимикробные агенты, которые сопротивляются как дезинфектантам, так и антибиотикам [7]. Сообщается о зависимости устойчивости микроорганизма к дезинфицирующим средствам от масштаба применения того или иного препарата [8]. В основе резистентности микроорганизмов к воздействию дезинфицирующих средств лежит генотипический механизм, который пока еще недостаточно изучен [9, 10].

В настоящее время значительно возрос интерес к применению препаратов серебра как универсального антибакте-

риального и противогрибкового средства [12]. С развитием нанотехнологий проводятся исследования коллоидного, или кластерного, серебра как альтернативы традиционным препаратам этого металла. Действие серебра специфично по клеточной структуре. Наночастицы серебра, благодаря малому размеру, чрезвычайно активны, они имеют большую удельную поверхность, что увеличивает область контакта с микроорганизмами, значительно повышая его бактерицидные свойства [11, 13]. Таким образом, применение серебра в виде наночастиц позволит в сотни раз снизить концентрацию металла при сохранении всех его бактерицидных свойств. Актуальной остается проблема поиска стабилизаторов для данного препарата.

В связи с этим представлялось актуальным изучить бактерицидные свойства препаратов серебра в отношении патогенных энтеробактерий, определить влияние стабилизирующих и пленкообразующих компонентов на активность препаратов коллоидного серебра и подобрать оптимальные параметры их использования для снижения содержания патогенных энтеробактерий в объектах ветеринарного надзора.

Материалы и методы

Тест-культуры были представлены культурами сальмонелл различных видов, *E. coli* 1257, *S. aureus* P209 и другими энтеробактериями.

В качестве препаратов коллоидного серебра использовали субстанции, предоставленные сотрудниками лаборатории фитобионики Института химической физики РАН.

Бактерицидную активность препаратов коллоидного серебра с различными стабилизаторами и пленкообразующими компонентами определяли методом диффузии в агар. В толще мясо-пептонного агара, содержащего суточную культуру микроорганизмов в дозе 10^7 м.к/мл, стерильно делали лунки диаметром 4 мм, вносили препарат в рабочих разведениях и помещали в термостат при 37°С на 18...20 ч. Результаты учитывали по зоне задержки роста культур вокруг лунки.

Дезинфицирующие свойства препаратов испытывали на тест-объектах из различных материалов (кафельная и метлахская плитка, тушки птицы, оборудование и инструменты для разделки), контаминированных тест-культурами микроорганизмов. Для этого перечисленные объекты искусственно контаминировали взвесью суточных культур *E. coli* и *Salmonella* spp. Концентрация кластерного серебра в препаратах составляла 35 мг/л. Поверхности обрабатывали из расчета 500 мл/м^2 при экспозиции 3 ч, инструменты погружали в раствор препаратов кластерного серебра на 30 мин, тушки птицы помещали на 30 мин в емкость с холодной водой, содержащей препарат коллоидного серебра (для охлаждения). По истечении экспозиции проводили смывы стерильными ватными тампонами в пробирки с физиологическим раствором и выполняли бактериологические исследования на наличие жизнеспособных тест-культур. Контролем служили тест-объекты, обработанные водой.

Результаты исследований

На первом этапе работы была определена бактерицидная активность трех препаратов коллоидного серебра с различными стабилизаторами: додецилсульфатом натрия, поливиниловым спиртом и крахмалом. Фотохимический синтез наночастиц серебра в водной среде осуществляли путем растворения низкомолекулярных мицеллобразующих или полимерных стабилизаторов и нитрата серебра в дистиллированной воде с последующим облучением видимым светом. Концентрация частиц коллоидного серебра составляла 350 мг/л. Источником видимого света служила галогенная лампа в комплекте с линзами и конденсором. Размер наночастиц серебра составлял 20...30 нм (70% всего количества наночастиц).

В опытах ипользовали культуры *E. coli, S. aureus, S. enteritidis, S. dublin,*

S. cholerasuis, S. typhimurium, чтобы определить спектр действия кластерного серебра, его активность была также изучена в отношении бактерий родов Citrobacter, Providencia, Hafnia, Proteus, Morganella и Listeria. Результаты представлены в таблице 1.

Каких-либо различий в размерах зон задержки роста у препаратов в зависимости от химической природы стабилизатора отмечено не было. Все три препарата оказывали бактерицидное действие по отношению к изученным микроорганизмам в концентрации 4...8 мг/л.

Таблица 1

Бактерицидная активность препаратов коллоидного серебра

Микроорганизм	Зона задержки роста, мм, при концентрации кластерного серебра в препарате, мг/л			
	35	17	8	4
E. coli O 1257	18	18	12	10
S. aureus P 209	18	16	10	10
S. enteritidis(10)	14...18	14...15	9...12	8...10
S. dublin (3)	16...18	14...15	11...13	8...10
S. cholerasuis(1)	14	12	10	10
S. typhimurium(1)	10	10	10	10
Citrobacter freundii	12	11	10	10
Providencia rettgeri	11	9	8	8
Proteus mirabilis	20	19	18	14
Proteus vulgaris	12	12	11	10
Y. enterocolitica	17	14	9	8
Y. pseudotuberculosis	15	11	8	8
Listeria monocytogenes	18	12	10	10

Препараты сохраняли уровень бактерицидной активности по отношению к тест-культурам *E. coli* и Salmonella в течение 6 мес (период наблюдения). Препараты хранили при комнатной температуре без доступа света. В отношении стафилококка следует говорить о бактериостатическом действии, так как в зонах задержки роста отмечено очень слабое помутнение агара. Из этого следует, что незначительная часть популяции оставалась жизнеспособной и давала видимый рост.

Количество наночастиц в процессе хранения растворов снижалось не более чем на 10%. Распределение по размеру частиц сохранялось на первоначальном уровне.

На втором этапе изучена бактерицидная и дезинфицирующая активность пяти препаратов коллоидного серебра, содержащих в качестве стабилизаторов и пленкообразующих компонентов поливиниловый спирт (продолжительность синтеза наночастиц серебра 30 мин и 2 ч), додецилсульфат натрия, тритон Х-100, олеиновую кислоту. Результаты определения бактерицидной активности данных препаратов представлены в таблице 2.

Все препараты обладали бактерицидной активностью в отношении тест-культур в концентрации не менее 4...8 мг/л.

Дезинфицирующая активность в отношении *E. coli* и Salmonella spp. была установлена у препаратов с концентрацией наночастиц не менее 17 мг/л при экспозиции 3 ч. При указанной концентрации коллоидного серебра препараты не обеспечивали обеззараживающего эффекта на тест-объектах, контаминированных *S. aureus*. В посевах в МПБ смывов с таких объектов на 2..3-и сутки появлялся рост культур. Полное обеззараживание тест-объектов, контаминированных золотистым стафилококком, достигалось при воздействии препаратов с концентрацией серебра 35 мг/л при экспозиции 3 ч.

Таблица 2

Бактерицидная активность препаратов коллоидного серебра, содержащих пленкообразующий компонент

Препарат	Концентрация наночастиц серебра, мг/л	Зона задержки роста, мм		
		E. coli	Salmonella spp.	*S. aureus*
Кластерное серебро + поливиниловый спирт (синтез 30 мин)	35	17	17	17
	17	16	15	14
	8	13	12	10
	4	10	10	8
Кластерное серебро + поливиниловый спирт (синтез 2 ч)	35	18	13	12
	17	15	10	9
	8	11	7	8
	4	9	7	8
Кластерное серебро + поливиниловый спирт + додецилсульфат натрия	35	16	14	18
	17	15	13	16
	8	14	12	12
	4	11	9	9
Кластерное серебро + поливиниловый спирт + тритон Х-100	35	17	15	17
	17	16	14	15
	8	15	13	12
	4	11	10	9
Кластерное серебро + поливиниловый спирт + олеиновая кислота	35	20	17	17
	17	19	14	14
	8	16	11	10
	4	11	9	8

Препараты коллоидного серебра были испытаны в модельных опытах с целью снизить уровень контаминации объектов ветеринарного надзора (поверхности оборудования и инструментов для разделки, тушки птицы) в птицеводческих хозяйствах.

В посевах смывов с поверхностей оборудования в контроле обнаруживали сплошной рост энтеробактерий, в то время как в смывах с поверхностей, обработанных препаратами коллоидного серебра, рост энтеробактерий отсутствовал.

При исследовании обработанных препаратами коллоидного серебра инструментов (ножницы, пинцеты) рост микроорганизмов в посевах смывов был представлен единичными колониями, а в контроле (обработка водой) доходил до сотни колоний в отдельных пробах.

После охлаждения тушек водой без обработки (контроль) отмечался обильный рост энтеробактерий в посевах во всех смывах с их поверхности.

В смывах с тушек птиц, обработанных раствором коллоидного серебра, рост энтеробактерий отмечался не более 20...40 колоний в отдельных пробах.

Заключение

Препараты коллоидного серебра с концентрацией наночастиц не менее 4 мг/л и размером частиц 20...30 нм, содержащие в качестве стабилизаторов додецилсульфат натрия, поливиниловый спирт или крахмал, обладали бактерицидной активностью в отношении *E. coli*, *S. aureus* и Salmonella spp.

Препараты коллоидного серебра продемонстрировали широкий спектр бактерицидного действия в отношении следующих родов микроорганизмов: Citrobacter, Providencia, Hafnia, Proteus, Morganella и Listeria.

Бактерицидная активность препаратов коллоидного серебра, в состав которых входили стабилизаторы и пленкообразующие компоненты (поливиниловый спирт, додецилсульфат натрия, тритон Х-100, олеиновая кислота), сохранялась не менее 6 мес (период наблюдения) при условии хранения при комнатной температуре без доступа света. При этом количество наночастиц в процессе хранения растворов снижалось не более чем на 10%. Распределение по размеру частиц сохранялось на первоначальном уровне.

Препараты коллоидного серебра обладали дезинфицирующей активностью по отношению к *E. coli* и Salmonella spp. при концентрации наночастиц не менее 17 мг/л и экспозиции 3 ч. Полное обеззараживание тест-объектов, контаминированных *S. aures*, достигалось за 3 ч при увеличении концентрации серебра до 35 мг/л.

Препараты коллоидного серебра с концентрацией наночастиц 35 мг/л при экспозиции 3 ч обеззараживали поверхности из различных гладких материалов и существенно снижали уровень контаминации тушек птицы энтеробактериями.

Препараты на основе коллоидного серебра могут быть с успехом использованы для модификации традиционных и создании новых материалов, покрытий, моющих и дезинфицирующих средств. Материалы и покрытия с включением коллоидного серебра – лакокрасочные, текстильные, композитные – имеют широкие перспективы использования практически во всех областях народного хозяйства – от медицины и ветеринарии до строительной и космической.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Куликовский А. В*. Эмерджентные пищевые зоонозы. – М., 2004, 2006. – 175 с.
2. *Панин А. Н., Куликовский А. В., Сорокин П. П.* Профилактика сальмонеллеза при выращивании и переработке птицы // Птица и птицепродукты. – 2010. – № 6. – С. 37–41.
3. Птица и её переработка: проблемы, опыт, решения. Сальмонелла в мясе птицы. Аналитическая справка. Спецвыпуск. – Ржавки, 2010. – 64 с.
4. *Куракин Э. С.* Устойчивость сальмонелл, выделенных от больных нозокомиальными сальмонеллезами, к факторам внешней среды // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2009. – № 5. – С. 12–16.
5. *Недачин А. Е., Жолдакова З. И. и др*. Проблема реактивации микроорганизмов в оценке эффективности средств обеззараживания воды // Гигиена и санитария. – 2010. – № 1. – С. 15–18.
6. *Родин В. Б., Кобзев Е. В., Детушева Е. В. и др*. Перекрестная устойчивость микроорганизмов к антибиотикам, сопряженная с резистентностью к дезинфектантам // Дезинфекционное дело. – 2011. – № 4.
7. *Гурин К. И., Погорельский И. П., Бакулин В. М., Шаров Д. А*. Изучение биоцидной активности дезинфицирующего препарата на основе нанокластеров серебра // Дезинфекционное дело. – 2011. – № 4.
8. *Любимова А. В., Зуева Л. П. и др*. Обоснование мониторинга чувствительности к дезинфектантам микроорганизмов, циркулирующих в стационарах // Дезинфекционное дело. – 2011. – № 2. – С. 45–48.
9. *Мефодьев В. В., Маркова О. П. и др*. Оценка влияния некоторых дезинфектантов на формирование атипичных штаммов микроорганизмов // Дезинфекционное дело. – 2010. – № 4. – С. 42–44.
10. *Гусев А. И*. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. – М.: ФИЗМАТПИТ, 2007. – 416 с.
11. *Медведева Н. В., Ипатова О. М., Иванов Ю. В. и др*. Нанобиотехнология и наномедицина // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52. – Вып. 6. – С. 529–546.
12. *Мосин О. В*. Продукт нанотехнологии – коллоидное серебро. – М.: МГА тонкой хим. технологии им. М. В. Ломоносова, 2013.

13. *Shahverdy A. R., Fakhimi Ali, Minaian S.* Synthesis and effect of silver nanophractes on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus and Escherichia coli // Nanomedicine-Nanotechnology biolog and medicine. – 2007. – № 3(2). – P. 168–171.

Сведения об авторах: *Кононенко Анна Борисовна*, канд биол. наук, доцент, зав. лаб. сан. микробиологии, тел. (499) 256-54-73; *Банникова Дарья Андреевна*, канд. вет. наук, вед. науч. сотр.; *Бритова С. В.*, канд. вет наук, ст. науч. сотр.; *Светличкин О. В.*, канд. вет. наук, ст. науч. сотр.; *Лобанов А. В.*, канд. хим. наук, ст. науч. сотр. лаб. фитобионики.

EFFECTIVENESS OF USING THE PREPARATION ON A BASE OF COLLOIDAL SILVER TO CONTROL A NUMBER OF ENTEROBACTERIES AT THE VETERINARY SURVEILLANCE OBJECTS

A. B. Kononenko, D. A. Bannikova, S. V. Britova, O. V. Svetlichkin, A. V. Lobanov

It was found that the clustered silver preparations at concentration of nanoparticles no less than 4 mg/l and 20...30 nm particle size containing dodecilosulfat sodium, polyvinyl spirit, starch, triton X100, oleic acid as stabilizing and film-forming agents possessed bactericidal activity against *E. coli, S. aureus*, Salmonella, Citrobacter, Providencia, Hafnia, Proteus, Morganella and Listeria. The bactericidal activity of the clustered silver preparations retained for 6 months (experimental period). The preparations at nanoparticles concentration of 35 mg/l at 3 hour exposure decontaminated the various smooth surfaces and decreased substancially a level of contaminating the poultry carcasses with enterobacteries.

Key words: enterobacteries, Salmonella, antibacterial agents, method for detection of resistance, disinfectants, colloidal silver.

УДК 637.07:619:579

ОБРАБОТКА ВЫМЕНИ КОРОВ ДЛЯ РЕГУЛИРОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ В МОЛОКЕ

Г. А. Ларионов, Н. И. Миловидова, О. Н. Дмитриева, М. А. Сергеева
ФГБОУ ВПО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия»

Основным фактором, определяющим уровень санитарно-гигиенических показателей качества молока, является гигиена доения коров. Особое внимание сосредоточено на использовании и внедрении высокоэффективных средств обработки сосков вымени коров.

Ключевые слова: корова, вымя, молоко, микробиологическая обсемененность, средства обработки, качество.

Введение

Российский рынок молочной продукции является составной частью отечественной пищевой промышленности [5]. Основной программный документ, который определяет целевые показатели развития молочной промышленности, – доктрина продовольственной безопасности. В ней продекларирована необходимость достижения самообеспеченности молочного рынка не менее 90 % [2, 3].

Качество молока – четкая система мероприятий, предупреждающих причину возможных отклонений от нормы и определяющих пути их устранения [4]. Регулирование качества молока – один из основных факторов, определяющих финансовую стабильность и благополучие молочных хозяйств.

В связи с этим целью наших исследований является повышение качества молока за счет снижения его бактериальной обсемененности с применением средств на основе молочной кислоты, йода в комплексе с поливинилпирролидоном и хлоргексидина для обработки сосков вымени коров.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи.

1. Определить качество молока коров в соответствии с современными требованиями.
2. Обосновать применение средств для обработки сосков вымени Grafoam, Gralan PVP и Gradin blue gel в целях снижения бактериальной обсемененности молока.

Материалы и методы

Производственные опыты по изучению влияния обработки сосков вымени на качество молока коров проводили в СХПК «Передовик» Моргаушского района Чувашской Республики (ЧР). Для исследований сформировали 3 группы коров по 7 голов: 1-я и 2-я группы – опытные, 3-я – контрольная.

В весенне-летний период провели исследования по использованию отечественных универсальных средств для обработки сосков вымени коров перед доением (Grafoam на основе молочной кислоты) и после доения (Gralan PVP на основе комплекса йода с поливинилпирролидоном и Gradin blue gel на основе хлоргексидина).

Grafoam – концентрированное универсальное средство для ежедневной обработки вымени перед доением на основе натурального мыла и молочной кислоты. Содержит ухаживающие, обеззараживающие компоненты. В опытах мы использовали один из возможных способов обработки: каждый сосок погружали в специальный стакан с 10%-ным раствором Grafoam на 1...2 с.

Gralan PVP – концентрированное средство для ежедневной обработки вы-

мени после доения на основе комплекса йода с поливинилпирролидоном. Эффективно при различных способах нанесения. В опытах каждый сосок погружали в специальный стакан с 20%-ным раствором Gralan PVP на 2...3 с.

Gradin blue gel – гелеобразное средство для ежедневной обработки вымени после доения на основе хлоргексидина с экстрактом ромашки аптечной (немецкой, голубой) *Matricaria recutita*. Готовый к применению состав не требует перемешивания или разбавления. Средство наносили методом погружения каждого соска в специальный стакан со средством на 2...3 с.

Результаты исследований и обсуждение

В СХПК «Передовик» Моргаушского района ЧР гигиена вымени при доении обеспечивается обработкой вымени перед доением – соски протирают салфетками, смоченными в теплой воде и отжатыми. Эффективность такой обработки сосков устанавливали, определяя качество молока по основным показателям.

Установлено содержание СОМО в молоке на уровне 8,2±0,03%, что соответствует норме; массовая доля жира и белка 3,6±0,03 и 2,85±0,042% при базисной норме 3,4 и 3,0% соответственно; кислотность 17,9±0,1°Т при норме 16,0...18,0°Т для молока высшего и первого сортов; плотность – 1027,2±0,1 при норме для молока высшего и первого сортов 1028,0 и 1027,0 кг/м^3 соответственно. Содержание соматических клеток в молоке составляло 495,1±25,2 тыс/см^3 при норме для молока высшего сорта 400 тыс/см^3, а для молока первого сорта 1000 тыс/см^3.

Для молока коров СХПК «Передовик» наиболее критичным показателем является бактериальная обсемененность. Для снижения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) провели обработку сосков вымени специальными средствами. В контрольной группе соски вымени коров протирали до доения салфеткой, смоченной в теплой воде. В 1-й опытной группе до доения соски обрабатывали средством Grafoam, а после доения – средством Gralan PVP. Обработку сосков вымени у коров 2-й опытной группы до доения проводили также средством Grafoam, а после доения обрабатывали препаратом Gradin blue gel. Для исследований применяли 10%-ный рабочий раствор средства Grafoam (0,5 частей концентрата на 4 части воды комнатной температуры), 20%-ный рабочий раствор средства Gralan PVP (1 часть концентрата на 4 части воды комнатной температуры) и готовое к применению гелеобразное средство Gradin blue gel.

Обработку вымени коров опытных групп проводили следующим образом: 1) протирали вымя индивидуальной салфеткой, смоченной в теплой воде и отжатой. С поверхности сосков при этом удаляются загрязнения, стимулируется выделение гормона окситоцина; 2) наносили средство Grafoam, погружая сосок в специальный невозвратный стаканчик для обработки вымени; 3) оставляли средство на 20...30 с, после чего сосок протирали салфеткой. При этом вместе с остатками препарата удаляются и патогенные микроорганизмы; 4) подключали доильные аппараты. Обработку вымени после доения проводили сразу же, поскольку сосковый канал остается открытым от 30 мин до 1 ч. После доения на соски вымени наносили средство методом погружения на 2...3 с.

Средство Gralan PVP (1-я опытная группа) благодаря наличию йода окрашивает соски в коричневый цвет. При обработке средством Gradin blue gel (2-я опытная групп) соски равномерно покрываются хорошо заметной пленкой синего цвета. Окрашивание сосков позволяет легко контролировать качество обработки. Обработанные после доения соски не вытирали. Перед началом следующего доения средство с сосков вымени смывали теплой водой (35°С). Условия содержания и кормления коров контрольной и опытных групп были одинаковыми.

В начале исследований до применения средств для обработки вымени молоко коров контрольной и опытных групп по микробиологической обсемененности соответствовало второму сорту.

В контрольной группе КМАФАнМ в молоке коров в первый период исследования в течение 30 и 65 сут изменилось незначительно (таблица).

Результаты наших исследований подтверждают, что обработка вымени коров перед доением путем протирания сосков салфетками, смоченными в теплой воде и отжатыми (контрольная группа), в условиях молочно-товарной фермы не позволяет получать молоко высокого качества. На наш взгляд, это связано с тем, что молоко, остающееся на кончике соска после завершения процесса доения, служит хорошей питательной средой для микроорганизмов, которые размножаются в нем и проникают в сосковый канал и оттуда – в молочную цистерну, где происходит их дальнейшее размножение.

У коров 1-й опытной группы при обработке сосков вымени до доения средством Grafoam и после доения средством Gralan PVP в основной период продолжительностью 30 сут микробиологическая обсемененность молока снизилась в 14 раз. Дальнейшее использование средств для обработки сосков вымени до и после доения в течение следующих 35 сут привело к снижению КМАФАнМ в молоке коров 1-й опытной группы в 23 раза.

У коров 2-й опытной группы обработка сосков вымени средством Grafoam до доения и Gradin blue gel после доения способствовала улучшению качества молока по микробиологической безопасности соответственно в 16 и 24 раза. Результаты исследований позволяют считать, что обработка сосков вымени после доения средством Gradin blue gel более эффективна, чем обработка сосков вымени средством Gralan PVP.

Снижение микробиологической обсемененности молока обусловлено хорошим дезинфицирующим эффектом средств Grafoam, Gralan PVP и Gradin blue gel. При погружении сосков вымени в дезинфицирующий раствор на 1 с тонизируется сфинктер соскового канала, с кончика соска смывается оставшаяся после доения капля молока и образуется антисептическая пленка. При этом уменьшается вероятность проникновения микрофлоры в молочную железу лактогенным путем через сосковый канал.

Таким образом, обработка сосков вымени коров средствами Grafoam, Gralan PVP и Gradin blue gel в СХПК «Передовик» обеспечило повышение уровня рентабельности производства благодаря снижению бактериальной обсемененности молока коров. В начале исследований молочно-

Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в молоке коров, КОЕ/см³ (г)

Срок проведения исследований	Группы		
	1-я опытная	2-я опытная	3-я контрольная
Подготовительный период	$(3,5\pm0,05)\cdot10^6$	$(3,6\pm0,03)\cdot10^6$	$(3,6\pm0,02)\cdot10^6$
Основной период, сут			
30	$(2,5\pm0,04)\cdot10^{5*}$	$(2,3\pm0,05)\cdot10^{5*}$	$(3,3\pm0,03)\cdot10^6$
65	$(1,5\pm0,03)\cdot10^{5*}$	$(1,5\pm0,04)\cdot10^{5*}$	$(3,2\pm0,03)\cdot10^6$
Требования к молоку, по сортам, не более**:			
высший	$1\cdot10^5$		
первый	$5\cdot10^5$		
второй	$4\cdot10^6$		

Примечание: *P ‹ 0,05; **Требования ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию» (с изменениями от 22.07.2010 г. № 163-ФЗ) [1].

товарная ферма заготавливала молоко второго сорта. В конце исследований качество молока стабильно соответствовало первому сорту и приблизилось к высшему сорту.

Выводы

Использование средств для обработки вымени способствует повышению качества молока коров. Бактериальная обсемененность молока при обработке сосков вымени средством Grafoam до доения и Gralan PVP после доения к концу исследований снизилась в 23 раза, а при применении Grafoam до доения и Gradin blue gel после доения – в 24 раза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Российская Федерация. Законы. Технический регламент на молоко и молочную продукцию : Федеральный закон принят Гос. Думой 23 мая 2008 г., одобрен Советом Федерации 30 мая 2008 г. (с изменениями от 22.07.2010 № 163-ФЗ).
2. *Зимина Т.* Обеспечить безопасность – обеспечить будущее // Животноводство России. – 2013. – № 6. – С. 10–12.
3. *Лабинов В. В.* Состояние молочного рынка России: проблемы и способы их нивелирования // Молочная промышленность. – 2013. – № 4. – С. 5–8.
4. *Родионов Г. В., Ананьева Т. В., Кужугёт Е.* Регулирование содержания микроорганизмов в молоке-сырье // Молочная промышленность. – 2012. – № 8. – С. 14–15.
5. *Шаркаев В. И., Шараева Г. А.* Динамика численности и продуктивности молочного скота в Российской Федерации // Молочная промышленность. – 2013. – № 7. – С. 10–11.

