

Таблица 17 – Оценка безвредности препарата «Флоравит» при подкожном применении белым мышам

Группа животных	Доза субстанции, см ³	Количество животных, гол	Погибло животных, гол	Выжило животных, гол	Средняя масса, г		Местные проявления
					до введения	после введения	
1	0,1	10	-	10	18,2	20,8	отсутствуют
2	0,25	10	-	10	18,4	21,3	-//-
3	0,5	10	-	10	18,5	21,1	-//-
4 (контроль)	-	10	-	10	18,4	20,8	-//-

Результаты проведенных исследований по изучению биологической активности препарата показали (таблица 18), что испытуемый препарат не вызывал признаков токсикоза и гибели белых мышей.

Таблица 18 – Оценка биологической активности препарата

Группа животных	Доза субстанции, см ³	Количество животных, гол	Погибло животных, гол	Выжило животных, гол	Средняя масса, г	
					до введения	после введения
1	0,25	10	-	10	11,6	21,4
2	0,5	10	-	10	11,8	20,8
3	1,0	10	-	10	12,1	19,9
4	2,0	10	-	10	12,0	19,5
5	-	10	-	10	12,3	18,3

Вес мышей подопытных групп (№ 1, 2, 3 и 4) был выше, чем у животных контрольной группы, соответственно на 16,85%, 13,59%, 7,61% и 4,89%.

В результате проведенной экспериментальной работы нами установлено, что препарат «Флоравит» в дозах 0,25 см³/кг и 0,5 см³/кг обеспечивает значительный привес массы мышей.

Заключение. По результатам проведенных исследований можно сделать вывод о том, что изготовленный препарат «Флоравит» по своим органолептическим, физико-химическим и биологическим свойствам соответствует требованиям действующих ТУ, является безвредным для лабораторных животных, обладает высокой биологической активностью и его можно рекомендовать для испытания в практических условиях на продуктивных животных.

Литература. 1. Вербицкий, А.А. Заболеваемость свиней пневмониями и роль бордетелл при их возникновении / А.А. Вербицкий, С.С. Стома // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2008. – Т. 44, вып. 2, ч. 2. – С. 44-47. 2. Зайцев, В.В. Оценка влияния препарата Флоравит на сохранность, продуктивность и ветеринарно-санитарные показатели мяса цыплят-бройлеров / В.В. Зайцев, Г.Э. Дремач // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов / гл. редактор А.П. Курдюко. – Горки : Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2011. – С. 95-100. 3. Зайцева, А.В. Определение патогенности мицелия гриба *Fusarium sambucinum* и хронической токсичности его экстрактивной формы / А.В. Зайцева, В.В. Зайцева, Г.Э. Дремач // Ветеринарна медицина: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. - Харків, 2011. - № 95. – С. 106-107. 4. Пучков, А.В. Использование экстракта биомассы гриба *Fusarium sambucinum* в кормлении соболей / А.В. Пучков // Материалы международной конференции. – Минск, 2008. – С. 16. 5. Собошанская, Е.М. Влияние препарата «Фоспренил» на функциональную активность нейтрофилов крови телят / Е.М. Собошанская, Т.Р. Кораблева // Наукові праці південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування України «Кримський агротехнологічний університет». – Сімферополь, 2010. – Выпуск 129. – С. 141-145.

Статья передана в печать 16.01.2013г.

УДК: 619:616.98:579.834.115-085.371:636.4:612.12

ЦИТО- И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У СВИНЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА

Никитенко И.Г., Прудников В.С.

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

При иммунизации свиней против лептоспироза вакцинами отечественного производства, содержащими в своем составе различные адъюванты, с применением иммуностимулирующих препаратов в крови животных наблюдается достоверное увеличение количества гликогена в нейтрофилах и рибонуклеиновой кислоты в лимфоцитах, происходит увеличение количества гликогена и аскорбиновой кислоты в печени, а также повышение активности фосфатаз в периферических органах системы иммунитета.

The immunization of pigs against leptospirosis with domestic vaccines containing various adjuvants combined with the application of immunostimulants leads in blood of animals is observed augmentation of quantity of

a glycogen in neutrophils and ribonucleic acid in lymphocytes, to an increased augmentation of quantity of a glycogen and Acidum ascorbinicum in a liver, and also rising of activity of phosphatases in peripheric organs of immune system.

