

с. 2. Выращивание и болезни тропических животных : практическое пособие. Ч. 1 / А. И. Ятусевич [и др.] ; ред. А. И. Ятусевич ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 524 с. 3. Интенсификация производства молока: опыт и проблемы : монография / В. И. Смунев [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2012. – 486 с. 4. Ковалёнок, Ю. К. Микроэлементозы крупного рогатого скота и свиней в Республике Беларусь : монография / Ю. К. Ковалёнок. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 196 с. 5. Слоним, А. Д. Экологическая физиология животных / А. Д. Слоним. – Москва : Высшая школа, 1971. – 449 с. 6. Совершенствование технологических процессов производства молока на комплексах : монография / Н. С. Мотузко [и др.]. – Минск : Техноперспектива, 2013. – 481 с. 7. Технологические и физиологические аспекты выращивания высокопродуктивных коров : монография / В. И. Смунев [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2014. – 320 с. 8. Физиология пищеварения и обмена веществ : учебное пособие / И. Н. Медведев [и др.] ; под ред. И. Н. Медведева. – СПб. : Лань, 2016. – 144 с. 9. Физиологические показатели животных : справочник / Н. С. Мотузко [и др.]. – Витебск : Витебская областная типография, 2014. – 104 с. 10. Холод, В. М. Клиническая биохимия : учебное пособие / В. М. Холод, А. П. Курдеко. – Витебск : ВГАВМ, 2005. – Ч. 1. – 188 с. 11. Холод, В. М. Клиническая биохимия : учебное пособие / В. М. Холод, А. П. Курдеко. – Витебск : ВГАВМ, 2005. – Ч. 2. – 170 с. 12. Экологическая физиология / В. Г. Скопичев [и др.]. – Санкт-Петербург : ООО «Квадро», 2014. – 480 с.

Статья передана в печать 24.02.2017 г.

УДК 619:618.19-002-07

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ОБРАЗЦОВ НАНОСЕРЕБРА В ОТНОШЕНИИ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МАСТИТА

****Кузьмич Р.Г., **Макарова Е.С., *Борисенко Г.Н., *Коломиец Н.Д., *Тонко О.В.**

* УО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
г. Минск, Республика Беларусь

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

Использование наночастиц металлов в составе средств, обладающих антибактериальной эффективностью, является одним из рациональных решений в борьбе с антибиотикорезистентностью. Проведено экспериментальное исследование по определению антимикробной активности и терапевтических концентраций образцов наносеребра в отношении основных возбудителей мастита у коров.

The use of metal nanoparticles in the composition of medicines possessing antibacterial effectiveness is one of the rational decisions in the fight against antibiotic resistance. An experimental research was carried out to determine the antimicrobial activity and therapeutic concentrations of nanosilver samples against major agents of mastitis in cows.

Ключевые слова: мастит коров, нанопрепараты, резистентность микроорганизмов, бактерицидные концентрации серебра.

Keywords: cow's mastitis, nanopreparations, resistance of microorganisms, bactericidal concentrations of silver.

Введение. В настоящее время мастит признан самой распространенной акушерской патологией у коров. В первую очередь это связано с полиэтиологичностью, обусловленной деятельностью как патогенной, так и условно-патогенной микрофлоры, травматическим повреждением вымени при нарушении правил и технологии машинного доения, ослаблением общей неспецифической и локальной иммунологической резистентности, аутоиммунными процессами и др.

В настоящее время известны далеко не все причины, вызывающие заболевания молочной железы. Зачастую трудно определить, что имеет основное значение в этиологии маститов — непосредственные причины (возбудители бактериальных инфекций) или предрасполагающие и способствующие факторы. Как отечественные, так и зарубежные ученые основным этиологическим агентом в развитии маститов считают условно-патогенную и патогенную микрофлору. Причем роль условно-патогенной микрофлоры с каждым годом возрастает [3].

Из литературных источников известно, что всего из вымени коров изолировано 137 различных микробных видов, подвидов и серотипов, а основными путями попадания микроорганизмов в молочную железу считаются: галактогенный, гематогенный, лимфогенный.

Так, В.Н. Рубцовым (1981) при исследовании 424 проб молока от коров с клиническим и субклиническим маститом были выделены следующие микроорганизмы: *Staphylococcus spp.* – 36%, *Streptococcus spp.* – 28%, *E. coli* – 16% [7].