Сведения об авторах: *Ларионов Г. А.*, д-р биол. наук; *Миловидова Н. И.*, аспирант; *Дмитриева О. Н.*, аспирант; *Сергеева М. А.*, аспирант: тел.: 8(909)301-34-86; E-mail: Larionovga@mail.ru.

TREATMENT OF COW UDDER TO CONTROL THE NUMBER OF MICROORGANISMS IN COW MILK

G. A. Larionov, N. I. Milovidova, O. N. Dmitrieva, M. A. Sergeeva

Hygiene of milking in the main factor for detecting the level of sanitary-hygienic indices of milk quality. Particular attention must be focused on using the high effective means for treatment of udder teats.

Key words: cow, udder, milk, microbiological contamination, mean for treatment, quality.

УДК 619:618.636

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КОККОВОЙ МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ СЕКРЕТА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ОВЕЦ, К АНТИБИОТИКАМ

А. Ю. Алиев
ГНУ Прикаспийский ЗНИВИ, г. Махачкала

Изучен видовой состав микрофлоры при маститах у овец и определена чувствительность выделенных микроорганизмов к антибиотикам. Установлено, что выделенная микрофлора была высокочувствительна к тилозину, доксициклину и тетрациклину.

Ключевые слова: мастит, антибиотики, кокковая микрофлора, чувствительность к антибиотикам.

Введение

Существенным тормозом, сдерживающим темпы увеличения производства молока, является мастит, широко распространенное заболевание, наносящее значительный экономический ущерб. Убытки складываются из снижения молочной продуктивности, ухудшения качества молока, гибели и отставания в росте и развитии молодняка, преждевременной выбраковки маточного поголовья сельскохозяйственных животных, стоимости медикаментов для лечения больных животных, а также увеличения затрат рабочего времени и труда ветеринарных специалистов на лечение.

Мастит – воспаление молочной железы, занимает особое место среди многих болезней овец, им переболевает от 7...8 до 25...28% и более овцематок [2 – 4, 9].

В этиологии и патогенезе мастита у животных важную роль играет микрофлора. Как правило, антибиотикорезистентные штаммы обусловливают длительное и безуспешное лечение воспаления вымени. Поэтому определение микробного фона молока и антибиотикочувствительности выделенных штаммов является необходимым условием в подборе адекватных средств и методов лечения.

В связи с тем, что для лечения мастита у животных в настоящее время применяют в основном антимикробные вещества, в первую очередь антибиотики, была изучена структура видового состава микрофлоры, выделенной из секрета и экссудата молочной железы овцематок, больных маститом, и определена ее чувствительность к различным антибиотикам.

Материал и методы

Бактериологическому исследованию были подвергнуты микроорганизмы, выделенные из секрета молочной железы от 40 овцематок, больных клинически выраженным маститом и 40 проб от овцематок, больных субклиническим маститом, принадлежащих ПК «Ремонтники» Гергебильского района и СПК «им. Хизроева» Хунзахского района Республики Дагестан. Бактериологические исследования секрета вымени проводили в соответствии с Методическими рекомендациями по исследованию молока и секрета вымени коров (М., 2000). Биохимическую идентификацию микроорганизмов осуществляли с использованием бактериологического компьютеризированного анализатора.

Результаты исследований

При бактериологическом исследовании 40 проб молока от субклинически больных овцематок и 40 проб секрета молочной железы от овцематок, больных клинически выраженным маститом, микрофлора была выделена при субклиническом мастите в 35 пробах, а при

клинически выраженном заболевании в 38 пробах. Полученные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1

Контаминация секрета молочной железы овцематок с субклиническим и клинически выраженным маститом

Возбудитель	Мастит			
	субклинический		клинически выраженный	
	Число проб	%	Число проб	%
Staphylococcus aureus	11	27,5	12	30,0
Staphylococcus epidermidis	9	22,5	9	22,5
Streptococcus agalactiae	7	17,5	8	20,0
Staphylococcus saprophiticus	5	12,5	6	15,0
Streptococcus uberis	3	7,5	3	7,8
Всего:	35	87,5	38	95,3

У 12,5% животных с субклиническим и 4,7% с клинически выраженным маститом микрофлору в пробах секрета вымени из пораженных долей не выявили. Однако это не может свидетельствовать о ее полном отсутствии и асептическом развитии воспаления. По данным ряда исследователей, возбудители могут быть уничтожены в результате мобилизации защитных механизмов молочной железы, введением антибактериальных средств или образованием в тканях вымени цист, окруженных фиброзной оболочкой. Мастит могут вызывать также другие микроорганизмы, не растущие на используемых питательных средах, L-формы бактерий [6, 8].

Установлено, что один и тот же микроорганизм может быть выделен из молока и секрета вымени овцематок, больных субклиническим и клинически выраженным маститом. Следовательно, микроорганизм в зависимости от состояния, общей и локальной (молочной железы) резистентности может обусловить любую форму воспаления. Полученные нами данные совпадают с результатами других исследователей [1, 5, 7].

Результаты определения чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам приведены в таблице 2.

Приведенные в таблице 2 данные свидетельствуют о том, что золотистый стафилококк оказался более чувствительным к тилозину, доксициклину, тетрациклину, фуракрилину, фуразолидону и гентамицину и малочувствительным к канамицину, бензилпенициллину и стрептомицину.

Таблица 2

Чувствительность микрофлоры, выделенной из секрета вымени больных маститом овцематок, к антибактериальным средствам

Антибактериальные средства	Зона задержки роста (мм)				
	S. aureus	*S. epidermidis*	*S. saprophiticus*	*S. aqalactie*	*S. uberis*
1	2	3	4	5	6
Неомицин	10,0±0,71	19,4±1,66	12,5±0,67	13,7±1,33	17,2±1,46
Левомицетин	21,3±1,95	8,6±1,45	21,3±1,89	20,1±1,19	8,0±0,56
Стрептомицин	14,6±0,21	15,7±1,07	15,6±0,73	14,1±0,67	19,4±0,73
Гентамицин	21,6±1,80	19,9±1,43	25,2±2,09	15,9±0,71	16,0±1,46
Ампицилин	18,6±1,35	24,6±2,43	15,9±0,71	15,7±0,54	16,8±0,78
Канамицин	14,4±0,53	15,2±0,46	16,3±0,13	15,3±0,17	15,2±0,46
Эритромицин	18,6±1,17	17,8±0,82	16,1±0,77	19,6±1,72	20,7±1,73
Фуразолидон	21,8±1,47	20,2±1,87	20,8±1,74	15,1±1,53	19,7±1,47

1	2	3	4	5	6
Тетрациклин	28,7±2,48	26,7±1,96	25,3±2,06	23,6±1,76	20,5±1,78
Доксициклин	30,2±2,91	27,3±2,30	24,9±2,17	28,7±2,29	29,3±2,77
Энрофлоксоцин	18,6±1,73	16,7±0,62	20,6±1,73	13,4±0,96	20,1±1,19
Фуракрилин	22,6±0,96	21,6±1,82	17,6±1,17	20,5±1,83	20,8±1,97
Бензилпенициллин	14,1±0,26	15,3±0,73	15,6±0,43	17,3±0,11	14,9±0,42
Тилозин	30,5±2,6	29,4±2,0	27,8±2,3	28,4±2,1	29,1±2,2

Эпидермальный стафилококк отличается высокой чувствительностью к тилозину, доксициклину, тетрациклину, ампицилину, фуракрилину и малочувствителен к канамицину, левомицетину и бензилпенициллину.

Сапрофильный стафилококк высокочувствителен к тилозину, тетрациклину, доксициклину и гентамицину и малочувствителен к ампицилину и эритромицину.

Агалактийный стрептококк оказался чувствительным к тилозину, доксициклину, тетрациклину и фуракрилину и малочувствительным к канамицину, стрептомицину и гентамицину.

Стрептококк вымени проявил чувствительность к тилозину, доксициклину, эритромицину и тетрациклину и характеризовался малой чувствительностью к канамицину, бензилпенициллину и неомицину.

Таким образом, проведенные бактериологические исследования показали, что основными возбудителями субклинического мастита у овцематок служат бактерии из групп стафилококков и стрептококков, как в отдельности, так и в ассоциации и в единичных случаях – энтеробактерии.

Полученные нами данные о чувствительности микрофлоры к антибиотикам свидетельствуют о том, что изолируемые из экссудата молочной железы овец, больных субклиническим и клинически выраженным маститом, микроорганизмы наиболее чувствительны к тилозину, доксициклину и тетрациклину.

Заключение

Определение видовой принадлежности микрофлоры и изучение ее чувствительности к антибиотикам представляют собой необходимые условия эффективной химиотерапии при маститах у овцематок. Для лечения мастита у овец мы предлагаем применять антибиотики: тилозин, доксициклин и тетрациклин или препараты, в состав которых входят данные антибиотики.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кузьмин Г. Н.* Мастит кокковой этиологии у коров и рациональные способы его терапии и профилактики: Автореф. дис. … д-ра вет. наук. – Воронеж, 1995. – С. 50.
2. *Мутовин В. И.* Диагностика скрытого мастита у овец / В. И. Мутовин, П. М. Маматов // Ветеринария. – 1978. – № 9. – С. 69–70.
3. *Наурзыбаев И. Б.* Изучение бактериальной обсемененности молока при субклиническом мастите / И. Б. Наурзыбаев, Б. А. Асильбеков // Инфекционные и незаразные болезни сельскохозяйственных животных в Казахстане. – Алма-Ата, 1983. – С. 101–103.
4. *Никитин В. Я.* Диагностика и лечение острых маститов у овец / В. Я. Никитин // Материалы Северо-Кавказской научно-произв. конф. по воспроизводству и профилактике незаразных болезней овец. – Ставрополь, 1965. – С. 88–90.
5. *Осташевский А. Г.* Чувствительность к антибиотикам стафилококков, выделенных из вымени овец / А. Г. Осташевский, В. П. Образцов // Ветеринария. – 1968. – № 9. – С. 86–87.
6. *Париков В. А.* Разработка и совершенствование методов диагностики, терапии и профилактики мастита у коров: Автореф. дис. … в форме науч. докл. д-ра вет. наук. – Воронеж, 1990. – С. 52.

7. *Рамазанов С. Д.* Маститы овец / С. Д. Рамазанов // Овцеводство. – 1991. – № 4. – С. 40–41.
8. *Bramley A. J.* Streptococcus uberis mastitis: Epidemiology and pathogenesis // Anim. Health Nutrit. – 1987. – Vol. 42. – № 5.
9. *Gebrewahid T. T. Abera B. H.* Mendhistu Prevalance and etiology of subclinical mastitis in small Rumniants of Tigrau Regional state, North Ethiopia // Veterinary World. – 2012. – Vol. 5. – № 2. – P. 103–109.

Сведения об авторе: *Аюб Юсупович Алиев*, канд. вет. наук, зав. лабораторией по изучению болезней овец; alievayb1@mail.ru

SENSITIVITY OF MICROFLORA ISOLATED FROM MILK GLAND SECRET OF SHEEP TO ANTIBIOTICS

A. Yu. Aliev

The species composition of microflora in case of mastitis in sheep was studied and a sensitivity of isolated microorganisms to antibiotics was determined. It was established that isolated microflora was highly sensitive to tylosin, doxycycline and tetracycline.

Key words: mastitis, antibiotics, microflora, antibiotic sensitivity.

УДК 551.584:[619:616.2:636.4]

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОРОДА В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ НА СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ СВИНЕЙ

С. В. Шабунин, Ю. Н. Алехин
ГНУ ВНИВИПФиТ РАСХН, Воронеж

Н. Ф. Курило, А. В. Галкин
ООО «Зооветеринарный центр», Харьковская обл., Украина

Изучено влияние содержания кислорода в атмосферном воздухе на состояние здоровья поросят в возрасте 40...75 сут. Снижение концентрации кислорода в воздухе на 0,57% приводит к развитию компенсаторного эритроцитоза и микроцитарной анемии, а также к увеличению заболеваемости респираторными болезнями в 1,9 раза. При уменьшении уровня кислорода на 7,7% появляются признаки синдромов гепатодепрессии, эндогенной интоксикации и тканевой гипоксии, а также макроцитарной или мегацитарной анемии. Наблюдается дефицит факторов свертывания крови, участвующих во внутреннем пути образования протромбиназы. Увеличились заболеваемость животных респираторными болезнями в 10,7 раза и тяжесть их течения.

Ключевые слова: свиньи, микроклимат, кислород, обмен веществ, болезни органов дыхания.

Введение

Основными направлениями интенсификации свиноводства являются увеличение продуктивности и снижение ее себестоимости. В основе первого лежит активация иммунных и обменных процессов, происходящих в организме животных, что, в свою очередь, изменяет их отношение к параметрам кормления и содержания. В частности, повышается чувствительность свиней к неблагоприятным факторам внешней среды, снижается их способность к компенсации колебаний микроклимата и сужается диапазон его комфортной зоны [5, 9]. Отмеченное обусловливает необходимость постоянного мониторинга условий обитания свиней, чтобы при необходимости своевременно скорректировать их и привести в соответствие с фактическими потребностями организма конкретной селекционной или возрастной группы. Одной из наиболее актуальных задач оптимизации микроклимата является создание надлежащего воздушного режима в свиноводческих помещениях, что в первую очередь направлено на обеспечение животных необходимым количеством кислорода, который служит ключевым элементом всех метаболических процессов организма [8]. Как показал анализ литературы, наиболее изучены вопросы влияния на животных избытка в воздухе диоксида углерода, аммиака, сероводорода и оксида углерода, но недостаточно освещена роль дефицита кислорода.

Целью нашей работы было изучение влияния уровня кислорода в атмосферном воздухе на состояние здоровья свиней.

Материалы и методы

В январе – феврале 2014 г. в условиях промышленного комплекса с содержанием 5,5 тыс. свиноматок и производственной мощностью 14,5 тыс. тонн свинины живым весом в год, провели опыт на поросятах в возрасте 40...75 сут, полученных в результате покрытия хряком породы петрен (Франция) свиноматок, полученных в результате скрещивания пород крупная белая и ландрас (Дания).

Используя метод моделирования, с помощью газовых генераторов закрытого и открытого типов горения, соз-

дали микроклимат с разным уровнем кислорода в воздухе помещений. Для проведения опыта из числа клинически здоровых поросят в возрасте 40...45 сут, были сформированы три группы (n=550), которые содержались в секциях, оборудованных активной приточной (центральный воздуховод, потолочные вентиляторы) и вытяжной (осевой вентилятор) вентиляцией. В качестве источника тепла в помещениях, в которых находились животные 1-й и 3-й групп, использовали теплогенератор открытого типа горения (Shauer), а 2-й группы – аппарат закрытого типа горения (GSI). Изменяя режим работы вентиляции и газовых генераторов, сформировали стабильный уровень содержания кислорода в воздухе, который в секции № 1 составлял 20,80±0,003%, № 2 – 20,92±0,001%, и № 3 – 19,30±0,003%. Другие параметры микроклимата представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели микроклимата в секциях для содержания поросят опытных групп

Показатель	1-я группа			2-я группа			3-я группа		
	Периоды опыта, сут								
	1-10	11-20	21-30	1-10	11-20	21-30	1-10	11-20	21-30
Температура, °С	24,5	23,0	22,0	24,3	23,0	22,1	23,8	23,2	22,0
Влажность относительная, %	62,0	64,5	67,3	64,7	67,0	68,3	65,0	62	58,4
Воздухообмен, $м^3$•ч/кг	42,5	45,0	45,1	42,6	45,0	45,3	43,0	36,0	20,1
Концентрация кислорода, %	20,94	20,87	20,84	20,93	20,94	20,92	20,94	20,0	19,3
Аммиак, мг/$м^3$	14,2	14,7	15,2	13,8	14,7	15,0	14,0	14,5	13,6
Диоксид углерода, об %	0,20	0,23	0,25	0,18	0,21	0,23	0,21	0,20	0,20

Поросят содержали в указанных секциях в течение 30 сут. Они находились под постоянным клиническим наблюдением, но более детальное обследование проводили с интервалом 10 сут. В первый и последний день опыта у 10 животных из каждой группы отбирали пробы крови. Содержание в сыворотке крови холестерина, глюкозы, мочевины, кальция, неорганического фосфора, активность гамма-глутамилтрансферазы (ГГТФ), щелочной фосфатазы (ЩФ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) определяли на биохимическом анализаторе Hitachi-902 (Франция); пировиноградной кислоты (ПК) – энзиматическим UV-методом; молочной кислоты (МК) – по В.В. Меньшикову с соавт.; общего белка – рефрактометрическим методом [6, 7]. По содержанию «средних» молекул (ССМ) определяли наличие и степень выраженности синдрома эндогенной интоксикации [1], а гемостаз оценивали по времени свертывания крови (ВСК), содержанию продуктов деградации фибрина (ПДФ) и фибриногена [2, 4]. На атомно-абсорбционном спектрофотометре Perkin Elmer mod. 703 (США) определяли содержание меди и магния. Морфологические показатели крови изучали с помощью гематологического счетчика ABX Micros 60 CT/OT (Франция). Помимо этого рассчитывали средний объем эритроцитов (MCV), среднюю концентрацию (MCHC) и содержание (MCH) гемоглобина в них. При возникновении заболеваний устанавливали их этиологию, для чего в специализированных лабораториях проводили соответствующие бактериологические и вирусологические исследования. Показатели воздуха исследовали с помощью метиометра МЭС-200 и магнитного газоанализатора МН-5122-1, согласно наставлениям и инструкциям к приборам [3]. Математико-статистическую обработку полученных данных проводили с помощью прикладных программ Statistica v.6.1 и MS Office Excell 2007.

Результаты исследований и их обсуждение

Исследование крови показало, что в начале опыта не было достоверных межгрупповых различий в ее составе (табл. 2).

Через 30 сут оптимальные возрастные изменения отмечены у поросят 2-й группы: за указанный период увеличился уровень общего белка на 12,9%, молочной кислоты на 16,8%, пировиноградной кислоты на 10,3%, холестерина на 31,0%, фосфора на 20,0% и гемоглобина на 12,9%. В результате возросли концентрация (на 15,6%) и содержание (на 14,0%) гемоглобина в эритроцитах. Снижение уровня кислорода в воздухе на 0,57% (1-я группа) привело к активации эритропоэза с образованием более мелких и с меньшим содержанием гемоглобина эритроцитов, на что указывает повышение количества эритроцитов на 28,6%, но снижение уровня гемоглобина, MCV, MCH и MCHC соответственно на 20,8; 33,7 и 16,3%. При более выраженном дефиците кислорода (3-я группа) происходило угнетение синтеза гемоглобина и эритропоэза, о чем

Таблица 2

Биохимические показатели крови поросят опытных групп в первые и последние сутки опыта

Показатели	1-я группа		2 -я группа		3-я группа	
	Срок проведения исследования, сут					
	1-е	30-е	1-е	30-е	1-е	30-е
Эритроциты, 10^{12}/л	5,6±0,26	7,2±0,13[1,2]	5,7±0,14	5,6±0,08	5,5±0,31	4,0±0,15[1]
Гемоглобин, г/л	117,3±4,2	100,7±2,6[1,2]	109,8±5,0	124,0±3,4[1]	107,2±3,3	95,7±7,0
Гематокрит, %	36,5±1,20	37,3±0,86[2]	35,5±1,08	34,7±1,13	35,8±1,00	38,9±1,08[1]
MCHC, %	32,0±2,05	26,8±1,72[1,2]	30,7±1,80	35,5±2,00[1]	29,9±1,26	24,5±1,04[1]
MCH, пг/эр	20,8±0,97	13,8±1,11[1]	19,3±1,02	22,0±0,88[1]	19,5±0,74	24,0±0,79[1,2]
MCV, мкм^3	65,0±2,17	51,5±2,00[1,2]	62,3±1,75	62,0±1,24	65,1±1,47	97,2±2,15[1,2]
Белок общий, г/л	57,8±1,17	62,7±1,10[1,2]	58,0±0,89	65,5±1,05[1]	60,1±1,30	54,5±1,05[1,2]
Мочевина, мМ/л	5,47±1,41	6,2±1,04	5,2±0,63	5,0±1,83	4,7±1,2	7,7±1,50
Глюкоза, мМ/л	3,4±0,72	4,5±1,17	3,6±0,38	3,5±1,00	4,0±0,59	2,2±0,48[1,2]
МК, мМ/л	1,2±0,03	1,84±0,05[1,2]	1,07±0,03	1,25±0,08[1]	1,1±0,08	2,7±0,05[1,2]
ПК, мкМ/л	117,5±5,4	96,8±7,0[1]	100,3±8,0	110,6±6,1	104,4±4,9	79,0±3,1[1,2]
АлАТ, нМ/сл	140,0±7,4	195,3±5,3[1,2]	128,0±6,0	135,1±5,1	142,6±5,3	63,4±6,14[1,2]
АсАТ, нМ/сл	222,5±2,9	375,1±7,3[1,2]	200,0±4,2	209,3±5,0	198,0±5,3	148,4±3,0[1,2]
Холестерин, мМ/л	2,2±0,09	3,5±0,10[1,2]	2,0±0,15	2,62±0,08[1]	2,4±0,10	1,0±0,08[1,2]
ЩФ, нМ/сл	683,0±5,4	813,3±7,2[1,2]	620,5±7,1	668,2±5,5[1]	547,4±7,1	590,0±4,8[1,2]
ГГТФ, нМ/сл.	705,0±9,5	917,0±8,1[1,2]	658±10,2	740,0±5,3[1]	686,5±10,0	740,0±8,8[1,2]
Кальций, мМ/л	2,6±0,20	2,2±0,10[1,2]	2,8±0,15	3,0±0,11	2,8±0,10	1,94±0,17[2]
Фосфор, мМ/л	2,3±0,08	3,8±0,20[1,2]	2,0±0,06	2,4±0,17[1]	1,9±0,13	3,4±0,18[1]
Магний, мМ/л	1,2±0,03	0,7±0,08[1,2]	1,4±0,05	1,4±0,05	1,2±0,05	0,4±0,05[1,2]
Медь, мкМ/л	28,2±0,47	32,8±1,32[1]	30,0±0,72	34,5±2,0[1]	30,3±1,17	37,0±0,53[1,2]
ССМ, ед.	0,3±0,005	0,43±0,01[1,2]	0,31±0,01	0,32±0,01	0,28±0,01	0,56±0,01[1,2]
ПДФ, –/+	–	–	–	–	–	–
Фибриноген, г/л	4,3±0,24	5,0±0,27[1]	4,7±0,15	5,0±0,30	4,5±0,18	4,7±0,13
ВСК, мин	5,6±0,13	8,3±0,211,2	5,5±0,15	5,7±0,17	5,2±0,08	10,6±0,10[1,2]

Примечание. Различие достоверно [1] – между первыми и последними сутками опыта, [2] – на заключительном этапе опыта в сравнении с данными 2-й группы.

свидетельствует снижение количества эритроцитов на 27,3%, уровня гемоглобина на 10,7%, MCH на 23,1% и MCHC на 18,1%, но повышение гематокрита и MCV соответственно на 8,7 и 49,3%.

Гипоксия оказывала влияние на белковый обмен. Умеренный дефицит кислорода (1-я группа) обусловил активацию синтеза белка (на 8,5%) с соответствующим повышением содержания в крови мочевины (на 13,3%). Усиление выраженности гипоксии (3-я группа) привело к снижению содержания в крови общего белка на 9,3% и повышению уровня мочевины на 63,8%, что указывает на депрессию у поросят синтеза белка, активацию процессов мочевинообразования и нарушение ее выведения.

В ответ на снижение концентрации кислорода в воздухе на 0,57% в крови животных увеличилось содержание глюкозы на 32,4% и молочной кислоты на 53,3%, но уменьшилась концентрация пировиноградной кислоты на 17,6%. Усиление гипоксии (3-я группа) сопровождалось снижением уровня глюкозы на 45,0% и пирувата на 24,3%, но повышением содержания молочной кислоты в 2,45 раза. В результате у животных этих групп соотношение лактат/пируват оказалось на 68,1% (19,0±0,33) и в 3 раза (34,0±0,74) выше, чем у поросят из 2-й группы.

Таким образом, гипоксия оказывает влияние на углеводный обмен. Характер этого воздействия зависит от выраженности дефицита кислорода. При умеренной гипоксии происходила активация гликогенолиза и анаэробного гликолиза, но на фоне усиления дефицита кислорода наблюдались депрессия гликогенолиза, доминирование анаэробного пути метаболизма глюкозы и развитие молочнокислого ацидоза.