Введение. По данным Белгосветцентра за 2007-2012 годы неблагополучных пунктов по лептоспирозу свиней в Республике Беларусь не выявлено, однако имеет место лептоспиросительство, ежегодно регистрируется 10-11% свиней (от общего числа исследуемых), дающих положительные реакции на лептоспироз в невысоких диагностических титрах. В основе борьбы с данным заболеванием лежит специфическая профилактика.

Целью наших исследований явилось изучение цито- и гистохимических показателей у свиней при иммунизации их против лептоспироза инактивированными поливалентными вакцинами отечественного производства, содержащими в своем составе различные адъюванты, а также при иммуностимуляции раствором натрия тиосульфата.

Применение методов гисто- и цитохимического исследований дает нам возможность изучения обменных процессов применительно к определенным структурным элементам отдельных органов и тканей, что позволяет дополнить морфологические характеристики клеток и определить их функциональную активность [3].

Содержание рибонуклеиновой кислоты (РНК) в большинстве случаев зависит от функционального состояния клетки. Локализуется она в ядрышках и цитоплазме молодых и функционально активных клеток, поэтому определение количества РНК в клетке позволяет судить о ее функциональном состоянии. При окраске мазков крови по Браше РНК приобретает ярко-красный цвет. Доказано, что при антигенной стимуляции содержание РНК в лимфоцитах резко возрастает [3].

Гликоген составляет энергетический резерв организма человека и животных. Откладывается он в виде гранул в цитоплазме клеток многих видов, главным образом в печени и мышцах, в небольшом количестве он также содержится в почках и глиальных клетках мозга. Кроме того, гликоген является характерным цитохимическим маркером для гранулоцитов, в цитоплазме которых он выявляется в виде мелкой красно-фиолетовой зернистости при окраске по Шабадашу. При изучении системы иммунитета важное значение имеет определение содержания гликогена в нейтрофилах, так как их энергетические потребности, а, следовательно, и их фагоцитарная активность обеспечиваются в основном за счет расщепления гликогена [3].

Щелочная и кислая фосфатазы являются самостоятельными ферментными системами и широко распространены в тканях человеческого и животного организма. Доказано их участие в процессах костеобразования, однако этим их значение в организме не исчерпывается. Известно, что органы системы иммунитета млекопитающих содержат значительное количество фосфатаз. В селезенке и лимфатических узлах активность щелочной фосфатазы обнаруживается, главным образом, в эндотелии мелких артерий и синусоидных капилляров, что указывает на функцию переноса метаболитов из крови в ткани, а также в лимфоцитах по периферии лимфоидных узелков, в лейкоцитах пульпы селезенки и мозговых телях лимфатических узлов. При этом активность данного фермента нарастает при наличии в организме инфекционных воспалительных процессов, а также при иммунизации животных, что свидетельствует об участии щелочной фосфатазы в иммунологических реакциях. Необходимо также учитывать, что в ретикулярных клетках селезенки постоянно содержится некоторое количество гемосидерина, дающего ложную положительную реакцию на щелочную фосфатазу при окраске по Гомори. Активность кислых фосфатаз обнаруживается главным образом в ретикулярных клетках и сегментоядерных лейкоцитах красной пульпы, лимфоцитах периартериальной зоны лимфоидных узелков селезенки, вокруг лимфоидных узелков и в мозговых телях лимфатических узлов [1, 2].

Значительное повышение активности щелочной фосфатазы наблюдается в лейкоцитах, а кислой – в макрофагах в очагах воспаления, что указывает на участие фосфатаз в процессах фагоцитоза. Кроме того, известно, что органы иммунной системы млекопитающих содержат значительное количество фосфатаз, что также доказывает взаимосвязь активности фосфатаз с процессами иммуногенеза. В-лимфоциты, заселяющие В-зависимые зоны периферических органов иммунитета, обладают высокой активностью щелочной фосфатазы, а Т-лимфоциты, заселяющие тимус и Т-зависимые зоны периферических органов иммунной системы, и макрофаги – высокой активностью кислой фосфатазы [1, 2, 8].