По данным В.В. Касянчук, В.М. Карташовой (1991), при исследовании 420 проб молока, отобранных от коров с клиническим течением мастита, а также 252 проб, полученных от животных с суб-

клиническим течением заболевания, были получены следующие результаты: *S. Aureus* - 87,3%, *S. agalactiae* – 9,5%, смешанная микрофлора – 3,2% [4].

По результатам проведенных исследований А.Н. Головки с соавторами (2001): клиническое течение мастита (86 проб) - *Streptococcus (S. agalactiae, E. faecalis)* – 59%; *Staphylococcus (S. aureus, epidermidis)* – 25%; *E. coli* - 16%; *Mycoplasma* – 5%; *Iersinia* – 3%; субклиническое течение мастита (81 проба) - *Enterobacteriaceae (E. coli, Iersinia friderens, S. dubiin, E vulgaris)* – 21%; *S. agalactiae* – 20,9%; *Staphylococcus (S. aureus, S. epidermidis, S. pyogenes)* – 19,7%; *Bifidobacterium* – 16%; *Lactobacillus* – 7,4%; молочнокислые стрептококки – 7,1% [2].

По данным О.Л. Чернова (2001), при исследовании 36 проб молока, отобранных от коров с клиническим течением мастита, выделены следующие микроорганизмы: *Staphylococcus (S. aureus, S. epidermidis, S. haemolyticus, S. auricularis)* – 70%; *E. coli* – 6,7%; неферментативные грамотрицательные палочки – 8,2%. При субклиническом течении (31 проба): *Staphylococcus (S. aureus, epidermidis)* – 70%; коагулазоотрицательные стафилококки (*S. hominis, S. warneri*) - 6,7%; *E. coli* – 23,3% [8].

По результатам исследований Ю.Г. Попова, М.Н. Шадрина (2001), при исследовании 36 проб молока, отобранных от коров с клиническим течением мастита, выделены следующие микроорганизмы: *Streptococcus (St. agalactiae, St. uberis, St. dysgalactiae)* – 45,4%; *Staphylococcus (S. aureus, S. albus)* – 27,2%; *E. coli* – 18,1%; другие возбудители – 9%.

Несмотря на большое количество научных исследований и создание широкого спектра антибактериальных противомаститных препаратов, проблема маститов остается нерешенной не только в нашей стране, но и в ряде зарубежных. Установление главного этиологического фактора развития маститов по-прежнему является актуальной проблемой. Как показывает анализ литературы, современными исследователями уже накоплено большое количество данных о структуре микроразнообразия молока и молочной железы. Однако состав и структура микрофлоры молока и молочной железы при маститах отличаются большим разнообразием как отдельных видов (патогенных и условно-патогенных) микроорганизмов, так и высокой частотой и разнообразием их ассоциаций.

Большинство авторов придерживаются мнения, что непосредственной причиной возникновения мастита у коров является проникновение и развитие в молочной железе патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Основную роль в возникновении мастита коров играют такие возбудители, как *Staph. aureus, Staph. epidermidis, Str. uberis, Str. agalactiae, Str. dysgalactiae, E. coli* и другие виды бактерий и грибов.

Известно, что антибиотики, сульфаниламиды, гормоны, синтезированные витамины, десенсибилизирующие и противовоспалительные средства, кроме лечебного действия оказывают и отрицательное влияние на организм. Так, высокая противовоспалительная активность глюкокортикостероидов сочетается с частыми, и нередко побочными действиями. Помимо этого в некоторых случаях возникают аллергические реакции, геморрагические синдромы, гипергликемия и др. Многие антибактериальные препараты являются сильными иммунодепрессантами, что ухудшает течение заболевания и удлиняет период выздоровления животных [9].

Выпускаемые препараты для лечения и профилактики мастита содержат в основном антибиотики и сульфаниламиды, которые, не всегда оказывая высокий лечебно-профилактический эффект, приводят к значительным морфологическим изменениям в тканях пораженных долей вымени, эпителии молочных протоков и альвеол, угнетают защитные реакции организма, изменяют и обостряют клинику течения воспалительного процесса, а также способствуют возрастанию резистентных штаммов микроорганизмов.