Повышение содержания в крови животных из 1-й группы холестерина (на 59,1%), активности ЩФ (на 19,1%) и ГГТФ (на 30,1%) дало основание предположить наличие у них синдрома холестаза и дискинезии желчных протоков, а гипер- и дисферментемия аминотрансфераз указывают на цитолиз гепатоцитов. В то время как у животных с более выраженным дефицитом кислорода снижение содержания белка, глюкозы, холестерина (на 58,3%), АлАт (на 55,5%) и АсАТ (на 25,1%), на фоне недостоверных изменений ЩФ и ГГТФ свидетельствовало о наличии у них гепатодепрессивного синдрома.

При снижении содержания в воздухе кислорода отмечали снижение уровней кальция и магния, но увеличение количества фосфора и меди; выраженность этих изменений возрастала с усилением гипоксии.

У поросят из 1-й и 3-й групп в течение опыта наблюдали увеличение времени свертывания крови соответственно на 48,3% и в 2,0 раза. При этом не были выявлены достоверные изменения уровня фибриногена и продуктов деградации фибрина. В контроле параметры гемостаза в период опыта не изменялись.

Интегральным ответом на изменения морфологического и биохимического профиля крови у поросят при снижении содержания кислорода в воздухе были возникновение синдрома эндогенной интоксикации и повышение уровня их заболеваемости. На наличие первого указывало увеличение содержания в крови ССМ в 1-й группе на 43,3% и 3-й группе – в 2 раза. В течение опыта во всех сопоставимых группах отмечали респираторный синдром, в возникновении которого активное участие принимали *Actinobacillus pleuropneumoniae, Mycoplasma hyopneumniae, Pasteurella multocida,* а также *Hemophilus parasuis*, вирусы репродуктивно-респираторного синдрома (РРСС) и цирковирусной инфекции свиней (ЦВИС). В 1-й группе заболеваемость в течение I декады опыта составляла 1,1% (летальность – 0%), II – 6,5% (0,36%) и III декады – 10% (2,55%), во 2-й группе – 1,27% (0%); 2,18% (0,18%) и 3,45% (0,55%), в 3-й группе – 1,1% (0,18%); 14,5% (3,1%) и 37,1% (10,55%) соответственно.

Заключение

Содержание кислорода в воздухе помещений оказывает существенное влияние на состояние здоровья свиней. Сни-

жение концентрации кислорода в воздухе на 0,57% приводит к развитию компенсаторного эритроцитоза и микроцитарной анемии. Помимо этого формируется гипоксический профиль метаболизма, появляются признаки эндогенной интоксикации и симптомы функциональной нагрузки на печень. При снижении уровня кислорода в воздухе на 7,7% появляются признаки синдромов гепатодепрессии, эндогенной интоксикации и тканевой гипоксии, а также макроцитарной, а у некоторых животных мегацитарной, анемии. Помимо этого наблюдается дефицит факторов свертывания крови, участвующих во внутреннем пути образования протромбиназы. На фоне гипоксии повышается заболеваемость животных респираторными болезнями. Так, снижение концентрации кислорода на 0,57% привело к увеличению числа больных в 1,9 раза, а при дефиците 7,7% – в 10,7 раза. С усилением гипоксии также усиливается тяжесть течения этих болезней и повышается летальность.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Алехин Ю. Н.* Эндогенные интоксикации у животных и их диагностика: методические рекомендации. – Воронеж, 2000.
2. *Алехин Ю. Н., Куркин С. В*. Методические рекомендации по оценке функционального состояния фибринолитической системы крови. – Воронеж, 2007.
3. *Аманназаров А. А., Шарнопольский А. И.* Методы и приборы для определения кислорода. – М.: Химия, 1988.
4. *Балуда В. П., Баркаган З. С., Гольдберг Е. Д. и др*. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, 1980.
5. *Гельвиг Э.-Г*. Заболевания свиней. – М.: Астрель, АСТ, 2003.
6. *Кондрахин И. П., Архипов А. В., Левченко В. И. и др*. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник. – М.: КолосС, 2004.
7. *Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др*. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. – М.: Медицина, 1987.
8. *Пейсак З.* Защита здоровья свиней. – Брест: Полиграфика, 2012.
9. *Свинарёв И. Ю*. Сравнительная характеристика современных систем вентиляции в свиноводстве //Зоотехния.–2009. –№1 .– С. 24–26.

Сведения об авторах: *Алехин Юрий Николаевич*, д-р вет. наук, зав. лабораторией, тел. 8-905-654-88-03, E-mail: exterapi@yandex.ru; *Шабунин Сергей Викторович*, академик РАСХН, директор института; *Курило Николай Фёдорович*, канд. вет. наук, заслуженный ветеринарный врач Украины; *Галкин Анатолий Викторович*, врач-консультант.

EFFECT OF OXYGEN LEVEL IN AMBIENT AIR ONTO THE HEALTH OF THE PIGS

S. V. Shabunin, Yu. N. Alekhin, N. F. Kurilo, A. V.Galkin

The effect of oxygen level in ambient air onto the health of the pigs in age of 40…75 days was studied. Reducing the oxygen concentration in air by 0,57% resulted in a development of compensatory erythrocytosis and microcytic anemia and increasing an incidence of respiratory diseases in 1,9 times. In case of decreasing oxygen level by 0,57% the sings of hepatodepressive syndromes were noted as well as endogenous intoxication and tissue hypoxia and macrocytic or megacytic anemia. Moreover, the deficiency of clotting factors involving in the internal path way of prothrombin's producing.

This, a morbidity of the animals with respiratory disease was shown to increase by 10,7 times as well as the severity of their course.

Key words: pigs, microclimate, oxygen metabolism, respiratory diseases.

УДК 614.9: 614.777

КАЧЕСТВО ВОДЫ В РЯДЕ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Д. Ю. Нохрин, Ю. Г. Грибовский, Н. А. Давыдова
Уральский филиал ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии, г. Челябинск

В пробах воды на территории животноводческих хозяйств Увельского района Челябинской области изучен химический состав по 23 показателям. Требованиям санитарных нормативов соответствовали 62,5% проб. Несоответствие чаще всего (37,5%) регистрировали по концентрации в воде нитратов.

Ключевые слова: вода, химический состав, санитарные требования.

Введение

Для Уральского региона характерен высокий природный геохимический фон содержания металлов в объектах окружающей среды, а также повышенная техногенная нагрузка по металлсодержащим токсикантам в местах добычи полезных ископаемых, их переработки и складирования отходов производства. Поэтому выявление путей поступления металлов, а также поиск способов снижения их отрицательного воздействия на организм сельскохозяйственных животных остается актуальным.

Традиционно о величине микроэлементной нагрузки на объекты животноводства судят по содержанию микроэлементов и тяжелых металлов либо в кормах, либо непосредственно в организме животных и сельскохозяйственной продукции (молоко, мясо). Вместе с тем, питьевой источник поступления микроэлементов в организм остается менее изученным. Согласно Закону Российской Федерации от 14.05.1993 года № 4979-1 «О ветеринарии» качество воды в животноводческих хозяйствах регламентируется Федеральным законом «Об охране окружающей среды» и, следовательно, СанПиН 2.1.4.1175-02 «Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников». При этом перечень контролируемых показателей качества воды может быть расширен Государственным санитарным врачом по соответствующей территории в зависимости от местных природных условий.

Цель данной работы заключалась в оценке качества воды в водоисточниках на территории ряда животноводческих хозяйств Челябинской области по химическим показателям, а также решении вопроса о рациональности включения в перечень контролируемых показателей тяжелых металлов и других токсикантов.

Материалы и методы

Отбор проб воды проводили весной и летом 2011 г. на территории Увельского района Челябинской области, где расположены 16 крупных животноводческих хозяйств крупного рогатого скота мясного и молочного направлений. Пробы отбирали из скважин и колодцев на территории ферм и населенных пунктов, а также из открытых водоемов, используемых животными для водопоя.

Анализ содержания в воде главных ионов (Cl^-, SO_4^{2-}, K^+, Na^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}), соединений азота и фосфора (NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-, HPO_4^{2-}), а также ионов F^-, Li^+, Sr^{2+} и Ba^{2+} проводили методом капиллярного электрофореза на системе «Капель 103-Р» (НПФ АП «Люмэкс», Россия, Санкт-Петербург) согласно методикам, допущенным для целей государственного экологического контроля [2, 3]. Сбор

данных, анализ полученных электрофореграмм и расчеты по калибровочным кривым выполнены в пакете для сбора и обработки хроматографических данных МультиХром для Windows (версия 1.52u, ЗАО «Амперсенд»). В качестве градуировочных растворов использовали смеси ГСО ионов, приближенные по соотношению ионов к составу питьевой воды г. Челябинска. Подготовка проб воды для определения Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb проводилась методом сухой минерализации без предварительной фильтрации согласно инструкции [1], а анализ – на атомно-абсорбционном спектрофотометре AAS-1 (Karl Zeiss Jena, Германия) в пламени ацетилен-воздух или пропан-воздух. В качестве градуировочных растворов использовали смеси ГСО отдельных ионов или их наборов (РМ-2 и РМ-3). Всего были определены 26 показателей химического состава.

Всего было изучено 16 проб воды по 23 химическим показателям. В ходе анализа полученных данных использовали методы описательной статистики и средства визуализации гидрохимических данных. При оценке соответствия качества воды нормативам руководствовались СанПиН 2.1.4.1175-02 и ГН 2.1.5.1315-03.

Результаты исследований и обсуждение

Классификация вод по химическому составу. По соотношению эквивалентных концентраций главных ионов в изученных пробах преобладали гидрокарбонатные воды, к которым относилось 14 (87,5%) проб: 6 (37,5%) гидрокарбонатно-кальциевых, 6 (37,5%) гидрокарбонатно-натриевых и 2 (12,5%) гидрокарбонатно-магниевых. В двух образцах (12,5%) вода была хлоридного типа: 1 хлоридно-магниевая и 1 хлоридно-натриевая. Последние отчетливо видны на диаграмме Дурова (рис. 1), где в верхнем треугольнике анионов они располагаются наиболее близко к левому нижнему углу вод хлоридного типа.

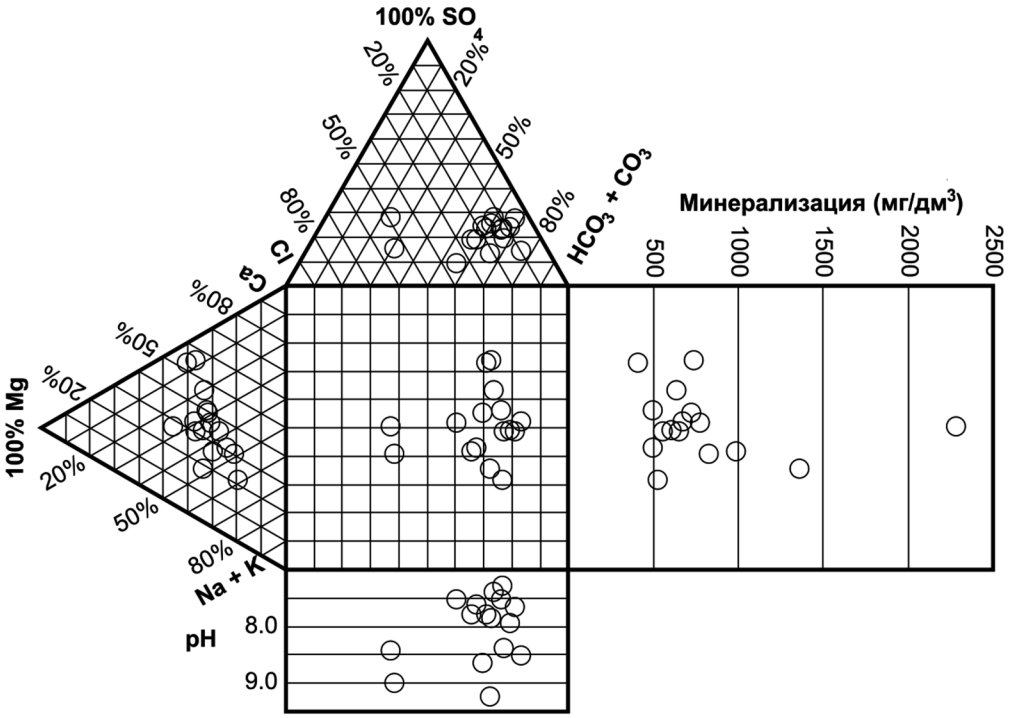

Рис. 1. Химический состав воды 16 водоисточников для поения сельскохозяйственных животных на территории Увельского района Челябинской области

В 14 (87,5%) пробах вода была пресной, в 2 – солоноватой. Минерализация большинства (13 проб, 81,3%) проб находилась в пределах от 500 до 1000 мг/л, что приблизительно в 2...3 раза выше, чем средняя минерализация вод централизованного водоснабжения в Челябинской области, но не превышает санитарного порога.

Соответствие нормативам. Как видно из данных, представленных в таблице, в хозяйствах Увельского района Челябинской области по большинству показателей ситуация благополучная. Наиболее проблемным показателем состава воды оказались нитраты, содержание которых превышало норматив в 37,5% проб. В 3 пробах с повышенной минерализацией воды был превышен показатель жесткости. В целом, СанПиН 2.1.4.1175-02 по всем изученным показателям соответствовали 62,5% проб.

Для решения вопроса о рациональности расширения списка контролируемых показателей полученные данные были сопоставлены также с нормативами ГН 2.1.5.1315-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования». Соответствующая информация представлена во второй колонке таблицы. Видно, что в этом случае ситуация ухудшилась, но не принципиально. Однако появились превышения по железу и свинцу.

Абсолютная (относительная) частота проб с превышением санитарных нормативов в водоисточниках на территории животноводческих хозяйств Увельского района Челябинской области в 2011 г.

№ п/п	Показатель	По СанПиН 2.1.4.1175-02	По ГН 2.1.5.1315-03
1	2	3	4
Общие			
1	Водородный показатель	1 (6,3%)	1 (6,3%)
2	Жесткость общая	3 (18,8%)	3 (18,8%)
3	Минерализация	2 (12,5%)	3 (18,8%)
Главные ионы			
4	Хлориды	1 (6,3%)	1 (6,3%)
5	Сульфаты	0	0
6	Натрий	–	2 (12,5%)
7	Магний	–	3 (18,8%)
Биогенное и органическое вещество			
8	Аммоний	–	1 (6,3%)
9	Нитриты	–	0
10	Нитраты	6 (37,5%)	6 (37,5%)
11	Окисляемость	0	0
Микроэлементы и тяжелые металлы			
12	Литий	–	0
13	Фтор	–	1 (6,3%)
14	Хром	–	0
15	Марганец	–	0
16	Железо	–	4 (25,0%)
17	Кобальт	–	0
18	Никель	–	0

1	2	3	4
19	Медь	–	0
20	Цинк	–	0
21	Стронций	–	0
22	Кадмий	–	0
23	Свинец	–	3 (18,75%)

Примечание. «–» не нормируется, 0 – нормируется, но превышений нет.

Ранее нами было показано, что данные элементы, наряду с никелем, входят в паттерн поллютантов Южноуральской ГРЭС, работающей на сжигании газа и высокозольных углей Челябинского угольного бассейна [4] Превышения санитарных норм по данным элементам неоднократно обнаруживали в сельскохозяйственной продукции, получаемой на территории Увельского района [5]. Поэтому считаем целесообразным в дальнейших исследованиях наиболее пристальное внимание уделить именно железу и свинцу, и в случае сохранения текущей ситуации рекомендовать данные элементы к включению в список дополнительных элементов, подлежащих контролю на территории Увельского района Челябинской области.

Выводы

1. На территории хозяйств Увельского района Челябинской области изучен химический состав проб воды из источников, используемых для поения сельскохозяйственных животных. Установлено, что требованиям санитарных нормативов СанПиН 2.1.4.1175-02 соответствовало 62,5% проб, а несоответствие чаще всего (37,5%) регистрировали по содержанию в воде нитратов.

2. Из показателей, не включенных в обязательный список СанПиН 2.1.4.1175-02, нормативы ГН 2.1.5.1315-03 чаще всего превышены по железу и свинцу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атомно-абсорбционные методы определения токсичных элементов в пищевых продуктах и пищевом сырье / Утв. гл. сан. врачом Российской Федерации. № 01-19/47-11 от 25.12.92. Препринт, 27 с.
2. Методика выполнения измерения массовой концентрации катионов цезия, калия, натрия, лития, магния, кальция, стронция и бария в пробах природных, питьевых и сточных вод и катионов аммония в пробах сточных вод с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель» М 01-31-99. – СПб: ООО «Люмэкс», 1999. – 34 с.
3. Методика выполнения измерения массовых концентраций хлорид-ионов, нитрит-ионов, сульфат-ионов, нитрат-ионов, фторид-ионов и фосфат-ионов в пробах природной, питьевой и сточной вод с применением системы капиллярного электрофореза «Капель» ПНД Ф 14.1:2:4.157-99. – М.: Государственный комитет по охране окружающей среды, 1999. – 34 с.
4. *Сокол Э. В., Нохрин Д. Ю., Нигматулина Е. Н., Грибовский Ю. Г.* Экогеохимическое состояние водохранилища Южноуральской ГРЭС // Водные ресурсы. – 2008. – 35, № 6. – С. 715–729.
5. *Шакирова С. С*. Содержание тяжелых металлов в зоне выбросов Южно-Уральской ГРЭС и ветеринарно-санитарная экспертиза молока: Автореф. дис. канд. вет. наук. – Троицк: УГИВМ, 1998. – 22 с.

Сведения об авторах: *Нохрин Денис Юрьевич*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр, nokhrin8@mail.ru, тел.: (351)7224858; *Грибовский Юрий Геннадьевич*, д-р вет. наук, директор Уральского филиала ВНИИВСГЭ; *Давыдова Наталья Алексеевна*, мл. науч. сотр., соискатель.

WATER QUALITY AT SEVERAL ANIMAL RAISING FARMS IN CHELYABINSK REGION

D. Yu. Nokhrin, Yu. G. Gribovsky, N. A. Davydova

The chemical composition of water samples from animal raising farms in Uvelsky district of Chelyabinsk region was studied according to 23 indicators. 62,5% of the samples were found to satisfy the requirements of sanitary standards. The most frequent discrepancy (37,5%) was registered for nitrates concentration in water.

Key words: water, chemical composition, sanitary requirements.

УДК 619:616 - 099

Токсикологическое и санитарное значение тяжелых металлов

В. И. Дорожкин, М. Ю. Кроль
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

В статье представлены наиболее перспективные пути решения проблемы загрязнения окружающей среды эктотоксикантами, в том числе тяжелыми металлами.

Ключевые слова: экология, загрязнения, тяжелые металлы.

В настоящее время большое внимание уделяется проблемам охраны окружающей среды, кормов и продуктов питания от загрязнений различными опасными химическими веществами антропогенного и естественного происхождения [14]. Особая роль в этих процессах отводится тяжелым металлам, из которых наибольшее токсикологическое и санитарное значение имеют ртуть, кадмий, свинец. В отличие от органических соединений токсичные элементы не разрушаются в почве и воде, а лишь переходят из одного соединения в другое.

Первоначальным источником поступления тяжелых металлов в окружающую среду являются их природные месторождения. Еще в середине прошлого века В. И. Вернадским, а затем В. В. Ковальским было не только изучено содержание элементов в различных регионах страны, но и создано глубокое теоретическое учение о биогеохимических провинциях. Выявлены эндемические заболевания сельскохозяйственных животных, предложены методы лечения [4].

Однако научно-технический прогресс и развитие промышленного производства сопровождаются ростом объемов и расширением спектра экотоксикантов. Хозяйственная деятельность человека, в первую очередь горнодобывающая промышленность, металлургия, энергетика, химическое производство, транспорт, приводит к нарастанию антропогенного загрязнения окружающей среды, которое все чаще приобретает характер комбинированного загрязнения токсичными веществами разных групп [7].

Особо стоит обратить внимание на лавинообразное увеличение количества автотранспорта, происходящее в последние годы. Так, в Стерлитомаке, при анализе удельной доли в загрязнении атмосферы, выбросы автомобильного транспорта в 2009 г. вышли на первое место (42%), опередив загрязнения отходами химической промышленности (40%). Это при том, что производство каустической соды и аммиака в городе осуществляют методом электролиза на ртутных катализаторах. Следует отметить, что потери за счет испарения ртути исчисляются десятками тонн. Так, в 1987 г. они составляли 65 тонн. [1]. Особенно сильна нагрузка выхлопных газов, содержащих высокотоксичные кадмий и свинец, на атмосферу крупных городов.

Их атмосферы, воды и почвы неразрушаемые атомы тяжелых металлов поступают в трофические цепи: растения – корма – животные – продукция животноводства – человек. Эти процессы осложняются одним общим важным свойством металлов – способностью длительно задерживаться в организме. При многократном поступлении даже в небольших дозах токсичные элементы проявляются как яды кумулятивного действия, приводя к хроническим интоксикациям [15].

Несмотря на всю серьезность проблемы было бы ошибочно считать, что санитарно-гигиенические вопросы оздо-

ровления окружающей среды в отношении металлов и их соединений не могут быть успешно разрешены. Необходимы дальнейшие исследования по разработке научно обоснованных рекомендаций и нормативов содержания токсичных элементов во всех природных средах, включая воду, почву, растительные корма, а также создание технологий по производству безвредных кормов, предотвращению контаминации продуктов животноводства и профилактике отравлений животных тяжелыми металлами.

Первым звеном пищевой цепи в животноводстве является почва. Так как уничтожить атомы металлов невозможно, основные усилия следует направлять на снижение содержания подвижных форм элементов. В среднем соотношение подвижных форм к валовому содержанию металлов оценивается как 1 : 10. Рекомендуются следующие мероприятия:

- известкование кислых почв, снижающее растворимость солей металлов;
- внесение в более высоких дозах удобрений с целью повысить урожайность, что обычно сопровождается уменьшением содержания металла на килограмм корма;
- внесение в почву специфических комплексантов и сорбентов, связывающих определенные металлы;
- посев растений, плохо усваивающих тяжелые металлы;
- посев культур – концентраторов металлов с ограничениями по их использованию.

Однако следует учитывать, что присутствие связанных элементов – резерв для постоянного образования подвижных форм под влиянием как изменений условий внешней среды (кислотные дожди), так и самих автотрофов [2]. Поэтому необходим постоянный контроль за уровнем элементов в кормах.

Далее одним из важнейших аспектов при разработке средств и методов профилактики интоксикации сельскохозяйственных животных токсичными элементами является подбор протекторов, снижающих накопление тяжелых металлов в организме, что благотворно сказывается как на здоровье животных, так и на санитарном качестве полученной продукции.

Успешное и эффективное решение этой задачи возможно лишь на основе глубокого понимания механизмов биологического действия на организм как токсичных веществ, так и протекторных средств, и их взаимодействия, что требует проведения фундаментальных исследований. Лаборатория токсикологии и санитарии кормов ВНИИВСГЭ располагает высококвалифицированными специалистами и оснащена современным, высокочувствительным и точным оборудованием, таким как: градиентная система Бриз Waters ВЖХ с УФ-детектором, хромато-масс-спектрометрическая система Agilent CA-620, атомно-абсорбционный спектрометр AA240 FS VARIAN, анализатор биохимический STAT-FAX 3300, анализатор гематологический CA-620 BAZDER.

Сотрудниками лаборатории токсикологии и санитарии кормов были разработаны:

- Методические рекомендации по профилактике, диагностике и антидототерапии хронических интоксикаций сельскохозяйственных животных и птицы ртутью, кадмием и свинцом (утверждены РАСХН 09.11. 2005 г.);
- Методическое пособие по снижению токсического действия кадмия и свинца на организм сельскохозяйственных животных (утверждены РАСХН 25.10.2010 г.).

В этих документах предложено и научно обосновано [3, 5] применение эффективных протекторных средств (элементарная сера, цеолиты, комплексы микроэлементов и др.), существенно снижающих как материальную кумуляцию, так и токсический эффект тяжелых металлов на организм животных.

В настоящее время наиболее перспективным и актуальным направлением дальнейшей работы представляется из-

учение комбинированного антропогенного загрязнения окружающей среды токсичными веществами разных групп. Сотрудники лаборатории радиобиологии ВНИИВСГЭ изучают совместное действие тяжелых металлов и радионуклидов, разрабатывают рецептуры сорбентов и биологически активных веществ, снижающих их токсическое действие [11,12]. Сотрудники Федерального центра токсикологической и радиационной безопасности животных исследуют влияние сорбентов на комбинацию свинца, кадмия и Т-2-токсина [10]. В лаборатории токсикологии и санитарии кормов проводится изучение действия комплекса экотоксикантов, включающего тяжелые металлы, пестициды (гербициды и инсектициды), а также нитраты и нитриты согласно Государственной тематике «Разработать научно обоснованное методическое пособие по снижению воздействия экотоксикантов на организм животных».

Как правило, при изучении многофакторного воздействия, состоящего их двух и более компонентов, достаточно сложно оценить влияние каждого из элементов на происходящие в организме процессы. Для повышения информативности полученных экспериментальных данных необходимо использовать более современные математические модели.