Аскорбиновая кислота – органическое соединение, родственное глюкозе, является одним из основных питательных веществ, которое необходимо для нормального функционирования соединительной и костной тканей. Выполняет биологические функции восстановителя и кофермента некоторых метаболических процессов, является антиоксидантом. На сегодняшний день доподлинно известно, что витамин С в организме выполняет две важные задачи: обеспечение иммунной защиты и стабилизация психики. Аскорбиновая кислота обладает иммуностимулирующим, противовоспалительным и антиоксидантным действием. Содержится в лейкоцитах, печени, почках и надпочечниках животных. Она повышает концентрацию интерферона, количество антител в крови и фагоцитарную активность лейкоцитов, а также стимулирует детоксикационную функцию печени.

Материалы и методы исследований. Экспериментальные исследования были проведены на 60 свиньях в возрасте 6 месяцев, подобранных по принципу аналогов и разделенных на 5 групп по 12 голов в каждой. Животных 1-й группы иммунизировали экспериментальной инактивированной вакциной ВГНКИ против лептоспироза свиней с адъювантом гидроокисью алюминия (вакцина гидроокисьалюминиевая). Свиньям 2-й группы вводили экспериментальную инактивированную вакцину против лептоспироза, в которой в качестве адъюванта использовали 30%-й раствор натрия тиосульфата (вакцина тиосульфатная). Животных 3-й группы иммунизировали экспериментальной инактивированной вакциной против лептоспироза свиней, в которой в качестве адъюванта применяли минеральное масло Маркол-52 в смеси с эмульгатором (вакцина эмульгированная). Свиней 4-й группы вакцинировали той же вакциной, что и животных 3-

й группы, с добавлением иммуностимулятора натрия тиосульфата до 30%-ной концентрации в вакцину (вакцина эмульгированная совместно с тиосульфатом натрия). Все вакцины изготовлены в УП «Витебская биофабрика». Иммунизацию свиней проводили согласно инструкции по применению вакцины. Интактные животные 5-й группы служили контролем.

На 7-й, 14-й и 21-й дни после вакцинации от 4 животных из каждой группы брали кровь и готовили мазки. Содержание РНК определяли по методике Браше в модификации М.С. Жакова и И.М. Карпутя [3]. Гликоген выявляли ШИК-реакцией по Шабашу [5]. Оценку относительного количества РНК в лимфоцитах и гликогена в нейтрофилах производили по трехбалльной системе, подсчитывая 100 клеток. Интенсивно окрашенные клетки отмечали +++, среднеокрашенные ++, слабоокрашенные +, неокрашенные - 0. Для объективного сопоставления полученных результатов выводили средний цитохимический коэффициент (СЦК) по формуле G. Astaldi и L. Verga [7]. Цифровые данные обрабатывали статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

В эти же сроки производили убой 4 животных из каждой группы. Для проведения гистохимических исследований отбирали кусочки печени, почек, скелетных и сердечных мышц, селезенки и лимфатических узлов, регионарных и контррегионарных месту введения вакцины. Кусочки органов фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, жидкости Карнуа и 10%-м растворе азотнокислого серебра. Гистологические срезы готовили на санном и замораживающем микротоме по общепринятой методике [6]. Гликоген выявляли в печени, скелетных и сердечной мышцах ШИК-реакцией по Шабашу в виде глыбок и зерен красно-фиолетового цвета. Аскорбиновую кислоту в тканях печени, почек, сердца, селезенки и лимфатических узлов определяли методами Жири и Леблон [5], а также Барнетта и Бурна [4] с докраской препаратов гематоксилин-эозином [6], судя по интенсивности выявления восстановленной аскорбиновой кислотой нитрата серебра черного цвета. Активность фосфатаз определяли в селезенке и лимфатических узлах: кислой фосфатазы – нитратом свинца по Гомори, щелочной – кальций-кобальтовым методом по Гомори. В местах ферментативной активности выявлялось отложение сульфида коричневого или черного цвета [5]. Активность ферментов и интенсивность гистохимических реакций оценивали визуально и условно определяли: ++++ - очень высокая, +++ - высокая, ++ - умеренная, + - низкая, 0 – отрицательная.

Результаты исследований. При цитохимическом исследовании крови нами установлено, что на 7-й день после вакцинации содержание гликогена в нейтрофилах у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой и тиосульфатной вакцинами, достоверно превышало на 12,85 и 21,79% соответственно контрольные значения. Количество РНК в лимфоцитах у свиней, привитых эмульгированной вакциной без и совместно с тиосульфатом натрия, было выше на 17,53 и 14,29% ($P < 0,05$) соответственно, чем у интактных животных.