Другая проблема, связанная с маститом, - наличие ингибирующих веществ в молоке во время и после лечения больных животных. Основная доля этих веществ приходится на антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны и гормоны, которые содержатся в комплексных противомаститных препаратах и широко применяются в ветеринарной практике. Их наличие в молоке приводит к развитию у потребителей аллергии, анафилаксии, отравлений, а в молочной промышленности - к нарушению технологических процессов при производстве молочных продуктов и сыров.

В настоящее время стремительный рост резистентности микроорганизмов к противомикробным средствам позволяет говорить об антибиотикотерапии при мастите как мощном дисбиозном факторе, стимулирующем развитие антибиотикорезистентности у патогенных штаммов и обуславливающим тем самым безрезультатность лечения острых форм и их переход в хронические и субклинические формы [3].

В связи с этим разработка новых альтернативных эффективных препаратов для лечения и профилактики мастита, не содержащих в своем составе химиотерапевтических средств, является объективной необходимостью.

Так, большое внимание уделяется изучению наноматериалов, а именно наночастиц металлов.

Материалы и методы исследований. Работа выполнена в микробиологической лаборатории кафедры эпидемиологии и микробиологии БелМАПО. Была изучена антимикробная активность 3 нанопрепаратов серебра.

1. Препарат № 1 – субстанция коллоидного наносеребра с массовой долей серебра 0,1% (1 г/л) в комплексе с биологически активным веществом прополиса водного.
2. Препарат № 2 - субстанция гуминовой соли серебра с массовой долей серебра 0,05% (0,5 г/л) в комплексе с биологически активным веществом прополиса водного.
3. Препарат № 3 - субстанция гуминовой соли серебра (массовая доля серебра 0,05%

(0,5 г/л).

При проведении исследований использовались культуры музейных штаммов из американской коллекции типовых культур (ATCC) и культуры музейных штаммов микроорганизмов, выделенных при гнойно-воспалительных заболеваниях из гнойных ран.

1. Семейство *Micrococcaceae*. Род *Staphylococcus*:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus aureus*

2. Семейство *Streptococcaceae*:

- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Enterococcus faecalis*
- *Enterococcus faecium*
- *Streptococcus pneumoniae*

3. Семейство *Enterobacteriaceae*:

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Escherichia coli*

4. Грибы семейства *Saccharomycetaceae*. Род *Candida*:

- *Candida albicans*

1. Идентификацию выделенных культур микроорганизмов осуществляли по общепринятым методикам, применяемым в микробиологических лабораториях. Родовую и видовую идентификацию микроорганизмов выполняли путем изучения комплекса признаков с использованием автоматического микробиологического анализатора VITEK-2 Compact.

2. Определение чувствительности-устойчивости выделенных микроорганизмов к антибиотикам проводилось диско-диффузионным методом на среде Мюллер-Хинтонагар в соответствии с инструкцией по применению № 226-1200 «Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 13.11.2008.

Проведено определение чувствительности-устойчивости изучаемых микроорганизмов к антибиотикам. Результаты исследования отражены в таблицах 1-3.

Таблица 1 – Устойчивость-чувствительность к антибиотикам стрептококков и энтерококков

Вид микроорганизмов	Антибиотики, содержание в диске, мкг						
	Ампициллин 10	Бензилпенициллин (диск оксациллина 1 мкг)	Эритромицин 15	Ципрофлоксацин 5	Линезолид 30	Ванкомицин 30	Гентамицин 120
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	S	-	S	S	S	S	S
<i>E. faecalis</i>	S	-	R	R	S	S	S
<i>E. faecium</i>	S	-	R	R	S	S	S
<i>S. pneumoniae</i>	-	S	R	S	S	S	-

Примечания: S- культура чувствительна; R – устойчива, I - умеренно устойчива.

Таблица 2 - Устойчивость-чувствительность к антибиотикам энтеробактерий

Вид микроорганизмов	Антибиотики, содержание в диске, мкг					
	Ампициллин 10	Цефазолин 30	Цефалотин 30	Гентамицин 10	Амикацин 30	Ципрофлоксацин 5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	S	S	S	S	S	S
<i>E. coli</i>	R	R	R	S	S	I

Примечания: S- культура чувствительна; R – устойчива, I - умеренно устойчива.