Так, сотрудники Уральского филиала ВНИИВСГЭ для выявления закономерностей распределения металлов в объектах мониторинга применили многомерный анализ избыточности. Данная техника относится группе методов прямого градиентного анализа, сочетая в себе регрессионный анализ и анализ главных компонент, что позволило определить связанные группы показателей [9].

Ученые лаборатории радиобиологии для нормирования в кормах тяжелых металлов и радионуклидов в качестве достоверного критерия предложили предел суточного поступления, который рассчитывается с учетом допустимых уровней содержания элементов в критическом для них органе и кратности накопления или коэффициента перехода каждого из компонентов [13].

Таким образом, дальнейшая работа по изучению комбинированного действия экотоксикантов различных групп является перспективной в фундаментально-научном отношении, а также имеет практическую ценность для сельского хозяйства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды Республики Башкортостан в 2009 году»// www. mprrb/ru.
2. *Грибовский Г. И.* Ветеринарно-санитарная оценка основных загрязнителей окружающей среды на Южном Урале. – Челябинск, 1996.
3. *Дорожкин В. И., Павленко Г. И., Кроль М. Ю.* Результаты исследований взаимодействия кадмия и цинка при их одновременном поступлении с кормом // Материалы I Съезда фармакологов России. – Воронеж, 2007. – С. 253–258.
4. *Ковальский В. В.* Биогеохимические провинции и эндемии сельскохозяйственных животных // Вестник сельскохозяйственной науки. –1958. – С. 50–62.
5. *Кроль М. Ю.* Действие протекторных средств на кумуляцию свинца и кадмия в организме кур при их совместном поступлении с кормом. // Материалы I Съезда фармакологов России. – Воронеж, 2007. – С. 370–374.
6. Комплексный доклад о состоянии окружающей среды Челябинской области в 2005 г. – Челябинск: ОАО «Челябинский дом печати», 2006. – С. 224.
7. *Лисукова Л., Токарев В., Константинова Н.* Аккумуляция кадмия в мясе бройлеров // Комбикорма. – 2011. – № 1.
8. *Мирзоев Э. Б.* Воздействие техногенных факторов на сельскохозяйственных животных при ведении животноводства в экологически неблагополучных регионах // Сельскохозяйственная биология. – 2007. – № 2. – С. 73–78.

9. *Нохрин Д. Ю., Грибовский Ю. Г., Давыдова Н. А*. Использование необъяснимой изменчивости химического состава организмов для идентификации ксенобиотиков в экологических исследованиях // Экология. – 2011. – № 4. – С. 369–375.
10. *Папуниди К. Х., Буланкова С. Р., Бикташев Р. У., Софронова С. А.* Сорбционные характеристики высокодисперсных адсорбентов в отношении кадмия, свинца и Т-2-токсина // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2012. – № 1(7). – С. 97–99.
11. *Рубченков П. Н., Захарова Л. Л., Жоров Г. А., Обрывин В. Н*. Эффективность комплексного применения сорбентов и биологически активных веществ // Материалы III Съезда фармакологов и токсикологов России. – СПб., 2011. – С. 388–390.
12. *Рубченков П. Н. , Захарова Л. Л., Жоров Г. А.* Применение сорбционно-детоксикационных технологий при ведении животноводства // Ветеринария. – 2012. – № 2. – С. 46–48.
13. *Рубченков П. Н., Захарова Л. Л., Жоров Г. А.* Нормирование содержания радионуклидов и тяжелых металлов в кормах // Веткорм. – 2013. – № 3.
14. *Смирнов А. М., Дорожкин В. И., Рубченков П. Н*. Актуальные вопросы ветеринарно-санитарных мероприятий на территориях, загрязненных экотоксикантами // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2010. – № 2. – С. 7–13.
15. *Таланов Г. А., Хмелевский Б. Н*. Санитария кормов. – М.: ВО «Агропромиздат», 1991.

Сведения об авторах: *Дорожкин Василий Иванович*, чл.-корр. РАН; *Кроль М. Ю*., e-mail: tox.dor@mail.ru

TOXICOLOGICAL AND SANITARY SIGNIFICANCE OF HEAVY METALS

V. I. Dorozhkin, M. Yu. Krol

The most perspective trends in solution of a problem on contamination of the environment with ecotoxicants including the heavy metals are presented in the paper.

Key words: ecology, contamination, heavy metals.

УДК: 619:614-636.085

Биопротекторная роль серосодержащих соединений и перспективы применения натрия тиосульфата как полифункционального препарата

Г. А. Жоров, П. Н. Рубченков, Л. Л. Захарова
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

Рассмотрены роль содержащих серу соединений как компонента антиоксидантной защиты организма и перспективы применения натрия тиосульфата в качестве полифункционального биопротекторного препарата.

Ключевые слова: активные радикалы, тяжелые металлы, антиоксиданты, тиоловые соединения, натрия тиосульфат.

Введение

В условиях нарастающего техногенного загрязнения окружающей среды экотоксикантами, в частности радиоактивными веществами и тяжелыми металлами, все более актуальной становится проблема их сочетанного поступления в организм и влияния на биологические процессы, а также разработка средств и методов защиты человека и животных.

Одним из аспектов этой темы является роль прооксидантно-антиоксидантной системы как в физиологических процессах, так и при развитии различных патологий, в том числе и при воздействии токсичных веществ и ионизирующих излучений. Сегодня появляется все большее число работ, посвященных изучению механизмов реализации антиоксидантной защиты организма, биологической роли свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов и протеинов, а также оценке значения тиоловых соединений в поддержании антиоксидантной резистентности.

Обмен веществ осуществляется с помощью окислительно-восстановительных реакций, при этом процессы катаболизма и анаболизма находятся в динамическом равновесии, обеспечивая физиологическое постоянство в организме. В регуляции биохимических процессов окисления и восстановления участвует прооксидантно-антиоксидантная система, включающая как ее ферментативные (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, каталаза и др.), так и низкомолекулярные компоненты, такие как витамины (ретинол, токоферолы, аскорбиновая кислота и др.), биофлавоноиды. При этом важнейшую роль в регулировании окислительно-восстановительных процессов играют эндогенные тиолы – биологически активные соединения, содержащие сульфгидрильные (SH-, тиоловые или меркато-) группы (металлотионеины, глутатион, цистеин, эрготионеин, липоевая кислота).

Согласно современным данным соединения, в составе которых присутствуют сульфгидрильные группы, выполняют важнейшие функции в физиологических и биохимических процессах: деление клеток, окислительное фосфорилирование, перекисное окисление, фотосинтез, радиационное поражение, мышечное сокращение, нервная деятельность; они входят в состав активных центров гормонов, ферментов, рецепторов [9].

Тиоловые соединения защищают функциональные группы биологических молекул и клеточных мембран от воздействия активных кислородных радикалов, а также образуют комплексные соединения с металлами как в физиологических процессах переноса металлов, так и при нейтрализации токсикантов. Низкомолекулярные белки металлотионеины за счет наличия тиоловых групп остатков цистеина, которые составляют

около 30% всех аминокислот, способны связывать как физиологические металлы (цинк, медь), так и ксенобиотики (кадмий, ртуть, свинец, мышьяк и др.), действующие как «тиоловые яды».

Различные патологические процессы приводят к нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия и связанному с этим оксидативному стрессу, так как тиолдисульфидная система реагирует на воздействия внутреннего или внешнего характера изменением окислительно-восстановительного состояния [8].

Под действием тяжелых металлов и других тиоловых ядов, а также ионизирующих излучений, тиоловые группы как высоко реакционноспособные соединения служат мишенями для этих патогенов, что приводит к блокаде SH-групп посредством образования меркаптидов или формирования дисульфидных (-S-S-) связей. При восстановлении дисульфидных связей происходит регенерация тиоловых групп, что обеспечивает сохранение антиоксидантного гомеостаза [7].

При воздействии ионизирующих излучений образование свободных радикалов играет роль пускового механизма в развитии лучевой патологии, при этом также наблюдается смещение тиолдисульфидного равновесия в сторону увеличения концентрации окисленных форм.

Помимо прямого действия радиации, в организме происходит образование избытка свободных радикалов – продуктов перекисного окисления липидов, которые представляют собой высокореакционные молекулы, несущие неспаренный электрон, и обладают мощной окисляющей активностью. Свободные радикалы, вступая в соединение с молекулярным кислородом, образуют ряд высокоактивных продуктов свободнорадикального окисления – фенольных (хиноидных) и липидных радиотоксинов. Эти вещества реагируют с молекулами ДНК, воздействуют на мембраны и другие клеточные структуры, изменяя течение ферментативных реакций и образуя новые свободные радикалы. Развитие этого процесса, подобного цепной реакции, может быть прервано взаимодействием радиотоксина с молекулой радиопротектора, в результате чего образуется радикал антиоксиданта, не способный к продолжению цепи.

В настоящее время также все большее значение отводится биологической роли свободнорадикального окисления белков. Окислительной модификации могут подвергаться практически все аминокислотные остатки, что приводит к нарушениям структурной организации белков и блокированию их функций [1].

Таким образом, нарушение тиолдисульфидного равновесия, т.е. нормального соотношения восстановленных и окисленных форм тиоловых соединений, в сторону увеличения содержания окисленных форм тиоловых соединений свидетельствует о неэффективности или истощении антиоксидантной защиты, развитии окислительного стресса, снижении общей резистентности организма и может служить неблагоприятным прогностическим признаком в течение патологического процесса.

В случае введения в клетку дополнительных тиоловых групп они берут на себя роль мишеней для воздействия радикалов, что ведет к подавлению реакций, вызванных действием ионизирующих излучений, или восстановлению активности SH-групп биологических молекул в случае воздействия тиоловых токсинов.

Исследования Э. Я. Граевского с соавт. [4] выявили достоверную связь между содержанием в тканях тиолов и радиочувствительностью. Согласно его теории эндогенного фона радиорезистентности и роли тиоловых соединений в общей резистентности и радиорезистентности организма, большинство радиопротекторов вызывают в клетках увеличение количества эндогенных тиоловых соединений; их максимальное содержание в клетке соответствует максимуму радиоустойчивости.

В медицинской и ветеринарной практике в качестве антидотов широко применяют препараты, содержащие серу и

ее соединения, в частности унитиол, оксатиол, ацетилцистеин, эффективность которых обеспечивается наличием в молекуле одной или двух активных сульфгидрильных групп. Помимо детоксицирующих свойств, тиоловые и близкие к ним соединения проявляют антиоксидантные свойства, также обусловленные присутствием сульфгидрильных групп, что позволило использовать их в качестве эффективных радиозащитных средств (радиопротекторов).

Механизм антиоксидантного действия радиопротекторов состоит в снижении внутриклеточной и внутритканевой активности свободных радикалов или увеличении содержания эндогенных тиолов, что сопровождается уменьшением окислительно-восстановительного потенциала. На этом основано действие таких содержащих серу радиопротекторов, как цистамин, меркаптопропиламин, аминоэтилизотиуроний, глутатион, цистеин, ацетилцистеин. Кроме того, комплексообразующие свойства тиоловых соединений (унитиол, оксатиол, пеницилламин, сукцимер) позволили применять их в качестве препаратов для выведения не только ионов тяжелых металлов, но и радиоактивных веществ (полоний-210), как инкорпорированных в организме, так и при наружном контактном загрязнении поверхности кожи [5].

Среди содержащих серу веществ натрия тиосульфат (гипосульфит), хотя и не имеющий в химической формуле тиоловой группы, представляет собой один из наиболее эффективных, доступных и безопасных препаратов. Натрия тиосульфат способен взаимодействовать с целым рядом ядовитых веществ, образуя нетоксичные или малотоксичные соединения, что обеспечивает его свойства как антидота; эффективен в отношении ртути, свинца и других тяжелых металлов и их соединений, синильной кислоты, йода, брома, фенола, бензола, анилина, некоторых отравляющих веществ.

Разносторонние биопротекторные, включая детоксицирующие, противовоспалительные, антиоксидантные, десенсибилизирующие, противопаразитарные, свойства натрия тиосульфата, а также крайне низкая токсичность, обусловили возможность его применения в самых разных направлениях медицины и ветеринарии. Например, он показан при комплексной терапии пневмонии и туберкулеза в качестве антиоксиданта и для предупреждения и устранения побочного аллергенного действия противотуберкулезных препаратов. Имеются данные об эффективности натрия тиосульфата как средства, задерживающего развитие кальцификации венечных артерий сердца, при лечении пеллагры, псориаза, шизофрении и алкоголизма; препарат назначают в гинекологической практике; для детоксикации и десенсибилизации организма при укусах змей. Под индексом Е-539 натрия тиосульфат используют в пищевой промышленности в качестве комплексообразователя и антиокислителя. В сельском хозяйстве предложено применять препарат для обезвреживания кормов, контаминированных ртутью, свинцом и другими тяжелыми металлами, микотоксинами, нитратами. При совместном применении вакцинных антигенов и натрия тиосульфата в качестве иммуностимулятора у животных ускоряется развитие иммунного ответа и снижаются реактогенные свойства вакцин. Препарат способствует повышению продуктивности животных [2 – 4].

Материалы, методы и результаты исследований

В лаборатории радиобиологии ГНУ ВНИИВСГЭ (2010-2013 гг.) была разработана рецептура и изучена эффективность биологически активного сорбирующего комплекса, включающего сорбенты, детоксицирующие соединения и биологически активные вещества, в целях снижения сочетанного поступления радионуклидов и тяжелых металлов с кормом в органы и ткани и коррекции иммунного статуса животных. В качестве детоксиканта в отношении тяжелых металлов (кадмий, свинец и цинк) в рецептуру был включен натрия тиосульфат.

Результаты лабораторных исследований с использованием кроликов показали, что применение биологически активного сорбирующего комплекса является эффективным способом снижения поступления экотоксикантов в животноводческую продукцию.

С целью изучить влияние сорбирующего комплекса на содержание тиоловых групп как одного из важнейших показателей антиоксидантной резистентности организма нами было определено содержание сульфгидрильных групп в сыворотке крови (при участии ведущего научного сотрудника лаборатории токсикологии и санитарии кормов канд. биол. наук Г. И. Павленко) по методике Ф. И. Фоломеева [10]. Метод определения основан на эквивалентном взаимодействии молекулярного йода со свободными SH-группами белков и низкомолекулярных соединений в присутствии 1 М раствора KI и фосфатного буфера с pH=7,6 при температуре 20°С. О количестве йода, прореагировавшего с SH-группами, судили по результатам сравнения опытной и контрольной проб на фотоэлектроколориметре.

Анализ полученных результатов показал, что количество общих SH-групп статистически достоверно увеличивалось в группах кроликов, которые получали разные варианты биологически активного сорбирующего комплекса, включающего натрия тиосульфат, по сравнению с животными контрольных групп. Одновременно наблюдали снижение содержания тиоловых групп относительно контроля у животных, которые получали экотоксикатны без применения биологически активного сорбирующего комплекса.

Заключение

Учитывая важную роль содержащих серу соединений в процессах антиоксидантной защиты, натрия тиосульфат следует рассматривать не только как антитоксический препарат, но и как средство, способное повышать радиорезистентность организма. Анализ литературных данных и результаты собственных исследований позволяют сделать вывод о перспективности применения этого препарата в составе композиционных сорбционно-детоксицирующих средств не только в качестве антидота при острых и хронических интоксикациях, но и как соединения, способного участвовать в регуляции антиоксидантно-антирадикальной системы, повышать радиорезистентность и общую неспецифическую резистентность организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Белоногов Р. Н.* Редокс-зависимая модификация белков у больных раком легкого // Автореф. дисс. … к. б. н. – Новосибирск, 2010.
2. *Буряков Н. П., Воль О. М.* Продуктивность и показатели рубцовой жидкости коров при скармливании рационов с тиосульфатом натрия и разным уровнем цинка // Сб. научных работ. – М.: Изд. МСХА, 1998. – Вып. № 3. – С. 125–130.
3. *Горбачева И. А., Шестакова Л. А., Малоземова В. А. и др.* Роль тиоловых соединений в патогенезе острых воспалительных заболеваний органов дыхания // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова. – 2009. – № 2. – С. 109–112.
4. *Граевский Э. Я., Тарасенко А. Т.* Тиольная концепция радиочувствительности // Радиобиология. – 1972. – 12; 3. – С. 684–692.
5. *Калистратова В. С., Беляев И. К., Жорова Е. С. и др.* Радиобиология инкорпорированных радионуклидов / Под ред. В. С. Калистратовой. – М.: Издательство ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России, 2012. – 464 с.
6. *Прудников В. С., Большакова Е. И.* Стимуляция иммунного ответа натрия тиосульфата при вакцинации свиней против сальмонеллеза // Международный аграрный журнал. – 1998. – № 5. – С. 55–56.

7. *Резункова О. П., Корытова Л. И., Бусина Е. Ю*. Тиолдисульфидный статус крови больных раком легкого при комбинированном методе лечения // Вестник Балт. педаг. академии. – 2003. – Вып. 51. – С. 129–134.
8. *Соколовский В. В*. Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма. – СПб.: МАПО, 1996. – С. 30.
9. *Солопов В. Н., Резников И. И., Чучалин А. Г.* Роль серосодержащих соединений в патогенезе и лечении хронических неспецифических заболеваний легких // Клиническая медицина. – 1988. – № 6. – С. 60–63.
10. *Фоломеев В. Ф*. Фотоколориметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белка и небелковых соединений крови // Лабораторное дело. – 1981. – № 1. – С. 33–35.

Сведения об авторах: *Жоров Георгий Александрович*, ст. науч. сотр., канд. вет. наук, тел. 8(495)522-29-05; *Рубченков Петр Николаевич*, зав. лаб. радиобиологии, д-р вет. наук; *Захарова Любовь Львовна*, вед. науч. сотр, д-р биол. наук.

BIOPROTECTIVE ROLE OF SULFUR-CONTAINING COMBINATIONS AND PERSPECTIVES OF USING SODIUM THIOSULPHATE AS POLYFUNCTIONAL PREPARATION

G. A. Zhorov, P. N. Rubchenkov, L. L. Zakharova

A role of sulfur-containing combinations is considered as a component of antioxidant protection of body as well as the perspectives of using sodium thiosulphate as polyfunctional bioproteclive preparation.

Key words: active radicals, heavy metals, antioxidants, sodium thiosulphate.

УДК 619:615.065:615.281.9:636.028

ЭМБРИОТОКСИЧЕСКИЕ И ТЕРАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА ФЛОРОПЕН

Л. В. Ческидова
ГНУ ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии, г. Воронеж

В статье представлены результаты исследований на белых крысах эмбриотоксического и тератогенного действия нового комплексного антимикробного препарата флоропен, предназначенного для лечения и профилактики послеродовых гнойно-воспалительных заболеваний свиноматок.

Ключевые слова: флорфеникол, линкомицин, эмбриотоксичность, тератогенность, белые крысы, флоропен.

Введение

Послеродовые гнойно-воспалительные заболевания свиноматок часто связывают с инфицированием половых путей ассоциациями различных условно-патогенных микроорганизмов. В связи с этим ветеринарные фармацевтические компании выпускают антимикробные лекарственные средства с различными комбинациями действующих веществ, позволяющих расширить спектр действия и существенно снизить проявления токсических эффектов.

Одним из таких препаратов в форме пенного аэрозоля является флоропен, предназначенный для профилактики и лечения эндометрита и синдрома метрит-мастит-агалактии у свиноматок. В качестве действующих веществ в его состав входят флорфеникол и линкомицина гидрохлорид.

В связи с тем, что антимикробные препараты могут оказать эмбриотоксическое или тератогенное действие, требуется проведение дополнительных исследований по выявлению риска их неблагоприятного влияния.

По данным Комитета по ветеринарным лекарственным препаратам европейского Агентства по оценке лекарственных препаратов, линкомицин не обладает эмбриотоксическим или тератогенным эффектом [7]. К аналогичному выводу пришли и другие ученые [4, 5]. По данным Европейского агентства, флорфеникол также не оказывает эмбриотоксического, тератогенного, аллергенного и мутагенного действия, не проявляет фетотоксичности и генотоксичности [6]. В то же время в доступной литературе мы не нашли исследований по совместному применению флорфеникола и линкомицина в одной лекарственной форме. Поэтому исследование безопасности применения у беременных животных флоропена представляется актуальным.

Материалы и методы

Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия флоропена проведено на самках нелинейных белых крыс массой 200,0±10,0 г. Перед опытом животных выдерживали на карантине в течение 14 сут. Животные были разделены на три группы по десять особей в каждой: контрольную и две опытные. Фазу полового цикла устанавливали путем исследования вагинального содержимого. Для спаривания самцов подсаживали к самкам в соотношении 1:3. Первым днем беременности считали день обнаружения спермиев в вагинальном мазке [2].

Флоропен вводили подкожно с 1-х по 19-е сутки беременности в дозе 12 мг/кг (терапевтическая по суммарному количеству действующих веществ) и 36 мг/кг массы тела (трехкратная терапевтиче-

ская доза). Крысам контрольной группы вводили основу препарата. Взвешивание беременных животных проводили 1 раз в неделю.

Половину самок подвергли эвтаназии на 20-е сутки беременности и провели вскрытие. Показатели эмбриотоксичности (общая эмбриональная смертность, смертность до имплантации, смертность после имплантации и выживаемость) рассчитывали по формулам А. М. Малашенко и И. К. Егорова (1977). Другую половину самок оставили до родов и наблюдали за физическим развитием потомства. В целях выявления патологии внутренних органов одну половину плодов фиксировали в жидкости Боуэна (метод Вильсона) для исследования патологии внутренних органов, другую половину – в 96%-ном этаноле для определения аномалий скелета (метод Доусона) [1–3].

Результаты исследований

В эксперименте не было выявлено каких-либо нарушений течения беременности и родов или изменений в поведении у животных опытных и контрольной групп. Статистически достоверных изменений в массе беременных крыс обеих опытных групп по сравнению с контролем также не было отмечено.

Результаты проведенных исследований представлены в таблице.

Исследование эмбриотоксического и тератогенного действия флоропена на белых крысах

Показатель	Контроль	Флоропен в дозе, мг/кг	
		12	36
Эмбриотоксическое действие			
Число желтых тел на одну самку	13,84±1,52	13,27±2,34	13,59±2,63
Число мест имплантации на одну самку	11,77±2,47	10,73±1,84	10,81±3,45
Число живых плодов на одну самку	10,12±0,34	9,37±0,42	9,59±0,56
Число мертвых плодов на одну самку	1,65±0,13	1,36±0,21	1,22±0,13
Общая эмбриональная смертность, %	26,88±3,77	29,39±2,76	29,43±3,70
Доимплантационная гибель, %	14,96±5,88	19,14±2,13	20,46±1,66
Постимплантационная гибель, %	14,02±2,54	12,67±1,42	11,29±2,15
Тератогенное действие			
Средняя масса крысенка, г	4,65±0,23	4,64±0,21	4,60±0,20
Краниокаудальный размер, см	4,48±0,03	4,50±0,04	4,40±0,02
Средняя масса плаценты, мг	407,5±17,7	402,3±16,8	389,4±19,0
Уродства, аномалии развития внутренних органов и скелета	Нет	Нет	Нет

Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия флоропена в дозе 12 мг/кг и 36 мг/кг массы тела не установило существенных различий в плодовитости крыс опытных и контрольной групп. Среднее число живых плодов на самку в контрольной группе составило 10,12±0,34, а у крыс, получавших флоропен в дозе 12 мг/кг и 36 мг/кг, соответственно – 9,37±0,42 и 9,59±0,56 плодов.

Различия в числе и массе крысят были недостоверными. При анатомическом и гистологическом исследовании установлено, что крысята, рожденные от самок опытных групп, не отличались от крысят контрольных самок. Проведенные морфологические исследования показали отсутствие аномалий развития внутренних органов и скелета плодов, рожденных от крыс опытных групп.

Выводы

Таким образом, на основании полученных результатов исследований можно сделать вывод, что флоропен в терапевтической и трехкратной терапевтической дозе не оказывает отрицательного влияния на физиологическое состояние белых крыс, на течение беременности и развитие плодов. Так как у препарата отсутствуют эмбриотоксические и тератогенные эффекты, он безопасен и может широко использоваться в ветеринарии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP). РД 64-126-91. – М., 2000. – 78 с.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.
4. *Gzeizel A. E., Rockenbauer M., Sorensen H. T., Olsen J.* A teratological study of lincosamides. Scand J Infect Dis 2000; 32:579-580.
5. *Mickal A., Panzer J. D.* The safety of lincomycin in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1975; 121:1071-4.
6. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for veterinary medicinal products. Florfenicol. Summary report (1).
7. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. EMEA/MRL/497/98-FINAL. Committee for veterinary medicinal products. Lincomycin. Summary report (1).

Сведения об авторе: *Ческидова Лилия Валерьевна*, канд. вет. наук, ст. науч. сотр. отдела фармакологии, LVCheskidova@yandex.ru, тел. (473) 253-92-81.