На 14-й день после вакцинации содержание гликогена в нейтрофилах крови вакцинированных свиней всех групп превышало его уровень у животных контрольной группы, причем у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой, тиосульфатной и эмульгированной вакциной совместно с тиосульфатом натрия, данный показатель достоверно повышался на 15,93-19,78% относительно интактных животных, а количество РНК в лимфоцитах у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой и эмульгированной вакцинами, было выше по сравнению с контролем на 20,86 и 19,63% ($P < 0,05$) соответственно.

На 21-й день после вакцинации содержание гликогена в нейтрофилах у свиней, иммунизированных тиосульфатной вакциной, было выше на 14,06% ($P < 0,05$), чем в контроле, а содержание РНК у вакцинированных и интактных животных не имело достоверных отличий.

При гистохимическом исследовании паренхиматозных органов нами установлено, что на 7-й день после вакцинации у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой и эмульгированной без и совместно с тиосульфатом натрия вакцинами отмечалось увеличение содержания гликогена в печени по сравнению с интактными животными. При этом гликоген обнаруживался как в гепатоцитах, так и в прослойках рыхлой соединительной ткани печени. Активность щелочной и кислой фосфатаз в селезенке и лимфатических узлах вакцинированных свиней всех групп повышалась по сравнению с контролем, между группами иммунизированных животных выраженных отличий не наблюдалось. При этом активность кислой фосфатазы выявлялась главным образом в лимфоцитах периартериальной зоны и ретикулярных клетках пульпы селезенки, вокруг лимфоидных узелков и в лимфоцитах паракортикальной зоны лимфатических узлов. Активность щелочной фосфатазы была выражена преимущественно в эндотелии мелких артерий и капилляров, лейкоцитах пульпы селезенки, лимфоцитах по периферии лимфоидных узелков селезенки и лимфатических узлов и в мозговых телях лимфатических узлов. Содержание аскорбиновой кислоты в печени было выше у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой и тиосульфатной вакцинами, а в сердце и почках – у животных, привитых эмульгированной вакциной без и совместно с тиосульфатом натрия.

На 14-й день после вакцинации наблюдалось повышение содержания гликогена в печени у свиней, привитых тиосульфатной и эмульгированной совместно с тиосульфатом натрия вакцинами, по сравнению с контролем. У свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой и эмульгированной вакцинами, отмечалось значительное увеличение активности щелочной фосфатазы в селезенке, а кислой – в селезенке, регионарных и контррегионарных лимфатических узлах по сравнению с животными других групп. Количество аскорбиновой кислоты в органах вакцинированных свиней всех групп незначительно снижалось по сравнению с предыдущим сроком исследований, при этом наибольшее ее содержание отмечалось в печени и сердце свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой вакциной, а в селезенке и почках существенных различий между группами не наблюдалось.

На 21-й день после вакцинации содержание гликогена в печени, а также аскорбиновой кислоты в селезенке, лимфатических узлах и почках выравнивалось по всем группам животных. В сердечной и скелетных мышцах гликоген обнаруживался в небольшом количестве в эндотелии кровеносных сосудов и в рыхлой соединительной ткани, при этом его содержание у вакцинированных и интактных свиней во все сроки исследований существенно не отличалось. Активность кислой фосфатазы в органах свиней, вакци-

нированных гидроокисьалюминиевой и эмульгированной вакцинами, по-прежнему сохранялась на высоком уровне по сравнению с интактными животными, в то время как активность щелочной фосфатазы выравнивалась по группам.

Заключение. Проведенные нами исследования показали, что при иммунизации свиней против лептоспироза вакцинами отечественного производства в крови животных отмечается статистически достоверное повышение содержания РНК в лимфоцитах у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой и эмульгированной, и достоверное увеличение количества гликогена в нейтрофилах у свиней, иммунизированных гидроокисьалюминиевой и тиосульфатной вакцинами, а также кратковременное увеличение содержания гликогена в печени и аскорбиновой кислоты в печени, сердце и почках по сравнению с интактными животными. На 7-й день после вакцинации наблюдается повышение активности щелочной и кислой фосфатаз в периферических органах системы иммунитета всех иммунизированных свиней по отношению к контролю. На 14-й день после иммунизации отмечается повышение активности щелочной фосфатазы в селезенке и кислой – в селезенке и лимфатических узлах у свиней, вакцинированных эмульгированной и гидроокисьалюминиевой вакцинами, а на 21-й день на высоком уровне по-прежнему сохраняется активность кислой фосфатазы у животных этих же групп.