Таблица 3 – Устойчивость-чувствительность к антибиотикам стафилококков

Вид микроорганизмов	Антибиотики, мкг					
	Пенициллин 6	Оксациллин 1	Цефазолин 30	Эритромицин 15	Линезолид 30	Ванкомицин 30
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	S	S	S	S	S	S
<i>S. aureus</i>	R	R	R	S	S	S
<i>S. epidermidis</i>	R	S	S	S	S	S
<i>S. saprophyticus</i>	R	S	S	S	S	S

Таким образом, при определении чувствительности микроорганизмов к антибиотикам установлено, что все изучаемые штаммы микроорганизмов, выделенные из гнойных ран, проявляют устойчивость хотя бы к 1 группе антибиотиков из изучаемых в эксперименте антибактериальных лекарственных средств.

3. Определение чувствительности-устойчивости выделенных микроорганизмов к антисептикам проводилось в соответствии с методическими рекомендациями «Методика определения чувствительности-устойчивости бактерий к антисептикам [1]. Метод основан на введении изучаемых препаратов серебра в незастывший питательный агар и высеве на него испытуемых культур микроорганизмов по 10 мкл в виде бляшек.

Этапы исследования:

1. Приготовление различных концентраций растворов антисептиков на стерильной дистиллированной воде:

1 - концентрированный - основной раствор антисептика;

2 - ½ основного раствора антисептика.

2. Выращивание на скошенном питательном агаре суточной культуры изучаемых штаммов микроорганизмов с обязательным контролем чистоты культуры и проверкой основных биохимических родовых и видовых признаков.

3. Подготовка для опыта суспензии микроорганизмов из выросшей суточной культуры на стерильном физиологическом растворе в концентрации $1,5 \times 10^8$ микроорганизмов, что соответствует 10 ЕД стандарта мутности.

4. Приготовление чашек с Мюллер-Хинтонагаром и введение в чашки различных концентраций антисептиков (основного раствора антисептика и разведенных концентраций основного раствора).

5. Нанесение на чашки с подготовленным агаром в виде бляшек суспензии штаммов микроорганизмов объемом 10-15 мкл.

6. После высыхания капель, чашки инкубировали в термостате при температуре 37° в течение 24 часов.

Результаты исследований. Учет результатов по наличию роста (устойчивый, R) или отсутствию роста (чувствительный, S) микроорганизмов на месте посевов в лунках.

Результаты исследования отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты чувствительности-устойчивости исследуемых штаммов бактерий и грибов к испытуемым антисептикам

Испытуемые штаммы микроорганизмов	Исследуемые препараты					
	субстанция №1		субстанция №2		субстанция №3	
	Основная конц.	50% конц.	Основная конц.	50% конц.	Основная конц.	50% конц.
Семейство <i>Micrococcaceae</i>						
Род <i>Staphylococcus</i>:						
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	R	S	S	S	S
Семейство <i>Streptococcaceae</i>						
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	S	R	S	S	S	S
<i>Enterococcus faecalis</i>	S	R	S	S	S	S
<i>Enterococcus faecium</i>	S	R	S	S	S	S
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	S	S	S	S	S	S
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>						
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	S	S
Грибы семейства <i>Saccharomycetaceae</i>						
Род <i>Candida</i>						
<i>Candida albicans</i>	S	S	S	S	S	S

Заключение. Таким образом, установлено, что все 3 исследуемые субстанции серебра в основной концентрации оказывали бактерицидное действие на все испытуемые микроорганизмы.

При исследовании действия субстанций, разведенных в 2 раза, установлена устойчивость *энтерококков* и *Staphylococcus aureus* к субстанции № 1. Остальные субстанции оказывали бактерицидное действие на испытуемые микроорганизмы и при 50% концентрации.

Литература. 1. Адарченко, А. А. Методика определения чувствительности-устойчивости бактерий к антисептикам : методические рекомендации / А. А. Адарченко, А. П. Красильников, О. П. Собещук. – Минск : МГМИ, 1989. – 20 с. 2. Касянчук, В. В. Некоторые особенности течения мастита у коров / В. В. Касянчук, В. М. Карташова // Ветеринария. – 1991. – № 8. – С. 40–42. 3. Микрофлора молока при остром течении мастита у коров / И. В. Гордеева [и др.] // Ветеринарная патология. – 2006. – № 1. – С. 21–25. 4. Патриков, А. В. Изучение взаимосвязи инфицированности коров вирусными инфекциями с патологией молочной железы / А. В. Патриков, Н. Т. Климов, О. Г. Новиков // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию БелНИИЭВ им. С.Н. Вышелесского,