EMBRYOTOXICAL AND TERATOGENIC PROPERTIES OF FLOROPEN PREPARATION

L. V. Cheskidova

The results on a study of embryotoxical and teratogenic effects of a new combined antimicrobial preparation – floropen – intended for treatment and prevention of postpartum purulent inflammatory diseases in the cows, being conducted with the white rats, are presented in the paper.

Key words: florfenicol, lincomycin, embryotoxicity, teratogenicity, white rats, floropen.

УДК: 619: 615. 917

КЛИНИКО-ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ОВЕЦ ПРИ СОЧЕТАННОМ ОТРАВЛЕНИИ ДИОКСИНОМ И Т-2 ТОКСИНОМ В МАЛЫХ И СВЕРХМАЛЫХ ДОЗАХ

К. Х. Папуниди, И. Р. Кадиков, М. Я. Тремасов, И. Ф. Вафин, А. А. Иванов

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФЦТРБ-ВНИВИ)

Сочетанное пероральное поступление диоксина и Т-2 токсина в организм овец характеризуется возникновением клинических признаков отравления (отказ от корма, снижение массы тела, числа эритроцитов и лейкоцитов), а также изменением в соотношениях белковых фракций, которое напрямую зависит от доз поступающих ксенобиотиков.

Ключевые слова: диоксин, Т-2 токсин, белковые фракции, сочетанное отравление, контаминация.

Введение

В большую группу диоксинов и диоксиноподобных соединений входят как сами трициклические ароматические соединения: полихлорированные дибензодиоксины и дибензофураны, так и полихлорированные бифенилы, поливинилхлорид и ряд других веществ, содержащих в своей молекуле атомы хлора. Данный класс насчитывает 210 изомерных соединений. Наиболее токсичен 2,3,7,8- тетрахлордибензо-*р*-диоксин (2,3,7,8-ТХДД) [1, 5].

Диоксины – абсолютно уникальные вещества, они образуются как побочные продукты высокотемпературных химических реакций с участием хлора и попадают в окружающую среду с продукцией или отходами многих технологий.

Кроме техногенных токсикантов, продукция животноводства и растениеводства контаминируется микотоксинами, представляющими собой как экономическую, так и биоэкологическую опасность.

Т-2 токсин – наиболее токсичный из всех изученных микотоксинов. В организме вызывает серьезные разрушения в кроветворных и иммунокомпетентных органах. Так же, как и диоксин, обладает тератогенными свойствами, т.е. способен вызывать уродства и мертворождения [2].

Вместе с тем, важной научной проблемой является изучение сочетанного воздействия экотоксикантов на биологические объекты [4]. Прежде всего, это объясняется постоянной потенциальной угрозой проявления такого действия в естественных природных условиях [3].

Материалы и методы

Опыты проводили на овцах, разделенных на 6 групп: животные 1-й группы служили биологическим контролем и получали обычный рацион; 2-й группы – диоксин в дозе 1/400 $ЛД_{50}$ (0,5 мкг/кг живой массы); 3-й группы – диоксин в дозе 1/1000 $ЛД_{50}$ (0,2 мкг/кг живой массы); 4-й группы – Т-2 токсин в количестве 2 ПДК (200 мкг/кг массы корма); 5-й группы – сочетанно диоксин в дозе 1/400 $ЛД_{50}$ и Т-2 токсин (2 ПДК); 6-й группы – совместно диоксин (1/1000 $ЛД_{50}$) и Т-2 токсин в указанной выше дозе.

В ходе затравки проводили клинико-гематологические исследования, включающие определение массы тела, температуры, содержания эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина.

Общий белок сыворотки крови исследовали на рефрактометре ИРФ-22, белковые фракции сыворотки крови

определяли методом Олла и Маккарда в модификации С. А. Карпюка

Результаты исследований

У животных 2-й и 3-й групп, получавших только диоксин, живая масса и гематологические показатели оставались на уровне фона и не отличались от контроля. У животных, получавших Т-2 токсин, содержание эритроцитов и гемоглобина было ниже, чем в группе биологического контроля, соответственно на 20 и 22%.

У овец 5-й группы масса тела к концу исследований снизилась на 10%, животные плохо поедали корм. Наблюдались истечения из носовых полостей. Содержание эритроцитов на 20, 40 и 60-е сутки снизилось на 12, 13 и 20%, концентрация гемоглобина в эти же сроки уменьшалась соответственно на 19, 21 и 27%. Количество лейкоцитов к 60-м суткакм понизилось на 15%.

У животных 6-й группы, получавших диоксин в дозе 1/1000 $ЛД_{50}$ и Т-2 токсин в дозе 2 ПДК, к 60-м суткам число лейкоцитов снизилось на 18%.

У животных 2-й группы изменения в соотношении белковых фракции были незначительны, на 60-е сутки наблюдалось лишь увеличение содержания β-глобулинов на 20%.

В группе животных, получавших диоксин в дозе 1/1000 $ЛД_{50}$, каких-либо отклонений в содержании общего белка и его фракций не прослеживалось. В сыворотке крови овец, получавших только микотоксин, к 40-м суткам на 38% увеличилось содержания β-глобулинов.

У подопытных животных 5-й группы содержание общего белка снижалось на 60-е сутки на 20%. Прослеживалось снижение концентрации альбуминов на 20, 40 и 60-е сутки соответственно на 34, 34 и 41%, а концентрация α- и β-глобулинов увеличивалась. Так, фракция α-глобулинов повышалась на 20-е и 40-е сутки на 50 и 25%, к 60-м суткам данный показатель приближался к фоновым значениям. Фракция антитоксических глобулинов увеличивалась во все сроки исследования соответственно на 38, 69 и 92%.

У овец 6-й группы содержание альбуминов на 60-е сутки понизилось на 13%, а содержание β-глобулинов на 40-е и 60-е сутки повысилось соответственно на 28 и 29%.

Выводы

Таким образом, сочетанное пероральное поступление диоксина и Т-2 токсина в организм овец характеризуется возникновением клинических признаков отравления, снижением числа эритроцитов и лейкоцитов, а также изменением в соотношениях белковых фракций, которое напрямую зависело от доз поступающих ксенобиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ершов А. Г., Шубников В. Л.* Диоксинофобия: факты и домыслы…. // ЭкоПрогресс. – 2012. – С. 26–31.
2. *Иванов А. В., Фисинин В. И., Тремасов М. Я., Папуниди К. Х.* Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты) – М.: Колос, 2010. – 392 с.
3. *Кадиков И. Р., Новиков В. А., Тремасов М. Я., Папуниди К. Х.* Совместное действие Т-2 токсина и диоксина на организм кроликов // Международный научно-практический рецензируемый журнал «Иммунология: аллергология, инфектология». – 2010. – № 1. – С. 193–194.
4. *Папуниди К. Х., Конюхова В. А., Вафин И. Ф., Кадиков И. Р.* Влияние цеолита и натрия сульфида на токсикокинетику кадмия при сочетанном отравлении белых крыс диоксином и кадмия хлоридом // Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологии: Материалы второго съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России. – Казань, 2009. – С. 309–312.
5. *Федоров Л. А.* Диоксины как экологическая опасность: Ретроспектива и перспективы. – М.: Наука, 1993. – С. 35.

Сведения об авторах: *Кадиков Ильнур Равилевич*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.; *Вафин Искандер Фоатович*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.; *Папуниди Константин Христофорович*, д-р вет. наук, проф., зам. директора; *Иванов Александр Аркадьевич*, д-р биол. наук., зам. директора., e-mail: vnivi@mail.ru.

THE CLINICAL AND HEMATOLOGICAL INDICES IN SHEEP BLOOD IN CASE OF COMBINED INTOXICATION WITH DIOXIN AND T-2 TOXIN IN SLIGHT AND OVER SLIGHT DOSES

K. Kh. Papunidi, I. R. Kadikov, M. Yu. Tremasov, I. F. Vafin, A. A. Ivanov

The combined peroral introduction of dioxin and T-2 toxin into sheep body resulted in appearing the clinical signs of intoxication that was characterized with refusal of feed, decreasing body weight, level of white and red blood ctlls, changing the protein fraction correlation, that depended on doses of xenobiotics.

Key words: dioxin, T-2 toxin, fraction of protein, combined poisoning, contamination.

УДК 619:615.27/616.155.194.8

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ МЭК+А+П ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТОКСИЧЕСКОЙ ДИСПЕПСИИ У ТЕЛЯТ

А. Ф. Исмагилова, И. В. Чудов

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет», г. Уфа

В статье приведены экспериментально подтвержденные факты возможности повышения эффективности лечения токсической формы диспепсии у телят путем включения в состав фармакотерапии новой композиции, в состав которой входят монометиловый эфир кетотетракарбоновой кислоты (МЭК), анилокаин (А) и полифлоксацин (П) в соотношении 1:2:0,2 при условии назначения ее внутрь, 1 раз в день, на фоне общепринятой регидратационной и возместительной витаминотерапии.

Ключевые слова: токсическая диспепсия телят, терпеноиды, полифлоксацин, анилокаин, внутренние незаразные болезни

Введение

Причин и предрасполагающих факторов в развитии и течении желудочно-кишечных заболеваний, к которым относится и диспепсия у телят, чрезвычайно много, однако можно выделить и некоторые основные. Это микробный фактор, ослабленное состояние организма молодняка, полученного от коров с различными нарушениями обмена веществ, иммунодефицитное состояние организма и несоблюдение ветеринарно-санитарных правил при выращивании молодняка. Поэтому не случайно, что для лечения и профилактики диспепсий у молодняка сельскохозяйственных животных применяют разнообразные лекарственные средства – антибиотики, пробиотики, пребиотики и многое другое [4]. Следует отметить, что хотя антимикробные химиопрепараты и не утратили значения при лечения диспепсий, тем не менее из-за их негативного влияния на организм человека и животных в последние годы в мировой практике и в Российской Федерации нарастает тенденция изыскания эффективных альтернативных средств, менее опасных для человека, животных и окружающей среды [4 – 6].

Материалы и методы

Определение терапевтической эффективности композиции монометилового эфира кетотетракарбоновой кислоты с анилокаином и полифлоксацином (МЭК+А+П), в соотношении 1:2:0,2, при лечении токсической формы диспепсии у телят проведено в сопоставлении с терапевтической активностью фторхинолонов – энрофлоксацина и полифлоксацина, а также в сопоставлении с эффективностью композиции пиримидина МАОП с анилокаином и энрофлоксацином при том же соотношении компонентов – 1:2:0,2. Для проведения исследований нами было отобрано 30 телят черно-пестрой породы, обоего пола, в возрасте 3...5 сут, живой массой 39...42 кг, с признаками токсической формы диспепсии. Из отобранных телят нами были сформированы 6 опытных групп по 5 голов в каждой. С целью более точной оценки результатов гематологических и биохимических исследований крови подопытных животных в динамике нами была сформирована контрольная группа (n=5) клинически здоровых телят того же возраста.

Телят опытных групп подвергали лечебному воздействию согласно следующей схеме.

В первые сутки лечения во время двух выпоек молозиво заменили сенным настоем (1:20) с добавлением натрия хлорида до концентрации 0,5...0,85% с целью уменьшить раздражение рецепторов пищеварительного тракта, улучшить секрецию пищеварительных желез, а также уменьшить питательный субстрат для патогенной и условно-патогенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта больных телят.

Для уменьшения степени дегидратации организма телятам внутривенно вводили по 500 мл раствора Рингера.

В качестве возместительной терапии телятам опытных групп внутримышечно, в область крупа, вводили подогретый до температуры 36...37°С масляный раствор витаминов жирорастворимой группы (А, D_3, Е и F) – «Тетрамаг» в объеме 3 мл/гол. Повторную инъекцию осуществляли на 5-е сутки лечения. Клинически здоровым телятам контрольной группы (фон) плановую витаминизацию осуществляли тем же препаратом и в той же дозе, но с интервалом 10 сут.

Животным 1-й и 2-й опытных групп 1 раз в сутки, внутрь, до кормления назначали соответственно энро- и полифлоксацин в терапевтических дозах 5 мг/кг (по ДВ). Телятам 3-й опытной группы внутрь, 1 раз в сутки до кормления назначали терапевтическую (25 мг/кг) дозу композиции пиримидина – 2-метил-4-амино-6-оксипиримидин (МАОП) с анилокаином и энрофлоксацином (МАОП+А+Э) в соотношении 1:2:0,2. Телятам 5-й и 6-й групп внутрь, 1 раз в сутки до кормления назначали композицию монометилового эфира кетотетракарбоновой кислоты с анилокаином и полифлоксацином (МЭК+А+П) в соотношении 1:2:0,2 в дозах 10, 25 и 50 мг/кг соответственно.

В течение всего срока лечения, а также в последующие 10 сут после полного выздоровления за телятами вели наблюдение. На протяжении 14 сут с момента начала лечения проводили контрольные взвешивания телят. До начала лечения, а также на 5-е и 10-е сутки исследований у телят опытных и контрольной (фон) групп производили забор крови с последующим определением значений гематологических и биохимических показателей.

Результаты исследований

Клиническая картина диспепсии у телят опытных групп характеризовалась угнетением общего состояния с периодами залеживания и отсутствием реакции на внешние раздражители. Очертаний контуров костяка плечевой и тазовой областей отчетливо просматривались, слизистые оболочки ротовой полости и непигментированных участков носового зеркала имели бледно-розовый цвет с синеватым оттенком. Шерстный покров взъерошенный, сухой, в области промежности и хвоста запачкан жидкими каловыми массами. Дефекация учащена, каловые массы жидкие, серовато-желтого цвета, с примесью пузырьков газа и слизи. Температура тела у телят составляла 39,2±1,1°С, пульс слабый с частотой ундуляций 122,4±3,1 в 1 мин, число дыхательных движений составляло 48,5±3,6 в 1 мин.

Гематологические показатели крови больных диспепсией телят характеризовались значительным повышением числа эритроцитов и лейкоцитов в единице объема крови, соответственно до 11,21±0,84 × 10^{12}/л и 14,33±0,56×10^9/л (в 1,4 раз превышая аналогичные показатели здоровых телят и в 1,3 раза выше, по сравнению с верхними границами физиологической нормы). Гематокрит при этом достигал 56,60±1,41, в сопоставлении с предыдущими показателями характеризуя выраженную дегидратацию организма животных. Лейкограмма телят, больных диспепсией, характеризовалась нейтрофильным лейкоцитозом с преобладанием палочкоядерных нейтрофилов, а также относительным лейкоцитозом, что характерно для течения острой воспалительной реакции.

При наличии дегидратации организма диагноз токсической формы диспепсии также подтверждался изменениями биохимического состава сыворотки крови, характеризующимися в первую очередь, значительным смещением электролитного состава (таблица).

Динамика изменений биохимического состава сыворотки крови телят при лечении диспепсии (n=35)

Исследуемые соединения и их дозы	Общий белок, г/л	Глюкоза, ммоль/л	Кальций, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Натрий, ммоль/л	Калий, ммоль/л	Резервная щелочность, об. % CO_2	Каротин, мг%
Нормативные значения показателей для телят в возрасте 3–14 суток [1]								
	56,9-60,5	4,5-5,0	2,7-3,2	1,5-2,3	139-148	4,10-4,86	54-56	0,35-0,37
Исходные данные (до начала исследований)								
	76,51±2,38	3,63±0,06	2,12±0,03	1,23±0,02	114,48±4,36	6,60±0,17	48,20±2,6	0,02±0,001
На 5-е сутки исследований								
Энрофлоксацин, 5 мг/кг	64,00±1,09*#	3,96±0,03*#	2,14±0,02*#	1,27±0,03*#	126,14±2,12*#	5,28±0,06*#	50,41±0,94*#	0,26±0,02*#
Полифлоксацин, 5 мг/кг	63,61±0,98*#	4,08±0,02*	2,28±0,03*#	1,32±0,03*#	130,82±1,39*#	5,01±0,09*	53,08±0,86*	0,32±0,03
МАОП+А+Э, 25 мг/кг	61,04±0,81*	4,12±0,03*	2,49±0,01*	1,46±0,01*	138,10±2,06	4,98±0,12*	53,61±1,11*	0,30±0,01
МЭК+А+П, 10 мг/кг	61,36±0,56*	4,23±0,01*#	2,54±0,03*	1,48±0,02*	137,14±1,54	4,96±0,06*	54,12±0,66	0,30±0,02
МЭК+А+П, 25 мг/кг	58,73±0,48*#	4,78±0,04#	3,06±0,04#	1,78±0,01*#	145,39±1,69#	4,41±0,03#	55,29±0,74#	0,36±0,01#
МЭК+А+П, 50 мг/кг	58,86±0,51*#	4,82±0,04#	3,00±0,02#	1,75±0,03*#	142,28±1,81#	4,38±0,04#	55,18±0,91#	0,37±0,02#
Положительный контроль (фон)	59,10±0,32#	4,81±0,08#	2,94±0,02#	1,90±0,04#	141,15±2,11#	4,36±0,02#	55,10±1,04#	0,34±0,01#
На 10-е сутки исследований								
Энрофлоксацин, 5 мг/кг	59,99±0,46*#	3,96±0,04*#	2,96±0,04#	1,72±0,02#	145,93±1,84	4,37±0,01#	51,22±0,64*	0,13±0,03*
Полифлоксацин, 5 мг/кг	57,29±0,33	4,41±0,01*#	3,14±0,04*#	1,79±0,04*#	142,82±1,97#	4,32±0,04	54,77±0,69	0,34±0,01*
МАОП+А+Э, 25 мг/кг	57,83±0,40	4,86±0,03*	3,47±0,03*	2,01±0,03*	144,90±1,95	4,31±0,01	54,86±0,83	0,36±0,04*
МЭК+А+П, 10 мг/кг	58,79±0,44*#	4,88±0,02*	2,74±0,03*#	1,57±0,03*#	145,63±1,82#	4,52±0,03*#	55,32±0,81	0,38±0,02
МЭК+А+П, 25 мг/кг	58,37±0,37*#	4,95±0,01*#	3,16±0,04*#	1,81±0,04*#	147,17±1,87*#	4,47±0,03*#	55,73±0,67	0,56±0,03*
МЭК+А+П, 50 мг/кг	57,66±0,32	4,92±0,04#	2,91±0,04#	1,66±0,04#	144,79±1,92	4,22±0,01*#	55,47±0,73	0,49±0,01*
Положительный контроль (фон)	57,22±0,36	4,91±0,01	2,96±0,01	1,70±0,03	143,70±1,91	4,37±0,03	54,06±0,78	0,42±0,01

Примечание: * – $P<0,05$ в сравнении с контролем; # – $P<0,05$ в сравнении с композицией МАОП+А+Э в дозе 25 мг/кг

На фоне понижения уровня натрия в сыворотке крови больных диспепсией телят до 114,48±4,36 ммоль/л (в 1,24 раза меньше фоновых значений) нами отмечено повышение уровня калия до 6,60±0,17 ммоль/л (в 1,5 раз выше фоновых значений), что характеризовало затруднение выхода ионов калия из внутриклеточной жидкости, возникающее при повышении вязкости крови. Помимо вымывания ионов натрия из организма больных диспепсией телят нами отмечено понижение уровня кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови соответственно до 2,12±0,03 ммоль/л и 1,23±0,02 ммоль/л, что в 1,4...1,5 раза меньше фоновых показателей и физиологической нормы для телят указанного возраста. Результаты биохимических исследований сыворотки крови больных телят также характеризовались картиной ацидотического состояния, сопровождавшегося истощением бикарбонатной буферной системы (значение резервной щелочности крови составило 48,20±2,60 об. % CO_2 при физиологическом значении этого показателя в пределах 54...56 об. % CO_2), одновременно с этим уровень глюкозы в сыворотке крови был в 1,24 раза меньше нижней границы физиологической нормы. Указанные изменения кислотно-основного равновесия при понижении уровня глюкозы в сыворотке крови больных телят свидетельствовали о нарушении течения процессов перекисного окисления липидов с накоплением недоокисленных продуктов обмена веществ, следствием чего является быстрый расход как энергетических запасов, так и обладающего антиоксидантными свойствами каротина, количество которого в сыворотке крови больных животных обнаруживалось в следовых количествах.

При анализе результатов исследований фракционного состава сывороточных белков у телят с признаками диспепсии выявлено понижение уровня γ-глобулинов (до 10,20±0,11%, что в 2,5 раза меньше аналогичного фонового значения), что свидетельствует о значительном понижении иммунной реактивности организма больных животных, возникшее, по-видимому, как следствие нарушений в процессе выпойки молозива, а также в результате нарушения абсорбции поступающих с молозивом антител, на фоне синдрома диареи.

Помимо понижения уровня γ-глобулинов в сыворотке крови больных телят нами установлено повышение уровня α-глобулинов до 18,30±0,28% (что превышало фоновые значения в 1,5 раза), а также повышение уровня альбуминов до 61,90±0,48% (что превышало фоновые значения в 1,2 раза), наряду с изменениями лейкограммы, что характеризует течение острого воспалительного процесса.

При проведении терапевтических мероприятий с применением предлагаемых схем нами были получены следующие результаты.

Улучшение общего состояния подвергнутых лечению телят, характеризующееся полным восстановлением аппетита, периодичности и числа актов дефекации, нормализацией температуры тела, пульса, дыхания и двигательной активности: на 5-е сутки – в 5-й и 6-й группах телят, в схему лечения которых входила композиция МЭК+А+П в дозах 25 и 50 мг/кг/сут; на 7-е сутки – в 4-й и 5-й группах телят, схема лечения которых включала композицию МАОП+А+Э в дозе 25 мг/кг/сут и МЭК+А+П в дозе 10 мг/кг/сут; на 10...12-е сутки в 1-й и 2-й группах телят, схема лечения которых включала энро- и полифлоксацин в рекомендуемой дозе 5 мг/кг/сут. При этом в 1-й группе телят, получавших энрофлоксацин, на 2-е сутки после начала лечения один теленок из пяти пал.

Клинико-гематологические проявления синдрома дегидратации организма телят на 5-е сутки исследований отсутствовали во всех опытных группах, несмотря на то что у телят 1-й и 2-й групп, в схему лечения которых были включены энро- и полифлоксацин, к этому моменту полного восстановления перистальтики кишечника не наблюдали. При анализе биохимических показателей сыворотки крови телят указанных групп дисбаланс

электролитного состава хоть и имел положительную тенденцию, тем не менее сохранялся – уровень ионов натрия был ниже физиологической нормы и фоновых показателей, а уровень ионов калия превышал верхние границы этих значений.

На 5-е сутки исследований восстановление лейкограммы до физиологически допустимой нормы отмечено только в 3...6-й группах телят, лечение которых включало применение композиций МАОП+А+Э в дозе 25 мг/кг/сут и МЭК+А+П в дозах 10, 25 и 50 мг/кг/сут. При этом относительный моноцитоз и относительное повышение количества палочкоядерных нейтрофилов (на 3,5% в сравнении с верхней границей физиологической нормы), не могут быть рассмотрены как состояние патологии, в сопоставлении с результатами анализа биохимического состава сыворотки крови, а обосновываются нами наличием у монометилового эфира кетотетракарбоновой кислоты (МЭК) стимулирующей клеточное звено иммунитета активности, доказанной в опытах на лабораторных животных.

Количество палочкоядерных нейтрофилов в лейкограмме телят 1-й опытной группы (с включением в состав фармакотерапии энрофлоксацина в дозе 5 мг/кг/сут) на 5-е сутки исследований составляло 14,18±0,08%, приближаясь к верхней границе физиологической нормы, при этом уровень сегментоядерных лейкоцитов не только превышал физиологическую норму, но и, составив 34,42±0,12%, превышал концентрацию палочкоядерных форм в 2,5 раза, что указывало не только на продолжающееся течение воспалительной реакции в организме телят, но и на наличие иммуносупрессорной активности энрофлоксацина, характерной для многих антибактериальных средств [1, 3, 7]. Предположенный нами иммуносупрессорный эффект энрофлоксацина подтверждался также и состоянием лейкограммы телят 1-й группы на 10-е сутки исследований, при этом концентрация палочкоядерных нейтрофилов понизилась до критичных 7,90±0,12% (при норме 9...13%), а концентрация сегментоядерных нейтрофилов составила 34,97±0,50%, превышая концентрацию палочкоядерных форм в 4,4 раз.