Литература. 1. Агеев, А.К. Гистохимия щелочной и кислой фосфатаз человека в норме и патологии. – Л., 1969. – 143 с. 2. Берстон М. Гистохимия ферментов / Пер. с англ. М.В. Баниковского, А.Ф. Бочкова, М.А. Грачева; Под ред. В.В. Португалова. – М.: Мир, 1965. – С. 137-144, 160-175. 3. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1986. – 183 с. 4. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли ; под ред. В.В. Португалова ; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – 645 с. 5. Луппа, Х. Основы гистохимии / Х. Луппа ; под. ред. Н.Т. Райхлина ; пер. с нем. И.Б. Бухвалова, Е.Д. Вальтер. – М. : Мир, 1980 – 343 с. 6. Меркулов, Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград : Медицина, 1969. – 432 с. 7. Терентьева, Э.И. Цитохимия элементов кроветворения при лейкозе / Э.И. Терентьева. – М., 1968. – 51 с. 8. Федоров А.Ф. Некоторые особенности гистохимии щелочной фосфатазы в миндалинах при воспалении // Некоторые вопросы биохимии и медицины: Сб. науч. тр. / Второй Моск. госуд. мед. ин-т им. Пирогова. – М., 1971. – Вып. 3. – С. 18-20.

Статья передана в печать 15.01.2013г.

УДК 619:576.895.131:614.4

УСТОЙЧИВОСТЬ ЭКЗОГЕННЫХ СТАДИЙ STRONGYLOIDES PAPILLOSUS К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Патафеев В. А.

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

Инвазионные личинки и яйца S. papillosus являются более устойчивыми к низким температурам, чем рабдитовидные личинки, а также самцы и самки свободноживущего поколения. В то же время можно сделать вывод, что яйца, личинки, самцы и самки свободноживущей генерации S. papillosus вне животноводческих помещений в условиях Республики Беларусь в течение зимы погибают. Применение препарата НВ-1 в концентрации 2 % при экспозиции в 5,5 часов позволит освободить животноводческие помещения от стронгилоидесов всех стадий развития и предотвратить повторное заражение животных.

Infective larvae and eggs of *S. papillosus* are more resistant to low temperatures than rabditiform larvae, as well as male and female free-living generation. At the same time it can be concluded that the eggs, larvae, males and females are free-living generation of *S. papillosus* outside livestock premises in the Republic of Belarus during the winter die. Use of the NV-1 at a concentration of 2% with an exposure of 5.5 hours will release the animal from the premises at all stages of development strongiloides and thus prevent re-infection of animals.

Введение. В системе агропромышленного комплекса Республики Беларусь одно из ведущих мест принадлежит скотоводству, которое позволяет обеспечивать население продуктами питания, а промышленность – сырьем. При этом, несмотря на плановые профилактические дегельминтизации, паразитарные заболевания, которые имеют распространение во всем мире, наносят значительный экономический ущерб скотоводству. Одной из причин широкого распространения инвазионных заболеваний является обсемененность любых объектов внешней среды личинками паразитов.

В Республике Беларусь у крупного рогатого скота зарегистрировано 47 видов гельминтов [4, 5]. Среди гельминтов молодняка крупного рогатого скота часто встречается нематода *Strongyloides papillosus*, которая, по мнению ряда авторов, появляется у животных раньше других паразитов [2, 3], нанося при этом колоссальный экономический ущерб. Потери мясной и молочной продуктивности взрослого скота, переболевшего в раннем возрасте, достигают 40 % [1].

Животные, инвазированные стронгилоидами, выделяют с фекалиями яйца паразитов, обсеменяя ими объекты внешней среды. Количество яиц в фекалиях больных животных может достигать астрономических величин, а наличие гетерогонии еще больше увеличивает популяцию паразита [7]. Заражение животных стронгилоидами может происходить как в животноводческих помещениях, так и возле них, при загрязнении территории фекалиями, содержащими инвазионное начало. В распространении стронгилоидоза