Минск, 5-6 октября 2000 г. / БелНИИЭВ им. С. Н. Вышелесского. – Минск, 2000. – С. 117–119. 5. Порфирьев, И. А. Комплексная гинекологическая диспансеризация высокопродуктивных коров / И. А. Порфирьев // Ветеринария. – 2002. – № 12. – С. 33–37. 6. Рубцов, В. И. Мастит и воспроизводительная функция коров / В. И. Рубцов // Ветеринария. – 1980. – № 6. – С. 51–52. 7. Чернова, О. Л. Особенности микрофлоры и содержание лизоцима в молоке при мастите коров / О. Л. Чернова // Ветеринария. – 2001. – № 4. – С. 32–34. 8. Этиопатогенез и терапия мастита у коров / А. Н. Головкин [и др.] // Ветеринария. – 2001. – № 11. – С. 35–38. 9. Ятусевич, Д. С. Рекомендации по профилактике акушерской и гинекологической патологии у коров с применением ветеринарных гомеопатических препаратов / Д. С. Ятусевич, Р. Г. Кузьмич, В. Н. Иванов ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – 18 с.

Статья передана в печать 15.02.2017 г.

УДК 619:614.48 (476)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ ПРИ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЯХ

Левшенко А.В., Кузнецов Н.А., Таранда Н.И.

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

Композиция дезинфицирующего средства «ПАВ + четвертичное аммониевое соединение + гидроксид калия» в лабораторных условиях показала выраженный бактерицидный эффект в самой низкой тестируемой концентрации на культуры микроорганизмов, выделенных из технологических помещений для содержания родительского стада кур, что определило возможность использования ее в технологических схемах обработок на птицефабрике.

The composition of the disinfectant "SAS + quaternary ammonium + hydroxide potassium" in laboratory conditions demonstrated pronounced bactericidal effect in the lowest concentration tested on cultures of microorganisms isolated from processing premises for the poultry parent flocks that determined the possibility of using it in the technological schemes of treatments at the poultry farm.

Ключевые слова: микрофлора, дезсредства, родительское стадо, куры, лабораторные испытания.

Keywords: microorganisms, disinfectants, parent stock, chickens, laboratory test.

Введение. На современном этапе сельскохозяйственного производства промышленная технология выращивания племенной птицы, а также дальнейшее получение высококачественной и экологически чистой продукции в первую очередь должна быть направлена на использование профилактических и наиболее эффективных методов защиты от заболеваний различной этиологии – бактериальной, грибковой, вирусной [1].

Среди таких мероприятий ключевое значение занимает дезинфекция, целью которой является воздействие на комплекс повреждающих факторов и предупреждение возникновения заразных болезней. При этом обеспечивается интенсивность выращивания и поддерживается эпидемиологическое благополучие стада [4, 8].

В настоящее время оправданным является использование эффективных в отношении патогенной микрофлоры дезинфектантов и современных технологий применения дезинфицирующих средств.

Практика показывает, что нарушения в подборе дезинфицирующих препаратов, выборе методов и средств для проведения дезинфекции, отсутствие комплексного технологического подхода в проведении дезинфекционных мероприятий: проведение механической чистки и мойки помещений, влияет не только на износ технологического оборудования и металлических конструкций, но самое главное обуславливает возникновение устойчивых бактериальных и грибковых форм микроорганизмов.

Это определяет снижение уровня резистентности организма взрослой птицы к инфекциям, вызванным условно-патогенной микрофлорой на протяжении всего жизненного цикла. При этом возрастает процент массовой заболеваемости и падежа, что определяет потребность в ротации и замене используемых ранее дезинфицирующих средств, а также подбор новых дезсредств.

Вместе с тем неудовлетворительные в санитарном состоянии помещения для содержания родительского стада кур представляют собой потенциальную опасность. Это обусловлено увеличением давления микрофлоры на взрослую птицу, подходящую для ремонта стада, что может определять скрытое носительство полиэтиологических заболеваний, передающихся многими путями. При этом возрастает вероятность передачи патогенных агентов цыплятам, вывода их низкого качества и ранней выбраковки [1, 2, 9].

В связи с этим, актуальным является изучение микробного фона технологических помещений для содержания родительского стада кур 58 и 210 дней, микробиологическое испытание дезинфици-