Помимо клинико-гематологических показателей крови больных диспепсией телят 1-й и 2-й групп (схема лечения которых включала применение энро- и полифлоксацина в дозах 5 мг/кг/сут), на 5-е сутки исследований наличие воспалительного процесса подтверждалось результатами биохимических исследований сыворотки крови (таблица). Уровень белка в сыворотке крови телят 1-й и 2-й групп при этом составлял 64,00±1,09 г/л и 63,61±0,98 г/л, что превышало верхнюю границу физиологической нормы и фоновые значения на 5,8 и 8,3% соответственно. Некоторое же увеличение γ-глобулинов в сыворотке крови телят 1-й и 2-й групп с начальных 10,20±0,11% до 15,84±028 и 17,33±0,21% к 5-м суткам исследований указывало на положительную тенденцию в терапии диспепсии, однако эти значения были в 1,6...1,7 раз меньше в сравнении со значением фонового уровня γ-глобулинов (26,90±0,35%) при высокой концентрации альбуминов (59,11±0,53% в 1-й группе и 59,18±0,26% во 2-й группе) и относительно высоком уровне α-глобулинов (10,00±0,29% в 1-й группе и 9,13±0,19% во 2-й группе). Необходимо также отметить, что фракционный состав белков крови телят 2-й группы (фармакотерапия диспепсии в которой включала применение полифлоксацина в дозе 5 мг/кг/сут) нормализовался к 10-м суткам исследований, тогда как в 1-й группе (с включением в состав фармакотерапии энрофлоксацина в дозе 5 мг/кг/сут), несмотря на признаки клинического выздоровления, уровень γ-глобулинов оставался крайне низким, составляя15,92±0,33% против 28,21±0,27% в сыворотке крови здоровых телят и 27,6% в сыворотке крови телят 3...6-й групп.

Как на 5-е, так и на 10-е сутки исследований в сыворотке крови телят 1-й группы обнаруживалось низкое содержание глюкозы (3,96±0,03 ммоль/л,

что в 1,3 раза меньше фоновых значений). При этом показатель резервной щелочности крови характеризовался истощением буферных свойств на фоне выраженного расхода каратиноидов.

Наилучшие результаты при лечении диспепсии телят получены нами в 5-й опытной группе (с включением в схему лечения композиции МЭК+А+П в дозе 25 мг/кг/сут), в которой признаки выздоровления на 5-е сутки исследований характеризовались не только клинической нормализацией общего состояния, но и полным восстановлением значений рассматриваемых биохимических и гематологических показателей крови, статистически не отличающихся от значений крови здоровых телят. Единственным показателем, выгодно отличающимся от такового в группе положительного контроля, явился каротин, содержание которого в сыворотке крови телят 5-й группы на 10-е сутки исследований составило 0,56±0,03 мг%, тем самым превышая значение этого показателя в сыворотке крови здоровых телят в 1,3 раза.

Указанный факт также свидетельствует об эффективности процесса перекисного окисления липидов, предотвращающей расход основных антиоксидантов, в том числе и каратиноидов.

Необходимо также отметить, что включение в схему лечения токсической формы диспепсии телят композиций МАОП+А+Э в дозе 25 мг/кг/сут и МЭК+А+П в дозе 10 мг/кг/сут (3-я и 4-я опытные группы) отличалось более длительным периодом полного клинико-гематологического выздоровления по сравнению с применением композиции МЭК+А+П в дозе 25 мг/кг/сут (5-я опытная группа), а увеличение ее дозы до 50 мг/кг/сут к повышению эффективности лечения не приводило.

Средний прирост живой массы к 14-м суткам исследований в 5-й и 6-й опытных группах телят (подвергнутых лечению с применением композиции МЭК+А+П в дозах 25 мг/кг/сут и 50 мг/кг/сут) составил 6,00±0,14 кг (средняя живая масса до начала лечения составляла 40,60±0,20 кг в 5-й опытной группе и 40,90±0,26 кг в 6-й группе, а к 14-м суткам она составила соответственно 46,60±0,16 кг и 46,90±0,18 кг), тем самым составив общий ущерб от потерь живой массы во время терапии примерно 1,0 кг/гол (средняя живая масса здоровых телят в начале исследований составляла 41,50±0,12 кг, а к 14-м суткам исследований достигла 48,45±0,26 кг), тогда как в остальных группах ущерб был более значительным, составив: в 1-й опытной группе 4,18±0,09 кг; во 2-й опытной группе – 3,04±0,26 кг; в 3-й опытной группе – 2,32±0,16 кг; в 4-й опытной группе – 2,01±0,11 кг.

Заключение

Таким образом, результаты наших исследований показали высокую терапевтическую эффективность композиции монометилового эфира кетотетракарбоновой кислоты с анилокаином и полифлоксацином (1:2:0,2) в дозе 25 мг/кг/сут, в сочетании с регидратационной и общеукрепляющей терапией, при лечении токсической формы диспепсии. Полное клинико-гематологическое выздоровление животных было достигнуто на 5-е сутки лечения при минимальном ущербе прироста живой массы (1,0 кг/гол).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Алексятян А. А*. Макролиды. – М.: Диалог, 2000. – С. 108.
2. *Аликаев В. А., Шарабрин И. Г., Замарин Л. Г*. Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных. – М.: Агропромиздат, 1985.
3. *Падейская Е. Н., Яковлев В. П.* Фторхинолоны. – М.: Биоинформ, 1995.
4. *Соколов В. Д., Андреева Н. Л., Ноздрин Г. А. и др*. Общая клиническая фармакология, фармакокинетика, фармакодинамика и побочное действие лекарственных средств / Клиническая фармакология; Под ред. В. Д. Соколова. – М.: Колос, 2002. – С. 48–98.

5. *Уша Б. В., Концевова А. А., Смирнов А. М. и др.* Перспективность различных направлений нанобиотехнологии для ветеринарии // Ветеринария. – 2012. – № 2. – С. 53–55.
6. *Флехтер О. Б., Бореко Е. И., Нигматуллина Л. Р. и др*. Химические трансформации и биологическая активность лупановых тритерпеноидов // Химия и технология растительных веществ: Тез. докл. II Всерос. конф. – Казань, 2002. – С. 26.
7. *Яковлев С. В., Яковлев В. П., Изотова Т. Н.* Абактал (перфлоксацин) – новые возможности в антибактериальной терапии // Антибиотики и химиотерапия. – 1995. – Т. 40. – № 10. – С. 39–47.

Сведения об авторах: *Исмагилова Асия Фахретдиновна*, д-р биол. наук, проф., заслуженный деятель науки Республики Башкортостан, проф. кафедры морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней, e-mail: IsmagilovaAF@rambler.ru; *Чудов Иван Владимирович*, канд. вет. наук, доцент, e-mail: IVChudov@bk.ru.

TREATMENT OF TOXIC DYSPEPSIA IN CALVES

A. F. Ismagilova, I. V. Chudov

The article presents the experimentally proven facts of the opportunities for increasing efficiency to treat the toxic forms of dyspepsia in calves, being included in a composition of drug therapy of a new composition incorporating monometil aster of cetotetracarbonic acid, anilokainum and polifloxacinum in the ratio of 1:2:0,2, provided its prescription in side once a day against the background of commonly accepted and compensating vitamin therapy.

Key words: toxic dyspepsia in calves, terpenoids, polifloxacinum, anilokainum, internal nonconlagius diseases.

УДК 791.82 (521.56) (084.12)

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКОВ В САМОМ СЕВЕРНОМ ЗООПАРКЕ РОССИИ

А. М. Степанова, Н. П. Тарабукина, М. П. Неустроев,
М. П. Федорова, С. И. Парникова,
ГБУ Якутский НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии

П. А Ефимова, Н. В. Сафонова
ГБУ Республиканский зоопарк «Орто-Дойду»

Впервые применены пробиотики из штаммов бактерий *Bacillus subtilis* для коррекции микробиоценоза диких животных, зверей, птиц, рептилий, амфибий, содержащихся в условиях зоопарка «Орто-Дойду». Разработаны ветеринарно-санитарные мероприятия, обеспечивающие здоровье питомцев и охрану окружающей среды в условиях зоопарка Орто-Дойду.

Ключевые слова: зоопарк, животные, пробиотик, кишечный микробиоценоз.

Введение

Якутский зоопарк «Орто-Дойду» – единственный зоопарк в мире, расположенный в столь экстремальных климатических условиях. Содержание животных в искусственно созданных экстремальных климатических условиях Якутии требует особого подхода. Резко континентальный климат, вечная мерзлота, короткое лето и длительный зимний период – основные причины возникновения различных инфекционных болезней, понижения иммунитета диких и экзотических животных, содержащихся в неволе [5].

Во многом здоровье животных обусловливает нормальная микрофлора, которая, являясь фактором врожденного иммунитета, обеспечивает колонизационную резистентность, т.е. предотвращает колонизацию слизистых оболочек посторонними микроорганизмами. При снижении уровня нормальной микрофлоры увеличиваются количество и спектр условно-патогенных микроорганизмов. Следует отметить, что по характеру взаимоотношений с макроорганизмом различают патогенную и непатогенную микрофлору, а также условно-патогенные микроорганизмы, которые способны вызывать заболевания при наличии определенных условий, [3]. Поэтому комплексный научно обоснованный ветеринарный подход, включающий изучение количественного и качественного состава микробной контаминации с учетом физиологического состояния диких животных, в том числе птиц, обитающих в неволе, в условиях зоопарка является актуальным.

Целью наших исследований стало изучение микробиоценоза животных, его коррекция с применением пробиотиков.

Якутский НИИСХ в последние десятилетия разработал ряд инновационных пробиотических препаратов на основе биологически активных, уникальных, местных природных штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, выделенных из мерзлотных почв для северного животноводства. Препараты, разработанные на основе штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 оказывают выраженное антагонистическое действие в отношении многих патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (стрептококки, стафилококки, эшерихии, сальмонеллы, бруцеллы, кампилобактерии и патогенные микобактерии), а также некоторых токсигенных грибов (Penicillum, Aspergillus, Stachybotrus);

стимулируют развитие полезной микрофлоры кишечника; продуцируют комплекс ферментов (протеаза, желатиназа, амилаза, целлюлаза, β-глюконаза, ксилоназа, фруктозилтрансфераза), которые усиливают антагонистические свойства препаратов и способствуют более выраженному пробиотическому эффекту. Препараты устойчивы к широкому ряду антибиотиков, поэтому их можно применять в сочетании с антибактериальными средствами, а также после лечения химиопрепаратами для устранения дисбактериозов. Кроме того, препараты являются активными индукторами эндогенного интерферона, повышают иммунобиологическую реактивность и корректируют обмен веществ в организме, улучшают переваримость и усвояемость кормов, способствуют увеличению живой массы [4]. С целью уменьшения стресса, терапии и профилактики инфекционных заболеваний диких животных, содержащихся в неволе, перспективно использование пробиотиков – препаратов, в состав которых входят живые микроорганизмы – естественные обитатели кишечного тракта.

Материалы и методы

Научно-исследовательскую работу проводили в ГНУ Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, в лаборатории по разработке микробных препаратов и ГБУ Республиканский зоопарк «Орто-Дойду». Микробиологические исследования осуществляли по общепринятым методикам. Для определения КМАФАнМ (количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов) использовали мясо-пептонный агар (МПА). Для выделения и количественного учета бактерий использовали следующие среды: азидная – для энтерококков, Эндо – для энтеробактерий, бифидум-среда – для бифидобактерий, лактобакагар – для молочнокислых микроорганизмов, Байрд – Паркера – для стафилококков, Чапека – для микроскопических грибов, МПА (после прогревания до 85ºС в течение 15 мин) – для спорообразующих аэробных бактерий, скошенный МПА – для выделения протея, среда с бромтимоловым синим – для иерсиний, магниевая – для накопления патогенных энтеробактерий, Олькеницкого – для дифференциации кишечных бактерий. Результаты посевов учитывали через 18, 24, 48 ч для бактерий и 5 сут для грибов. Количество микроорганизмов определяли в колониеобразующих единицах (КОЕ) в 1 г. Родовую и видовую идентификацию микроорганизмов проводили согласно «Справочнику по микробиологическим и вирусологическим методам исследований» (1982), «Определителю зоопатогенных микроорганизмов» (1995), «Определителю бактерий Берджи» (1997).

С профилактической и лечебной целями применяли культуральную жидкость (КЖ), которую получали после центрифугирования и мембранной фильтрации 5-суточной бульонной культуры *B. subtilis* ТНП-3, а также препараты-пробиотики: Сахабактисубтил, Норд-Бакт и Хонгуринобакт, разработанные на основе штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и ТНП-5, паспортизированных и депонированных в коллекции микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве, ВГНКИ (2000).

Результаты исследований

Один из эффективных методов оценки физиологического состояния диких животных – изучение микробиоценоза кишечника. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что условно-патогенная микрофлора у животных, в том числе птиц, содержащихся в неволе, схожа с микрофлорой домашних сельскохозяйственных животных, что характеризуется как антропогенный фактор.

Нами установлено, особенно в микрофлоре млекопитающих зоопарка (семейства кошачьих, медвежьих, бобровых, оленевых, полорогих, лошадиных), что наряду с представителями нормальной микрофлоры присутствуют плесневые грибы родов Mucor, реже Aspergillus, возбудители сальмонеллезов и иерсини-

озов, патогенные стафилококки, а также потенциальные энтеропатогены – лактозоотрицательные эшерихии, протеи и т.п.

В результате микробиологических исследований у обитателей зоопарка представителей семейства кошачьих, медвежьих, оленевых, а также птиц и рептилий установлен дисбактериоз кишечника, который эффективно устраняется применением пробиотиков из штаммов бактерий *B. subtilis*.

Применение пробиотиков на основе штаммов бактерий *B. subtilis* способствует повышению уровня колонизации представителей нормальной микрофлоры кишечника – спорообразующих аэробных бактерий (от $4x10^4$ до $4,6x10^5$ КОЕ/г), лакто- и бифидобактерий (до $2,5x10^5$ КОЕ/г). Следует отметить, что бактерии рода Bacillus доминируют в кишечной микрофлоре диких животных, содержащихся как в неволе, так и в природе. В отличие от природных диких животных, у их собратьев в условиях зоопарка в кишечной микрофлоре отмечено постоянное присутствие условно-патогенных микроорганизмов, что характерно для домашних и сельскохозяйственных животных. У популяций диких животных в условиях Крайнего Севера в кишечном микробиоценозе регистрируются только представители нормальной микрофлоры (лакто- и бифидобактерии, спорообразующие аэробные бактерии) и совершенно отсутствуют условно-патогенные и патогенные микроорганизмы [2].

Результаты проведенных исследований показали высокую эффективность использования пробиотиков из штаммов бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 и *Bacillus subtilis* ТНП-5: Сахабактисубтил, Норд-Бакт животным разных таксономических групп. Препараты способствовали нормализации кишечного микробиоценоза, устраняли признаки дисбактериозов, повышали иммунобиологическую реактивность организма диких животных.

Заключение

Таким образом, полученные результаты исследований расширили ареал применения пробиотиков из штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, выделенных из мерзлотных почв, и позволяют их отнести препаратам-гетеробиотикам, применяемым широкому кругу живых организмов (млекопитающим, птицам, рептилиям, амфибиям).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Неустроев М. П.* Технология применения пробиотиков из штаммов бактерий Bacillus subtilis в свиноводстве и птицеводстве: Рекомендации / М. П. Неустроев, Н. П. Тарабукина, М. П. Федорова и др. Рос. акад. с-х. наук, Якут. НИИ сельск. хоз-ва. – Якутск, 2010. – С. 16.
2. *Орлянкин Б. Г.* Основы противовирусного иммунитета. – М.: Орбис Пиктус, 2011. – С. 74–75.
3. *Тарабукина Н. П., Неустроев М. П., Федорова М. П.* Использование пробиотика Сахабактисубтил в сельском хозяйстве Крайнего Севера [текст] // Клиническое питание. – 2007. – № 1–2 // Междунар. конгресс «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Фундаментальные и клинические аспекты», 15–16 мая 2007 г. – СПб., 2007. – С. А55.
4. Якутский зоопарк «Орто-Дойду» 10 лет / Под. ред. Н. В. Сафонова – Якутск.: Якутский край, 2012. – 144 с.

Сведения об авторах: *Неустроев Михаил Петрович*, д-р вет. наук, проф. зав. отд. ветеринарной медицины и биотехнологии; *Тарабукина Надежда Петровна*, д-р вет. наук, проф., зав. лаб. по разработке микробных препаратов; *Федорова Марфа Павловна*, канд. вет. наук, вед. науч. сотр.; *Степанова Анна Михайловна*, канд. вет. наук, ст. науч. сотр.; *Парникова Светлана Ивановна*, канд. вет. наук, ст. науч. сотр.; тел: (4112) 21-45-72; *Ефимова Прасковья*

Афанасьевна, вет. врач, ГБУ Республиканский зоопарк «Орто-Дойду»; *Сафонова Наталья Владимировна*, зав. ГБУ Республиканский зоопарк «Орто-Дойду»; тел: (4112) 22-52-59.

USING THE PROBIOTICS IN THE MOST NORTHEN ZOO OF RUSSIA

A. M. Stepanova, N. P. Tarabukina, M. P. Neustroev, M. P. Fedorova, S. I. Parnikova, P. A. Efimova, N. V. Safonova

For the first time probiotics from Bacillus subtilis were used for correction of microbiocenosis in wild animals, birds, wild beasts, reptiles, amphibians keeping under conditions of Orto-Doidu Zoo. The veterinary-sanitary measures were developed to ensure the health of the pets and protection of the environment.

Key words: zoo, animals, birds, probiotic, intestinal microbiocenosis.

УДК 619:615.27/616.155.194.8

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОЯЗВЕННОЙ АКТИВНОСТИ БИСИЗОДИНИКОТИНОАТА БЕТУЛИНА

И. В. Чудов, А. Р. Шарипов
ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет», г. Уфа

В статье представлены экспериментальные сведения, доказывающие наличие у нового деривата бетулина выраженной противоязвенной активности, превосходящей таковую наиболее близкого аналога – карбеноксалона. Открытые свойства бисизодиникотиноата бетулина раскрывают потенциал применения его в ветеринарии для лечения как язвенного процесса, в том числе вызванного длительным применением НПВС, так и с целью получения сочетанного действия при фармакотерапии патологий желудочно-кишечного тракта, характеризующихся воспалением и эрозивным изъязвлением слизистой оболочки.

Ключевые слова: фармакология, токсикология, терпеноиды, НПВС, эрозивно-язвенное поражение слизистой оболочки желудка.

Введение

На сегодняшний день современные медицина и ветеринария располагают достаточно обширным арсеналом лекарственных препаратов, обладающих выраженными противовоспалительными свойствами. При этом из противовоспалительных средств наиболее часто используется две группы фармакологических веществ – гормональные (преимущественно глюкокортикоиды) и нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Недостатком препаратов этих групп является широкий спектр побочных действий на организм животных и человека. Применение глюкокортикоидных препаратов может вызвать задержку ионов натрия, а соответственно и воды, в организме, что, в свою очередь, предрасполагает к развитию отечного синдрома. Одновременно с этим усиленная экскреция калия способствует значительному нарушению проводниковой системы сердца. Широкому использованию стероидных противовоспалительных средств также препятствует возможность возникновения реакции «привыкания» (уменьшение терапевтической активности препаратов при длительном применении) с угнетением функции коры надпочечников и подавлением биосинтеза гормонов, а внезапное прекращение введения глюкокортикостероидов может вызвать обострение патологического процесса [4 – 6]. Кроме того, известно, что многие НПВС, особенно неселективные, способны индуцировать эрозивно-язвенные процессы в слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта, ограничивая тем самым возможность их применения при фармакотерапии смешанной патологии, характеризующейся наличием как воспалительных, так и язвенных процессов. Нередко при длительных курсах лечения отдельные НПВС, к тому же, способны вызывать бронхоспазм, тромбоцитопению, тахикардию, диспептические расстройства, а в ряде случаев и оказывает гепатотоксическое действие.

Упоминая о симптоматических средствах терапии язвенных процессов желудочно-кишечного тракта, можно отметить отсутствие или недостаточное проявление ими противовоспалительной активности, хотя оба эти процесса тесно связаны друг с другом.

Учитывая изложенное выше, необходимо отметить все более возрастающую необходимость инновационного поиска новых лекарственных средств, обладающих сочетанным противовоспа-

лительным, противоязвенным и другими синергитическими эффектами. Исходя из мировой практики, наиболее перспективными в этом направлении могут стать новые дериваты бетулина, получаемые путем присоединения к его молекуле фармакофорных групп [2, 3, 7, 8].

Ранее нами было установлено, что бисизодиникотиноат бетулина, полученный путем включения в состав исходной химической структуры бетулина двух остатков никотиновой кислоты, обладает выраженными противовоспалительными свойствами, а при компьютерном PASS C&T анализе возможных биологических свойств этого деривата была спрогнозирована высокая вероятность проявления и противоязвенных свойств, экспериментальное подтверждение которых и стало целью наших дальнейших исследований.

Материалы и методы

Объектом исследований послужил экспериментальный образец бисизоникотиноата бетулина, синтезированный в ФГБУН «Институт органической химии Уфимского научного центра Российской академии наук», при содействии д-ра хим. наук О. Б. Казаковой. Противоязвенная активность бисизодиникотиноата бетулина изучена на 72 белых крысах живой массой 220...250 г на моделях острых язв желудка, вызванных уксусной кислотой или индометацином. Выдержанным в течение 24 ч на голодной диете крысам опытных групп однократно внутрижелудочно через зонд вводили изучаемое соединение в дозах 5, 10, 25 и 50 мг/кг или наиболее близкий по химическому строению препарат сравнения, обладающий антиульцерогенным действием – динатриевую соль кислого сукцината глицирретовой кислоты (карбеноксолон) в эффективной дозе 50 мг/кг (по ДВ), животным контрольных групп вводили плацебо. Через 1 ч все животные опытных и контрольных групп подвергались экспериментальной модуляции острых язв путем внутрижелудочного введения 3%-ного раствора уксусной кислоты в дозе 100 мг/кг (по ДВ) или раствора индометацина в дозе 20 мг/кг (по ДВ). Через 8 ч ульцерогены в тех же дозах вводили повторно с последующей 24-часовой голодной диетой и содержанием при температуре окружающей среды на уровне 4...6 °С. Под ксилазиновым наркозом у животных опытных и контрольных групп проводили лапаротомию с извлечением желудков и подсчетом количества язв и деструкций на их слизистых оболочках [1].

Результаты исследований

Проведенными исследованиями установлено, что бисизодиникотиноат бетулина в дозе 5 мг/кг способен проявлять антиульцерогенную активность в обеих моделях острых экспериментальных язв. При этом среднее количество деструкций, на модели острых язв, индуцированных уксусной кислотой, было в 1,8 раза меньше в сравнении с аналогичным показателем в группе интактного контроля (таблица), хотя отмеченная активность и находилась на том же уровне, что и у препарата сравнения.

Сравнительная противоязвенная активность бисизодиникотиноата бетулина и карбеноксолона

Соединение	Доза, мг/кг	Вид индуктора острых экспериментальных язв			
		3%-ный раствор уксусной кислоты		Индометацин	
		Среднее количество деструкций	Противоязвенная активность	Среднее количество деструкций	Противоязвенная активность
1	2	3	4	5	6
Бисизодиникотиноат бетулина	5	16,50±0,53	1,81±0,02	9,17±0,35	1,58±0,01
	10	13,33±0,53	2,24±0,02	4,83±0,35	3,00±0,01

1	2	3	4	5	6
(Продолжение)	25	13,67±0,35	2,18±0,01	4,67±0,18	3,11±0,01
	50	13,50±0,71	2,21±0,03	4,83±0,35	3,00±0,01
Контроль (карбеноксолон)	50	17,00±0,35	1,75±0,01	7,17±0,18	2,02±0,01
Контроль интактный (плацебо)	–	29,83±0,35	–	14,50±0,18	–

Примечание: P<0,02.

При этом единственным превосходством бисизодиникотиноата бетулина явилась его в 10 раз меньшая доза по сравнению с дозой карбеноксолона. На модели острых язв, индуцированных индометацином, препарат сравнения карбеноксолон, хоть и в большей дозе, но проявил в 1,3 раза более выраженную противоязвенную активность в сравнении с активностью бисизодиникотиноата бетулина, при его назначении внутрь в дозе 5 мг/кг. Однако при увеличении дозы бисизодиникотиноата бетулина с 5 до 10 мг/кг нам удалось получить антиульцерогенный эффект, значительно превосходящий активность карбеноксалона: в 1,3 раза на модели острых язв, вызванных уксусной кислотой, и в 1,5 раза на модели язв, индуцированных индометацином.

Не лишним будет отметить и тот факт, что изучаемый нами дериват бетулина проявил противоязвенную активность на фоне ранее выявленного противовоспалительного действия, что также может послужить основанием предполагать наличие у него селективных свойств.

Заключение

Таким образом: 1) бисизодиникотиноат бетулина проявляет выраженную противоязвенную активность наряду с ранее выявленным противовоспалительным действием, что может быть использовано в ветеринарии как для лечения язвенного процесса, в том числе вызванного длительным применением НПВС, так и в целях получения сочетанного действия при фармакотерапии патологий желудочно-кишечного тракта, характеризующихся воспалением и эрозивным изъязвлением слизистой оболочки; 2) экспериментально подтверждена противоязвенная активность бисизодиникотиноата бетулина и установлена его эффективная доза, составляющая 10 мг/кг при назначении внутрь.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аничков С. В., Заводская И. С.* Фармакотерапия язвенной болезни – Л.: Медгиз, 1965. – С. 30–51.
2. *Бузлама В. С.* Перспективы и пути развития современной экспериментальной и клинической ветеринарной фармакологии // Современные проблемы ветеринарной фармакологии и токсикологи: Материалы II съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России. – Казань: ФЦТРБ-ВНИВИ. – 2009. – С. 580–582.
3. *Казакова О. Б., Смирнова И. Е., Х. До Тхи Тху и др.* Синтез, структура и фармакологическая активность (7R,8S)-эпокси-(13R,17R)-триоксоланабиетиновой кислоты // Биоорганическая химия. – 2013. – Т. 39. – № 2. – С. 230–239.
4. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства: практическое пособие для врачей. – М.: Новая волна, 2008.
5. *Набиев Ф. Г., Ахмадеев Р. Н.* Современные ветеринарные лекарственные препараты – Москва–Краснодар: Лань, 2011. – С. 39–43, 292–296.
6. *Соколов В. Д., Андреева Н. Л., Ноздрин Г. А. и др.* Общая клиническая фармакология, фармакокинетика, фармакодинамика и побочное действие лекарственных средств // Клиническая фармакология / Под ред. В. Д. Соколова. – М.: Колос, 2002. – С. 48–98.
7. *Толстиков Г. А., Флехтер О. Б., Шульц Э. Э.* Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность // Химия в интересах устойчивого развития. – 2005. – № 13. – С. 1–30.

8. *Толстикова Т. Г., Сорокина И. В., Толстиков Г. А. и др.* Терпеноиды ряда лупана – биологическая активность и фармакологические перспективы. Нативные производные лупана // Биоорганическая химия. – 2006. – Т. 32. – № 1. – С. 42–55.

Сведения об авторах: *Чудов Иван Владимирович*, канд. вет. наук., доцент каф. морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней. E-mail: IVChudov@bk.ru; *Шарипов Алмаз Ришатович*, аспирант каф. E-mail: almaz_sharipov_1989@mail.ru

A STUDY ON ANTIULCERATED ACTIVITY OF BETULIN BISIZODINICOTIONATUM

I. V. Chudov, A. R. Sharipov

The paper deals with the experimental data proving the existence of pronounced antiulcerated activity in the new betulin derivate excelling the activity of the closest analogue – carbenoxalone. The revealed properties of betulin bisizodinicotionatum disclose the potential of its application in veterinary medicine for treatment both ulcers including those caused by prolonged use of NSAID and with a purpose of obtaining the combined action in the pharmacological treatment of pathology in gastrointestinal tract characterized with inflammation and erosive ulceration of mucous membrane.

Key words: pharmacology, toxicology, terpenoids, NSAID, ulcer of the mucous membrane, stomach.

УДК 619:616.5:636.8

СТИМУЛЯЦИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ ОРГАНИЗМА КОШЕК ПРЕПАРАТОМ ФОРВЕТ ПРИ МИКРОСПОРИИ

Н. А. Масимов, В. Н. Байматов, Э. Н. Масимов, М. Д. Тимченко, Е. В. Хромова

ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина»

В статье приведены данные о действии форвета на гематологические и иммунологические показатели крови кошек, больных микроспорией, и оценена эффективность данного препарата в комплексной терапии животных.

Ключевые слова: лейкоциты, эритроциты, иммуноглобулины, форвет, микроспория, клотримазол, низорал, гризеофульвин.

Введение

По данным многих исследователей, в настоящее время более 25% случаев обращения владельцев кошек к ветеринарным специалистам связано с заболеваниями кожного покрова [2–4, 6]. Кожу следует рассматривать не только как механический, но и как иммунный барьер организма. В эпидермисе отсутствуют В-лимфоциты и низка активность киллеров, но присутствует несколько разновидностей Т-лимфоцитов [1, 5]. Эпителиальные клетки представлены кератиноцитами, имеются стволовые эпидермальные клетки, клетки Лангерганса. Кератиноциты продуцируют цитокины, ряд ростовых факторов, которые обеспечивают процессы клеточного размножения, созревания и регенерации эпидермиса. При повреждении эпидермиса клетки выделяют цитокины, действующие на кератиноциты [5]. В дерме обнаруживают макрофаги, тучные клетки, которые, выделяя медиаторы, усиливают реакции воспаления. Такое инфекционное заболевание кожи, как микроспория, представляет интерес для выявления защитных механизмов организма. Важная роль отводится клеточно-опосредственному иммунитету, что имеет значение в лечении кошек при микроспории. У кошек, в зависимости от места и среды обитания, данная болезнь встречается в 3...4 раза чаще, чем у собак [5, 6].

Форвет содержит в качестве активной субстрации высокомолекулярный полисахаридный комплекс, получаемый путем обработки ростков клубней картофеля. Попадая в организм, полисахариды активируют клеточный иммунитет, оказывают общеукрепляющее действие, способствуют индукции интерферона [7, 8].

Целью настоящей работы являлось изучение лечебных свойств форвета при микроспории кошек и его влияния на специфические и неспецифические показатели крови. Для реализации цели были поставлены следующие задачи.

1. Определить параметры некоторых специфических и неспецифических защитных механизмов организма кошек, больных микроспорией.

2. Выявить влияние форвета на защитные механизмы организма кошек, больных микроспорией, и определить его терапевтическую эффективность.

Материалы и методы

В ООО «Зооветцентр Лебеди», г. Москвы было выявлено 24 кошки в возрасте от 4 мес до 2 лет (пород британская, шотландская, персидская и беспородные

животные), пораженные микроспорией. Клинически болезнь проявлялась поражением кожи в виде округлых пятен алопеции и чешуек, утолщения и уплотнения кожи. Зуд у всех кошек отсутствовал. Диагноз на микроспорию подтверждали лабораторными методами. Животные были разделены на 3 группы по 8 голов в каждой. Животных 1-й группы лечили с использованием геля клотримазол, шампуня низорал и таблеток гризеофульвин в соответствие с наставлением по их применению; 2-й группы – клотримазолом и низоралом; 3-й группы – клотримазолом, низоралом, гризеофульвином и препаратом форвет в дозе 1 мл на 10 кг массы тела. Во всех группах лечебные процедуры повторялись через 7 сут в течение 3 нед.

У всех кошек до и после опыта брали кровь для гематологических и иммунологических исследований. Число эритроцитов и содержание гемоглобина определяли фотоэритрогемометром модели 065; число лейкоцитов – в камере Горяева; СОЭ, гематокрит, цветовой показатель и ретракцию – по общепринятым методикам (Лютинский С. И., Степин В. С., 1987); лейкограмму, фагоцитарное число – на мазках крови, окрашенных по Романовскому; количество иммуноглобулинов – фотометрированием. При определении бактерицидной активности суточную культуру *Escherichia coli* инкубировали с сывороткой крови в течение 2 ч 15 мин, 24, 48 и 100 ч по О. В. Смирновой и Т. А. Кузьминой (1966). С этой целью в пробирки с 4,5 мл стерильного бульона или бульона Хоттингера добавляли по 1 мл испытуемой сыворотки, затем стерильной пипеткой вносили по 0,1 мл суточной бульонной культуры *E. coli*. Контролем служили пробирки с бульоном и культурой, но без сыворотки. Содержимое пробирок тщательно перемешивали и стерильной пипеткой от каждой пробы отбирали по 2 мл для измерения оптической плотности. Измерения проводили в кюветах толщиной 3,050 мм при зеленом светофильтре против дистиллированной воды. Пробирки с оставшимся содержимым (МПБ + сыворотка + культура микроба) закрывали пробками и помещали в термостат при 37 °С на 2 ч 15 мин, 3, 24, 48 и 100 ч. Затем вновь определяли оптическую плотность, т.е. находили Д 2. Бактерицидную активность исследуемой сыворотки выражали в процентах, вычисляя по формуле. Лизоцимную активность сыворотки крови устанавливали по В. Г. Дорофейчуку (1983). В качестве индикатора активности лизоцима применяли суточную культуру *Micrococcus lysodecticus*, выращенную на МПА по общепринятой методике. Из суточной тест-культуры *M. lysodecticus* на скошенном агаре готовили взвесь в фосфатном буфере (pH 7,2...7,4). Чтобы получить равномерную взвесь, ее фильтровали через слой ваты. Взвесь стандартизировали на ФЭК-Н с зеленым светофильтром в кюветах толщиной 3,050 мм. Для определения активности лизоцима в обычные микробиологические пробирки наливали 1,47 мл приготовленной на ФЭК-Н взвеси *M. lysodecticus* и добавляли 0,03 мл цельной сыворотки. Активность лизоцима в сыворотке устанавливали при разведении ее бактериальной взвесью в 50 раз. Пробирки встряхивали и помещали в термостат при температуре 37 °С на 1 ч. После этого их снова встряхивали и нефелометрировали при тех же условиях, которые соблюдались при стандартизации исходной взвеси. Показания регистрировали по шкале светопропускания правого барабана ФЭК-Н. Активность лизоцима определяли по светопропусканию исходной взвеси (20%), которую вычитали из аналогичного показания испытуемой взвеси (%). Рассчитывали количество (%) лизированных микробных тел по формуле. Полученные результаты сравнивали с нормативами. Экспериментальные данные обрабатывали методом вариационной статистики (Плохинский Н. А., 1969) с использованием ПК Pentium. Определяли следующие величины: средняя арифметическая (M), ошибка средней арифметической (± m), критерий достоверности разницы (td), уровень значимости возможной ошибки (P) по трем порогам вероятности: * P=0,95; ** P=0,99; *** P=0,999. Резуль-

таты исследований, уровень вероятности которых не превышал 0,05, считали статистически достоверными (Ойвин И. А., 1960; Рокицкий П. Ф., 1961; Плохинский Н. А., 1969).

Результаты исследований

У всех кошек показатели крови при микроспории отличались от физиологической нормы (табл. 1). Были выявлены лейкоцитоз, сдвиг лейкограммы вправо. При изучении неспецифических факторов защиты крови у кошек установлено, что наиболее благоприятное влияние на эти показатели оказало лечение, примененное в 3-й группе, при этом гуморальные факторы естественной защиты, такие как бактерицидная и лизоцимная активность, повышались. Одним из компонентов, обусловливающих бактерицидное действие сыворотки крови, является комплемент. Свое влияние во всех иммунных процессах организма он проявляет как катализатор, повышая скорость течения иммунологических реакций и активируя полиморфно-ядерные лейкоциты, повышая их способность проникать к месту воспаления и оказывать защитное действие. Высокая бактерицидная активность крови, способная задерживать рост микроорганизмов многих видов, обусловливается содержащимися в ней лизоцимом, комплементом, пропердином, интерфероном, а также присутствием так называемых бактериолизинов, способных растворять бактериальные клетки. Кроме антибактериального действия лизоцим стимулирует естественную резистентность организма. При анализе данных отмечены различия по группам в клинических, гематологических и иммунологических показателях (табл. 1 и 2). Препарат форвет в составе комплексной терапии сокращает сроки выздоровления кошек, больных микроспорией. Это связано, вероятно, с увеличением уровня иммуноглобулинов. Через 7 сут после начала лечения был проведен контрольный осмотр животных, проходивших лечение. У животных 1-й группы имелись пораженные участки без чешуек, кожа естественного цвета, а зоны алопеции диаметром до 0,5 см покрылись шерстью. В крови незначительно повысилось содержание Ig A, Ig M, но уменьшился уровень Ig G. Во 2-й группе лишь у двух животных отмечены признаки клинических улучшений. В крови кошек достоверно повышалось содержание Ig A и незначительно Ig M и Ig G. У трех кошек появились новые очаги поражений. У животных 3-й группы наблюдали улучшение: на 60...70% поверхности участков алопеций появился шерстный покров, полностью отсутствовали чешуйчатые изменения. В крови достоверно увеличились уровень Ig A, бактерицидная актив-

Таблица 1

Результаты гематологических исследований у кошек, больных микроспорией

Показатель	Ед. измерения	Норма для кошек	Группа животных		
			1-я	2-я	3-я
СОЭ	Мм/ч	0...13	20±2	18±3	19±2
Эритроциты	10^{12} / л	6,6 ...9,4	9,4±1,2	8,9±1,5	9,3±1,1
Лейкоциты	10^{9} / л	5,5 ...19,5	19,3±2,5	22,5±3,3	24,7±1,3
Эозинофилы	%	2 ...12	5,12±0,24	4,98±0,35	5,10±1,06
Базофилы	%	0 ...1	0	0	0
Палочкоядерные нейтрофилы	%	0 ...3	10,5±,1,3	10,2±1,4	11,5±1,2
Сегментоядерные нейтрофилы	%	35 ...75	60,4±5,21	61,8±7,14	59,3±4,29
Лимфоциты	%	20 ...55	23,3±2,13	22,7±1,96	23,4±2,3
Моноциты	%	1...4	1,02±0,03	1,10±0,02	1,24±0,03

ность, фагоцитарное число, наметилась тенденция к повышению уровней Ig M и Ig G. При лабораторном исследовании шерсти больных животных в 1-й группе микроспория подтвердилась в двух случаях, во 2-й группе – в шести, а в 3-й результаты исследования оказались отрицательными.

Таблица 2

Результаты иммунологических исследований кошек, больных микроспорией

Показатель	Ед. измерения	Норма для кошек	Группа животных					
			1-я		2-я		3-я	
			до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Ig A	г/л	2,06-6,59	1,20±0,5	1,40±0,3	1,6±0,12	3,1±2,12 ***	1,4±0,15	2,0±0,1**
Ig M	г/л	0,66-1,95	1,50±0,3	1,8±0,12	0,6±0,01	0,68±0,02	0,47±0,02	0,50±0,01
Ig G	г/л	5,8-1,4	4,70±0,6	4,3±0,14	6,1±.0,14	6,3±0,5	6,0±0,12	6,1±0,5
Лизоцимная активность	%	12-0,98	12,1±0,6	12,3±0,3	12,4±1,2	12,46±1,0	12,6±0,13	12,43±1,0
Бактерицидная активность	% лизиса *E. coli*	69-0,57	69,4±0,3	68,0±1,2	70,3±0,6	71,2±0,16	68,9±0,8	76,7±1,4*
Циркулирующие иммунные комплексы	у.е	20,1-1,3	20,0±1,2	21,0±0,13	19,8±2,4	20,1±0,12	19,4±0,4	19,7±1,1
Фагоцитарная активность	%	25-2,9	26,2±3,14	26,0±1,3	27,1±0,8	27,2±1,2	27,6±0,12	27,8±1,3
Фагоцитарное число	у.е	2,2-1	2,5±0,6	2,4±1,6	2,8±0,4	2,9±0,1	2,8±0,2	3,4±0,45*

Третий осмотр больных животных провели на 28-е сутки лечения. В результате в 1-й и 3-й группах споры *Microsporum canis* не были обнаружены, а во 2-й группе микроспория подтвердилась у четырех животных.

Учитывая литературные данные и результаты собственных исследований нами сделан вывод о влиянии форвета на специфические и неспецифические защитные механизмы организма, направленные на востановление структуры и функции поврежденных органов и тканей.

Выводы

1. Микроспория у кошек протекает с классическими симптомами. В то же время существенных изменений в поведение животных нами не выявлено.

2. Введение форвета при комбинированном лечение микроспории приводит к регрессии патологического состояния в течение 14…20 сут. Характерными особенностями фармакологического спектра препарата является повышение жизнеспособности клеток кожи в присутствие микроспор. В крови активируются лейкоциты и повышается уровень иммуноглобулинов что, по-видимому, оказывает иммуномодулирующие действие и блокирует размножение микроспор. Это позволяет использовать препарат в терапии инфекционных болезней.

3. Форвет – оригинальный отечественный ветеринарный препарат растительного происхождения, не имеющий аналогов в России и за рубежом. Он получен путем обработки побегов растения *Solanum*

muberosum (картофель) и представляет собой высокомолекулярный полисахаридный комплекс, состоящий из рамнозы, арабинозы, глюкозы, галактозы, ксилозы, маннозы, уроновых кислот. Форвет в дозе 1 мл на 10 кг массы животного в течение 7 сут оказывает лечебное действие при микроспории кошек, обладает иммуномодулирующим, цитопротективным свойствами, влияет на регенерацию кожи.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кирк Р., Бонагура Д.* Современный курс ветеринарной медицины Кирка – М.: Аквариум, 2005.
2. *Левятова Н. И.* Дерматофитозы кошек и собак: Материалы 16-го Международного конгресса по болезням мелких домашних животных, 2008.
3. *Масимов Н. А., Лебедько С. И.* Инфекционные болезни собак и кошек. – СПб.: Лань, 2009.
4. *Масимов Н. А., Масимов Э. Н.* Влияние ронколейкина на гематологические и иммунологические показатели собак, больных демодекозом // Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – 2013. – № 2(10) С. 67–69.
5. *Медведев К. С.* Болезни кожи собак и кошек. – Киев: ВИМА, 1999.
6. *Патерсон С.* Кожные болезни кошек. – М.: Аквариум, 2008.
7. *Рэмси Я., Теннант Б.* Инфекционные болезни собак и кошек. Практическое руководство. – М.: Аквариум-Принт, 2005.
8. *Старченков С. В.* Болезни мелких животных.– СПб.: Лань, 1999.
9. *Стовбун С. В., Лепехин А. В., Ратникова Л. И. и др*. Опыт применения панавира в терапии клещевого энцефалита // Инфекционные болезни. – 2007. – № 1. – Т. 5. – С. 41–46.
10. *Стовбун С. В., Михайлов А. И.* Тезисы / XXIII симпозиум «Современная химическая физика», Туапсе, 2011. – С. 123.

Сведения об авторах: *Масимов Нусрат Абулфатович*, каф. эпизоотологии, проф., д-р вет. наук; *Байматов Валерий Нурмухаметович*, каф. общей патологии, проф. д-р вет. наук, тел. 8(495)377-93-44; *Масимов Эдуард Нусратович*, канд. биол. наук; *Тимченко Марта Дмитриевна,* аспирант; *Хромова Екатерина Владимировна*, аспирант.

STIMULATION OF SPECIFIC AND NONSPECIFIC PROTECTIVE MECHANISMS IN CAT BODY IN CASE OF MICROSPORIA

N. A. Masimov, V. N. Baimatov, E. N. Masimov, M. D. Timchenko, E. V. Khromova

The data concerning the effect of forvet preparation onto hemalogical and immunological indices in cat body in case of microsporia as well as effectiveness of the preparation at complex therapy of the animals are presented in the paper.

Key words: leucocytes, erythrocytes, immunoglobulins, forvet, microsporia, klotrimazol, nizoral, grizeofulvin.

УДК 619:614.31:637.12

МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ЭНТЕРОТОКСИНОВ ЗОЛОТИСТЫХ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЛОКА БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ КОРОВ

В. М. Сотникова, Н. А. Шурдуба
ГНУ ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии

В статье изложен обзорный материал по современным методам индикации и идентификации энтеротоксинов золотистого стафилококка, обнаруженного в секрете вымени больных маститом коров.

Ключевые слова: золотистый стафилококк, молоко, энтеротоксины, мастит коров, стафилококковые токсикозы, плазмокоагулаза, антитела, гель-диффузия, специфичность, чувствительность, ИФА.

Стафилококковые токсикозы

Среди микроорганизмов – возбудителей пищевых отравлений ведущее место по частоте выделения занимает золотистый стафилококк. Стафилококковые отравления возникают при употреблении разнообразных пищевых продуктов, например молочных, мясных, кондитерских и кулинарных изделий, и являются результатом нарушения технологических режимов получения сырья, его переработки и реализации готовой продукции [5, 11].

Стафилококковые интоксикации (стафилококковые токсикозы) – наиболее распространенные пищевые отравления, так как стафилококки являются сапрофитами и широко распространены во внешней среде, включая и воздух помещений. Стафилококки относительно устойчивы к химическим и физическим факторам воздействия, что обусловливает их выживаемость в пищевых продуктах. Особую группу заболеваний стафилококковой природы составляют пищевые интоксикации, обусловленные энтеротоксигенными штаммами стафилококков, которые чаще всего принадлежат к виду *S. aureus*. Доля продуцентов энтеротоксинов среди золотистого стафилококка составляет от 24 до 53%, причем среди культур *S. aureus*, выделенных из гнойно-воспалительных очагов, энтеротоксигенных штаммов больше, чем среди культур, полученных от здоровых носителей [8, 22]. Концентрация токсина 10...13 мг вызывает у человека пищевое отравление, а для некоторых людей эта доза составляет лишь 1...3,5 мг. Данные микроорганизмы могут расти и продуцировать токсин как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Термическая обработка продуктов убивает стафилококк, но не разрушает его токсины, и отравление возможно даже после длительного проваривания и прожаривания пищи. Это обстоятельство затрудняет выявление причин вспышек микробиологическими методами, заставляя прибегать к методам обнаружения энтеротоксинов [24, 45].

К настоящему времени в молоке больных маститом коров выявлено и описано 11 стафилококковых энтеротоксинов, таких как SEA-D, SEE, SEG-R, SEU и др., а также антигенные варианты (SECsi, SEC2, SEC3). С усовершенствованием методов выявления частота обнаружения генположительных изолятов повышается, что дает возможность предполагать очень высокий потенциал продуцирования энтеротоксинов. Также установлено, что любой штамм стафилококков, выделенных из молока, может продуцировать токсины нескольких видов одновременно [14, 29].

Для эффективной оценки роли стафилококков в возникновении пищевых отравлений самого факта выделения культуры стафилококков, даже коагу-

лазопозитивных, недостаточно, так как в пищевых продуктах, содержащих патогенные дозы энтеротоксина, жизнеспособные микробные клетки могут и не выявляться. Поэтому в процессе диагностики стафилококковых пищевых отравлений необходимо преследовать двойную цель: найти энтеротоксигенные стафилококки и выявить энтеротоксин. Оба патогена надо исследовать на всех этапах эпидемической цепи, и тогда определение стафилококков позволит выяснить источник и механизм развития токсикоза, а нахождение энтеротоксина в продукте и в материале от потерпевших – окончательно подтвердить диагноз пищевой стафилококковой интоксикации.

Значение энтеротоксигенных золотистых стафилококков в этиологии мастита сельскохозяйственных животных

Большое негативное влияние на развитие молочного животноводства и повышение его продуктивности оказывают заболевания животных, среди которых наибольшее значение имеет мастит коров, приводящий к недополучению большого количества молока и преждевременной выбраковке животных.

Среди факторов, вызывающих маститы, наибольшее значение исследователи придают бактериальному. Более 90 видов микроорганизмов, выделяемых из вымени больных маститом коров, могут служить возбудителями воспалительного процесса. Важную роль в этиологии мастита играют стафилококки. По данным авторов, из молока маститных коров стафилококки выделяются в 35...70% случаев, причем на долю золотистого стафилококка приходится от 9,6 до 89% [4, 20]. За последние десятилетия в молочном животноводстве произошли значительные изменения, включая уменьшение числа молочных ферм и количества коров. Повышение надоев компенсировало количество производимого молока. Видовая дифференциация стафилококков, выделенных из молока коров, имеет большое эпизоотическое и эпидемиологическое значение, а также она необходима при организации мероприятий по борьбе с маститом и профилактике пищевых отравлений вследствие потребления молока и молочных продуктов [13, 15].

Среди возбудителей мастита коров часто выявляются стафилококковые культуры, продуцирующие энтеротоксины. Изучая распространение энтеротоксигенных стафилококков в молоке коров, ученые установили, что в 55% случаев они выделяются от больных клиническим маститом животных, в 33,3% случаев – при субклиническом мастите и в 12% случаев – от здоровых животных. Чаще всего в пробах молока маститных коров выявлялись энтеротоксины типа С – 54,3%, типа А – 31,1%, D – 27% и В – 10,7%. Наличие в молоке (молозиве) значительного количества токсигенных стафилококков приводит к тому, что новорожденные телята инфицируются и в тяжелой форме страдают энтеритами стафилококковой этиологии, от чего часто погибают [26, 27].

Экономические последствия как клинической формы мастита, вызванной *S. aureus*, так и субклинической, следующие: потери производства молока; затраты на ветеринарное обслуживание, лекарства, выбракованное молоко, затраты труда; ухудшение качества молока, новые случаи клинического и субклинического мастита, других заболеваний. Потери от всех этих факторов разные в зависимости от страны и региона, но их экономические последствия везде одинаковые.

Методы обнаружения стафилококковых энтеротоксинов

Изучение энтеротоксигенности стафилококков представляет существенные трудности, обусловленные отсутствием стандартных диагностических коммерческих антиэнтеротоксичных сывороток (антиэнтеротоксинов). В развитых странах определение энтеротоксигенности изолированных культур стафилококков обязательно используется для их идентификации, а промышленность выпускает необходимые иммунологические

и другие диагностические препараты. Это дает возможность определять энтеротоксигенность стафилококков в различных режимах (экспрессном, на этапах исследования материала, без выделения чистых культур и т. д.).

При оценке методов определения энтеротоксинов особое внимание уделяют их специфичности, чувствительности, быстроте и экономичности, а также количеству израсходованного материала и количеству полученного препарата.

С целью идентификации стафилококков и определения их причастности к возникновению мастита коров или пищевой интоксикации человека в настоящее время в лабораторной практике используют: микробиологические исследования, биохимические (тесты на коагулазу, лецитиназу и т.п.), молекулярно-генетические (ДНК-тесты с использованием полимеразной цепной реакции, анализ РНК и др.), методы иммунохимического и иммуноферментного анализа, био-, серо-, фаго- и генотипирования и тесты на устойчивость к антибиотикам, оптические биосенсоры (рефрактометрические, волоконно-оптические флуорометрические, плазменного резонанса), внедряют новые методы многомерного статистического анализа и компьютерные программы для идентификации и дифференциации бактерий и т. п. [12, 40, 44].

До недавнего времени для обнаружения стафилококковых энтеротоксинов были доступны лишь биологические методы. Из всех использованных животных наиболее чувствительными к энтеротоксинам оказались обезьяны [14], однако применение биологических методов ограничивалось дефицитом обезьян (другие животные оказались малочувствительными), кроме того весь процесс постановки биопробы был весьма трудоемким. Некоторые исследователи [16] пытались определять энтеротоксигенные стафилококки косвенными методами, т.е. по ферментативной активности (ДНКазе, РНКазе, плазмокоагуляции и другим свойствам).

Иммунодиагностические методы, применяемые в настоящее время, весьма многочисленны. В основе методов иммуноанализа лежит известная иммунная реакция взаимодействия антигена с антителом. Для выявления образовавшихся иммунных комплексов используется метка, с которой предварительно связывается узнающий компонент. Развитие методов иммуноанализа связано не только с повышением их чувствительности и специфичности, но и с появлением методик, которые не требуют использования специальных приборов, позволяют выполнять исследования при комнатной температуре и визуально регистрировать результаты анализа.

Реакция взаимодействия антигена с антителом как основа присутствует во всех методах иммуноанализа. Однако в зависимости от того, какой из этих реагентов является определяемым веществом, а какой – узнающим, от соотношения их количеств, а также от характера взаимодействия стандартного и определяемого реагентов, иммуноаналитические методы различаются по принципу связывания. Первый принцип заключается в конкурентном взаимодействии между стандартным меченым и определяемым веществами за связывание с узнающим реагентом, который может быть связан с твердой фазой. Меченый реагент вносится в реакционную смесь в строго дозированном ограниченном количестве, так как избыток его не позволит выявлять малые концентрации определяемого вещества. При конкурентном связывании содержание определяемого вещества в образце обратно пропорционально количеству меченого реагента, связанного с твердой фазой [55].

Методы второго типа предназначены для определения веществ, молекулы которых имеют, как минимум, два участка связывания (два эпитопа), и предполагают использование двух узнающих агентов. Первый в избыточном (максимально возможном) количестве иммобилизован на твердой фазе и связывает молекулы определяемого вещества, находящиеся в жидкой фазе. Второй узнающий агент имеет метку и связывает второй эпитоп

молекулы определяемого вещества, его добавляют либо сразу с исследуемым образцом (одностадийная схема), либо после связывания молекул определяемого вещества с первым узнающим реагентом и последующей промывки (двухстадийная схема) [50, 53].

Практикующих врачей интересуют достаточно простые в методическом исполнении и в то же время высокочувствительные и специфичные методы, которые можно использовать не только в лабораториях, но и в условиях диагностического кабинета.

В иммуносерологических тест-системах *in vitro* можно определять любые вещества, которые являются антигеном, т.е. могут вызывать образование специфических антител при иммунизации ими животных. Специфические антисыворотки к стафилококковым энтеротоксинам обычно получают путем иммунизации животных очищенным энтеротоксином. Качество и титр антисывороток зависят от чистоты и количества энтеротоксина, используемого для иммунизации, а также от схемы проведения иммунизации. По сравнению с другими белковыми токсинами стафилококковые энтеротоксины отличаются слабыми антигенными свойствами. Именно по этой причине используют напряженные схемы иммунизации, так как только такой подход позволяет получать антисыворотки к энтеротоксинам с более или менее высоким титром антител [1, 6].

Процедуры получения антител к различным стафилококковым энтеротоксинам подробно описаны в литературе. Некоторые исследователи получали антиэнтеротоксические сыворотки путем иммунизации животных убитыми формалином микробными взвесями штаммов-продуцентов *S. aureus* Cowan-1, 209 P, Vud-46, другие – введением стафилококковой вакцины, приготовленной из шести и более штаммов *S. aureus* [9, 14]. Однако перечисленные методы иммунизации животных имеют ряд недостатков: требуется большое количество высокоочищенных энтеротоксинов, затрачивается много времени на процесс иммунизации, много подопытных животных погибает, а высокие титры антисывороток часто так и не удается получить. Устранить существующие недостатки возможно лишь при разработке более совершенных методов иммунизации с целью получения наиболее высокоактивных стафилококковых антисывороток.

Первые работы исследователей, направленные на обнаружение энтеротоксигенных стафилококков, были основаны на принципе образования преципитатов антиген–антитело в гель-диффузных тестах [15, 17, 32]. Позднее был разработан капиллярный вариант метода простой гель-диффузии для количественного определения энтеротоксинов А, В и С и пробирочный тест двойной гель-диффузии [28, 50].

В практике определения энтеротоксина используется тест двойной гель-диффузии с использованием агаровых пластинок [18]. Данный метод позволяет обнаружить 5...20 мкг/мл энтеротоксина. Результаты учитывают через 12...24 ч после постановки опыта. Далее метод был модифицирован и вошел в литературу как микрометод двойной гель-диффузии на стекле. Микрометодом можно определить 0,1 мкг/мл энтеротоксина, сравнивая его с известным стандартом. Этот прием чрезвычайно важен для расшифровки пищевого отравления неизвестной этиологии [3].

Еще одной разновидностью метода двойной гель-диффузии на стекле является метод пластинок оптимальной чувствительности, предложенный для определения энтеротоксинов в культуральном фильтрате [36]. Этот метод прост в выполнении, но по чувствительности уступает микрометоду.

Принцип метода радиальной иммунодиффузии заключается в том, что антиген радиально диффундирует из лунки в агаровый гель, содержащий гомологичную антисыворотку, и это приводит к образованию в местах встречи реагентов специфического преципитата [33].

Для ускорения анализов на наличие энтеротоксинов в культуральном филь-

трате были предложены методы встречного иммуноэлектрофореза и электроиммунодиффузии [2, 3], позволяющие обнаруживать энтеротоксин с чувствительностью от 0,5 до 0,15 мкг/мл в течение 1...6 ч.

Для выявления энтеротоксинов золотистого стафилококка также был разработан метод агрегат-гемагглютинации [54]. При помощи этого метода удавалось определить 7 нг энтеротоксина типа А в 1 мл культурального фильтрата [34, 43].

Агглютинация мелкодисперсных частиц латекса, нагруженных антителами, происходит при взаимодействии их с антигеном. Был разработан метод латекс-агглютинации для обнаружения энтеротоксина В. Минимальная концентрация энтеротоксина В, выявляемая указанным методом, составляла 0,2 нг в 1 мл образца. Так как этот метод малоспецифичен, то для сенсибилизации латекса применили типоспецифичные иммуноглобулины, полученные из специфических антисывороток методом аффинной хроматографии на носителе, конъюгированном очищенными энтеротоксинами [25, 28]. Метод был разработан для всех известных в настоящее время типов стафилококковых энтеротоксинов. Чувствительность метода 1 нг/мл [43, 48].

В радиоиммунологическом анализе сочетается специфичность, свойственная реакциям антиген–антитело, с высокой чувствительностью, обусловленной применением радиоактивной метки. Для проведения анализа необходимо иметь соответствующие меченые антитела или антигены.

В радиоиммунологических методах определения энтеротоксинов типов А и В используется конкурентный тип постановки реакции [23, 32]. В реакционную среду вводят известное количество меченного радиоактивным йодом (^{125}I) энтеротоксина, который конкурирует с находящимся в пробе немеченым энтеротоксином за связывание со специфическими антителами. Чувствительность такого варианта радиоиммунного метода составляла до 4 нг/мл [42, 47].

В настоящее время широко известны различные модификации иммуноферментного метода, успешно используемые для количественного определения антител, гормонов, лекарственных препаратов, вирусных и бактериальных антигенов [52, 53]. Как и все иммунохимические методы, иммуноферментный анализ основан на использовании антител, осуществляющих специфическое связывание определяемого антигена. Однако в качестве метки, которой маркируют антиген или антитело, служит фермент, количество которого определяют в энзиматической реакции по концентрации субстрата или продукта его расщепления. Для метки антител или антигенов чаще всего применяют следующие ферменты: пероксидаза, щелочная фосфатаза, b-галактозидаза, глюкооксидаза, уреаза, глюкоамилаза, лизоцим, лецифераза. Сам фермент, естественно, не виден, поэтому визуализация присутствия вещества, определяемого методом ИФА, достигается применением посредника – хромогена. Это особое химическое соединение, хорошо растворимое в воде, раствор которого бесцветен. Превращение бесцветного хромогена в цветное вещество хромофор происходит под действием фермента, для которого хромоген является субстратом [19, 21].

При иммуноферментном методе определения стафилококковых энтеротоксинов используют следующие разновидности анализа: прямой конкурентный метод, простой сэндвич-метод, двойной сэндвич-метод [48, 53].

В случае прямого конкурентного метода к иммобилизованным антителам добавляют исследуемый антиген и антиген, меченный ферментом, которые конкурируют за центры связывания антител. Ферментативная активность, определяемая в растворе или на носителе после установления в системе равновесия, пропорциональна концентрации определяемого вещества. Чувствительность конкурентного иммуноферментного метода для обнаружения энтеротоксинов составляет 0,1...2,5 нг/мл [46, 51].

В случае выполнения анализа простым сэндвич-методом исследуемый антиген реагирует с антителами, иммобилизованными на твердой фазе. После промывки в систему добавляют антитела, меченные ферментом, и после инкубации и удаления непрореагировавших компонентов измеряют ферментативную активность, добавляя к системе субстрат, подходящий для конъюгированного фермента. Для получения количественной информации систему предварительно калибруют по стандартному препарату определяемого антигена.

Меченный ферментом специфический компонент в конце проведения иммунной реакции находится в двух состояниях: связанном (в составе комплекса антиген–антитело) и свободном (не вступивший в реакцию его избыток). Количество образовавшихся комплексов, а тем самым и содержание определяемого вещества, оценивают по каталитической активности ферментной метки.

Особенность сэндвич-метода – создание сложного иммунного комплекса, образованного двумя антителами и антигеном между ними. Условием одновременного связывания обоими антителами определяемого антигена является наличие двух антигенных детерминант [38, 47].

Сэндвич-метод – самый распространенный вариант иммуноферментного анализа, используемый при определении стафилококковых энтеротоксинов. Чувствительность метода 0,4...3,2 нг/мл.

В качестве твердой фазы при сэндвич-методе предложено использовать полистироловые пробирки или полистироловые шарики, на поверхности которых сорбируют антитела. Используя полистироловые шарики вместо планшет можно повысить чувствительность до 0,1 нг энтеротоксина в 1 мл пищевого продукта [31, 38].

Для определения энтеротоксинов золотистого стафилококка был также разработан двойной сэндвич-метод. При этом в качестве твердой фазы авторы использовали поливиниловые планшеты, в лунки которых вносили раствор козлиных иммуноглобулинов, полученных к энтеротоксинам [35, 39]. После сорбции иммуноглобулинов на полистироле в лунки добавляли раствор энтеротоксина, после инкубации и отмывки – раствор иммуноглобулинов кролика, полученных к энтеротоксинам. На следующем этапе к системе добавляли антикроличьи иммуноглобулины, меченные щелочной фосфатазой. Затем следовал этап инкубации и отмывки, на последнем этапе к системе добавляли хромогенный субстрат. Чувствительность двойного сэндвич-метода – 0,5 нг/мл. В случаях применения хромогенного субстрата интенсивность окраски определяли с помощью спектрофотометра при соответствующей длине волны. В иммуноферментном анализе результат положительной или отрицательной реакции можно определять визуально [31, 41].

Заключение

Своевременное обнаружение контаминации молока и молочных продуктов энтеротоксигенными золотистыми стафилококками имеет важное значение в предупреждении пищевых отравлений, однако после термической обработки продуктов микроорганизмы могут не обнаруживаться. В связи с этим необходим системный подход к исследованию продуктов на наличие энтеротоксинов золотистого стафилококка.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бейлбаева М. Л., Тугамбаев Т. И.* Методы иммунизации и их эффективность // Известия АН Казахской ССР. – 1983. – № 4. – С. 71–72.
2. *Васенко С. В.* Методы тестирования энтеротоксигенных стафилококков // Актуальные вопросы инфекционных и инвазивных болезней животных. – М., 1995. – С. 91–94.
3. *Доморадская Т. Н.* Современные методы обнаружения энтеротоксигенных стафилококков в продуктах питания // Вопросы питания. – 1991. – № 1. – С. 7–12.

4. *Карташова В. М., Тырина В. С*. Обсемененность патогенными стафилококками и стрептококками молока коров, больных маститами // Гигиена содержания сельскохозяйственных животных, ветеринарная микробиология и получение продуктов животноводства высокого санитарного качества. – М., 1980. – С. 88–92.
5. *Кулиева Э. М., Шуман М. С*. О вспышке стафилококковой пищевой интоксикации // Актуальные вопросы медицинской паразитологии и тропической медицины. – Баку, 1981. – С. 116–117.
6. *Куридзе Д. Г.* Получение очищенного стафилококкового C_2-энтеротоксина и антисыворотки к нему // Сборник научных трудов Московской ветеринарной академии. – 1985. – С. 53–55.
7. *Осташевский А. Г., Образцов В. П., Котенко И. И.* Применение реакции преципитации для определения энтеротоксигенности стафилококков // Материалы научно-производственной конференции по ветеринарной гигиене продуктов животноводства. – Минск, 1968. – С. 4.
8. *Петрас П., Машкова Л*. Выявление стафилококковой энтеротоксигенности // Журнал гигиены, эпидемиологии, микробиологии и иммунологии. – Прага, 1984. – Т. 28. – № 3. – С. 305–314.
9. *Флуер Ф. С*. Быстрый метод коагглютинации для типирования стафилококковых энтеротоксинов с использованием сенсибилизированных антиэнтеротоксическими антителами стафилококков, содержащих белок А // Иммунология. – 1985. – № 2. – С. 711–720.
10. *Флуер Ф. С.* Определение стафилококковых энтеротоксинов типа А, В, C_2 методом агрегат-гемагглютинации // Теоретическая и прикладная инфекционная иммунология. – 1982. – С. 81–82.
11. *Adesiyun A. P*. Characteristics of S. aureus strains isolated from bovine mastitis milk; bacteriophage and antimicrobial agent susceptibility and enterotoxigenicity // J. Veter. Med. Sc. B. – 1995. – Vol. 42. – № 3. – P. 129–139.
12. *Aldridge et al.* Comparison of Rapid Identification Assays for Staphylococcus // Clin. Microbiol. – 1984. – Vol.19 (5). – P. 703–704.
13. *Becker H., Gang-Stiller K*. Characterization of staphylococcus aureus strains isolated from raw milk with special reference to the clumping factor // Netherl. Milk Dairy J. – 1989. – Vol. 43. – № 3. – P. 355–366.
14. *Bergdoll et al*. A New Staphylococcus Enterotoxin. Enterotoxin F. Associated with the Toxic Shock Syndrome Staphylococcus aureus // Lancet 2. – 1981. – № 9. – P. 1017–1021.
15. *Burdova O*. Determination of St. enterotoxins in milk products by three methods // Arch. Veter. Pol. – 1994. – Vol. 34. – Fasc. ½. – P. 69–74.
16. *Berke et al*. Evaluation of Rapid Coagulase Methods for the Identification of Staphylococcus aureus // Clin. Microbiol. – 1986. – № 23 (5). – P. 916–919.
17. *Brown W. J*. Comparison of a Yellow Latex Reagent with Other Agglutination Methods for the Identification of Staphylococcus aureus // Clin. Microbiol. – 1986. – Vol. 23. – P. 640–642.
18. *Doern G. V*. Evaluation of a commercial latex agglutination test for identification of S. aureus // Clin. Microbiol. – 1984. – Vol. 19. – P. 191–193.
19. *Freed B. C., Bvanasin M. J*. Enzyme-Idenked Immunosorbent Assay for detection of staphylococcal Enterotoxins in Foods // Appl. Emvir. Microb. – 1982. – 44. – P. 1349–1355.
20. *Garcia M. L*. Biotypes of coagulase-positive staphylococci associated with bovine mastitis // Proc. Appendix. Stockholm. – 1989. – P. 24.
21. *Gunn B. A. et al*. Comparison of Methods for Identifying Staphylococcus and Micrococcus spp // Clinical Microbiol. – 1981. – P. 195–201.
22. *Hcrooka E. Y.* Enterotoxina estafilococica: avancos metodologicos na deteccao em alimentos // Semina. – 1993. – Vol. 14. – № 1. – P. 32–35.
23. *Hogan J. S., Cornetta A.* Comparison of four test procedures to identify Staphylococcus aureus isolated from bovine intramammary infections // Am. J. Vet. Res. – 1986. – Vol. 47. – № 9. – P. 2017–2019.
24. *Humber J. K., Denny C. B.* Influence of pH an the heat inactivation of staphylococcal enterotoxin A as determined by monkey feeding and serological assay // Appl. Microb. – 1975. – № 30. – P. 755–758.

25. *Igarashi H., Shingaki M.* Detection of staphylococcal enterotoxins in food poisoning cutbreaks by reversed passive latex agglutination // Proceeding of 5-th International Symposium of Staphylococci and Staphylococci Infectionet. Warsaw. – 1986. – P. 112.
26. *Komine K., Koroishi T., Asaik.* Isolation of St. aureus and coagulase-negative staphylococci from bualthy and mastitis dairy-cow mammary glands and production of St. enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1 by these lactens // J. Japan Veter. Med. ASSN. – 2000. – Vol. 53. – № 7. – P. 435–440.
27. *Kuroishi T., Komine K., Itigaki M.* Cases of clinical staphylococcal mastitis accompanied by increased staphylococcal enterotoxin-C in mammary-gland secretion // Japan Veter. Med. ASSN. – 2002. – Vol. 56. – № 3. – P. 147–151.
28. *Lairscey et al.* Performance of Four Slide Agglutination Methods for Identification of Staphylococcus aureus When Testing Methicillin-Resistant Staphylococci // Clin. Microbiol. – 1987. – Vol. 25. – № l. – P. 181–182.
29. *Lamaita H. C., Cerqueira M. M.* Staphylococcus sp. counting and detection of Staph. enterotoxins and toxic shock toxin syndrome from cooled raw milk // Agr. Brasil. Med. Veter. Zootech. – 2005. – Vol. 57. – № 5. – P. 702–709.
30. *Loeffler D. A., McDermott M. P. et al.* Evaluation by enzyme-linked immunosorbent assay of local and systemic production of milk immunoglobulins to surface exopolysaccharide antigen in cows with staphylococcal mastitis // Cornell Vet. – 1987. – Vol. 77. – P. 293–302.
31. *Major P*. Quantitative determination of staphylococcal B-type enterotoxin with Leeriest electicimurne diffusion method // Aeta Microb. Acad. Sci. – 1979. – № 26. – P. 333–336.
32. *Mayer R. F. Palmieri N. Y.* Single radiani immunodiffusion method for screening staphylococcal isolated for enterotoxin // Appl. Environ. Microbiol. – 1980. – № 40. – P. 1080–1085.
33. *Miller E. A., Reiser R. F., Bergdoll M. S.* Detection of staphylococcal enterotoxins A, B, C, D and E in foods by radioimmunoassay, using staphylococcal cells containing protein A as immunosorbent // Appl. Environ. Microbiol. – 1978. – № 36. – P. 421–426.
34. *Morse S. A., Mah R. A.* Microtiter hemagglutination-inhibition assay staphylococcai enterotoxin B // Appl. Microbiol. – 1967. – № 15. – P. 58–61.
35. *Niskanen S. N. et al*. Evaluation of Three Slide Agglutination Tests for Rapid Identification of S. aureus // Acta vet scand. – 1991. – Vol. 32. – P. 543–549.
36. *Ouchterlony O.* Diffusion-in-gel methods for immunological analysis // Prog. allergy. – 1958. – Vol. 5. – P. 1–77.
37. *Park C. E. et al*. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay kit (RIDASCREENR) for detiction of staphylococcus enterotoxins A, B, C, D and E in foods // Appl. and Environ. Microbiol. – 1994. – Vol. 60. – P. 677–681.
38. *Park C. E., Szabo R*. Evaluation of the reversed passive latex agglutination (PPLA) test kits for detection of Staphylococcal enterotoxin A, B, C and D in foods // Canad. J. Microb. – 1986. – Vol. 32. – № 9. – P. 723–728.
39. *Petras P*. Detection of staphylococcal enterotoxigenety I Methods // J. Hyg. Epidem. Microbiol. and Immunol. – 1980. – № 24. – P. 32–23.
40. *Read R. B., Bradshaw J*. In vitro assay of staphylococcal enterotoxin A and B from milk // Dairy Sci. – 1965. – № 48. – P. 41–419.
41. *Reiser R. F., Conaway D*. Detection of staphylococcal enterotoxin in foods // Appl. Microbiol. – 1974. – Vol. 27. – P. 83–85.
42. *Robern H*. The use of polyethylene glycol in radioimmunoassay of staphylococcal enterotoxins // Can. J. microbial. – 1978. – № 24. – P. 765–766.
43. *Salomon L. L., Tew R. W*. Assery of staphylococcal enterotoxin B by latex agglutination // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1968. – № 129. – P. 539–542.
44. *Silwarman G. J*. Entertotoxin secretion during Extended Growth of S. aureus on Agar Surfaces // Bact. Prot. Toxin. – 1984. – № 24. – P. 119–121.
45. *Soo H. M., Tatini S. R., Bennett R. V.* Thermal enactivation of staphylococcal enterotoxin A and D in certain foods // Abstr. Annu. Meet. Am. Soc. Micr. – 1974. – № 74. – P. 14.
46. *Stiffer-Rosenberg G., Fey H*. Simple assay for staphylococcal enterotoxin A, B and C: modification of enzyme-linked immunosorbent assay // Clin. Microbiol. – 1978. – № 8. – P. 473–479.

47. *Su C. Y., Wong A. C*. Current perspectives on detection of staphylococcal entertotoxin // Food Protect. – 1997. – Vol. 60. – P. 195–202.
48. *Sommerfeld P., Terplan G.* Methoden sum Nachweis von Staphylokokken enterotoxinen // Arch. Lebensmit. – 1975. – № 26. – P. 128–137.
49. *Velan B*. Chemiluminescence immunoassay: a new sensitive method for determination of antigens // Immunochemistry. – 1978. – № 15. – P. 331–333.
50. *Wairather F. J., Lewis E. E*. Rapid quantitative serological assay of staphylococcal enterotoxin B // Appl. Microb. – 1966. – № 14. – P. 284–291.
51. Watts J. L., Pankey J. W. Evaluation of the Staph-Ident and STAPHase systems for identification of staphylococci from bovine intramammary infections // Clin. Microbiol. – 1984. – Vol. 20. – P. 448–452.
52. *Weiss R. et al.* Zum Nachweis der Protein-A-Bilding von Staphylokokken mittels der ELISA-Technik // Zbl. Vet. Med. – 1984. – Vol. 31. – P. 424–434.
53. *Windemann H., Baumgarther P. S.* Application of Ensyme-Linked Immunosorbents Assay (ELISA) with Labeled Antegen for Detection of Staphylococcal enterotoxins A, B and C in foods // Zbl. Bacter. microb. Hyg. – 1985. – Vol. 181. – № 3–5. – P. 345–364.
54. *Yamada S., Igarashi H*. Improved reversed passive hemagglutination for simple and rapid detection of staphylococcal enterotoxins A-E in food // Micr. Immun. – 1977. – № 21. – P. 675–682.
55. *Zarsour J., Balle E*. Evoluation of Three test procedures for Identification of S. aureus from Clinical Sources // Clin. Microbiol. – 1978. – № 8. – P. 133–136.

Сведения об авторах: *Сотникова Виктория Михайловна*, ст. научн. сотр. лаб. санитарии молока, канд. вет. наук; *Шурдуба Николай Александрович*, зав. лаб., канд. вет. наук; тел. (499) 256-04-50.

METHODS OF DETECTING *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM MILK OF COWS WITH MASTITIS

V. M. Sotnikova, N. A. Shurduba

The review material on the modern methods of identification and indication of *S. aureus* enterotoxins isolated from udder secret of cows with mastitis.

Key words: *S. aureus*, milk, enterotoxins, mastitis, Staphylococcal toxicosis, plasmo-coagulase, antibodies, specifity, sensitivity, ELISA.