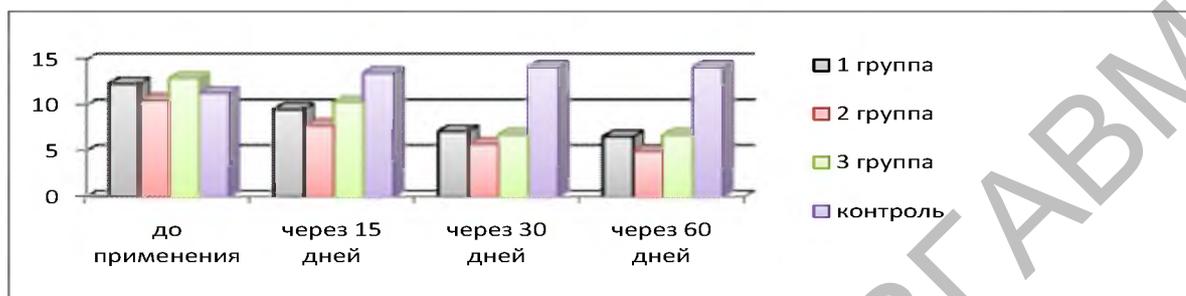


всем протяжении опыта. У животных опытных групп, начиная с 15-го дня опыта, наблюдается устойчивое снижение уровня эозинофилов по сравнению с контролем, особенно во второй группе.

Так, до введения препарата процент эозинофилов во второй группе составлял  $10,6 \pm 1,2$ , на 15-й день эксперимента -  $7,8 \pm 1,06$ , на 30-й день -  $5,8 \pm 0,86$ , а к концу эксперимента -  $5 \pm 0,32$ , что подтверждает эффективность действия оригинального препарата зверобоя продырявленного на фасциол и дикроцелий.

При расчете экономической эффективности видно, что использованные нами способы лечения фасциолезно-дикроцелиозной инвазии у крупного рогатого скота экономически эффективны. Применение препарата зверобоя продырявленного позволяет предотвратить ущерб в результате уменьшения заболеваемости животных. Экономический эффект лечебных мероприятий на 1 рубль затрат с применением оригинального препарата в терапевтической дозе, однократно составил 1,85 рублей.



**Рисунок 3 - Динамика эозинофилов крови крупного рогатого скота после применения препаратов зверобоя продырявленного**

**Заключение.** Таким образом, нами доказано влияние оригинального препарата зверобоя продырявленного на фасциол и дикроцелий у крупного рогатого скота.

Оригинальный препарат зверобоя продырявленного в терапевтической дозе показал стопроцентную экстенс- и интенсэффективность при лечении фасциолёза у коров. При лечении дикроцелиоза препарат зверобоя также показал стопроцентную экстенс- и интенсэффективность, при этом надо отметить, что его доза была в 2,5 раза выше, чем при лечении фасциолёза.

При применении оригинального препарата зверобоя продырявленного наблюдается нормализация количества эритроцитов и лейкоцитов, повышается содержание гемоглобина в организме коров, при этом наблюдается снижение уровня эозинофилов по сравнению с контролем.

Экономический эффект лечебных мероприятий на 1 рубль затрат с применением оригинального препарата в терапевтической дозе, однократно составил 1,85 рублей.

**Литература.** 1. Авдаченко, В.Д. Экономическая и терапевтическая эффективность препаратов зверобоя продырявленного / В.Д. Авдаченко, Е.О. Хрустова // Материалы III международной научно-практической конференции / УО БГСХА. – Горки, 2013 – С. 4-5. 2. Распространение гельминтозов крупного рогатого скота различных возрастных групп в некоторых районах Республики Беларусь / А. И. Ятусевич [и др.] // Животноводство и ветеринарная медицина. - 2012. - №1. - С. 51-54. 3. Атаев, А.М. Эколого-эпизоотологический анализ фасциолёза животных и совершенствование мер борьбы с ним в юго-восточном регионе Северного Кавказа : автореф. дис. ... д-ра вет. наук / А.М. Атаев. - 1990. -40 с. 4. Кишечные гельминтозы жвачных животных и их профилактика/ А.И.Ятусевич [и др.] // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2005. - № 1.- С 15-16. 5. Коляда, Е.Е. Эпизоотология и терапия фасциолёза и дикроцелиоза крупного рогатого скота в Среднем Поволжье : автореф. дис. ... канд. вет. наук / Е.Е. Коляда. - 2004. - 20 с. 6. Лекарственные растения в ветеринарии Ятусевич А.И., Толкач Н.Г., Вишневец Ж.В., Вербицкая Л.А., Авдаченко В.Д., Синяков М.П. Белорусское сельское хозяйство. 2008. №11. С.43-47. 7. Паразитарные зоонозы в Беларуси / Якубовский М.В. [и др.]// Эпизоотология. Иммунобиология. Фармакология. Санитария. – 2005. -№ 1.- С 3-11. 8. Потафеев, Н.Е. Исследования по биологии личиночных стадий *Fasciola hepatica* : автореф. дис. ...канд. биол. наук / Н.Е. Потафеев.- 1974.-22 с. 9. Теоретические и практические основы применения лекарственных растений при паразитарных болезнях животных/ А.И.Ятусевич [и др.] – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 90 с.

Статья передана в печать 04.09.2015 г.

УДК 619:616-097:579.843.95

#### АКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕННЫХ АНТИГЕНОВ ПАСТЕРЕЛЛ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ К НИМ СЫВОРОТОК

\*Андрусевич А.С., \*\*Курдеко А.П., \*Стрельчэня И.И.

\*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им.С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

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

В статье приведены результаты изучения антигенной структуры *Pasteurella multocida* серовариантов А, В, Д и определения специфичности пастереллезных сывороток.

The article contains results the study of the antigenic structure of *Pasteurella multocida* serotypes A, B, D, and the definition of the specificity of pasteurellosis sera.

**Ключевые слова:** пастерелла, антигены, сыворотки, сероварианты.  
**Keywords:** Pasteurella, antigens, sera, serotypes.

**Введение.** Одним из перспективных направлений в разработке биологических препаратов для диагностики и специфической профилактики пастереллёза является создание средств направленного действия путем включения в них иммунологически активных компонентов бактериальной клетки. Но одним из препятствий в реализации этого направления является недостаточная изученность биологических и особенно антигенных свойств пастерелл. Это касается, в первую очередь, поверхностных антигенов, играющих важную роль в патогенезе болезни. В связи с этим изучение антигенной структуры различных серовариантов пастерелл представляет как научный, так и практический интерес.

**Материалы и методы исследований.** Для изучения антигенной структуры исходных культур пастерелл готовили капсульные, комплексные и соматические антигены из каждого сероварианта, которые получали по Картеру, Хеддлестону и методом ультразвуковой дезинтеграции. Все антигены были исследованы на содержание общего белка и углеводов. Химический анализ включал определение содержания в препаратах водорастворимых антигенов пастерелл общего белка по Лоури и углеводов фенол-сернокислым методом [1, 2].

Токсичность полученных антигенов определяли в тесте летального эффекта на белых мышах весом 16 - 18 г путем внутривенного и внутрибрюшинного введений. Препараты в дозах по 0,5; 1; 5; 7; 8 и 10 мг разводили физиологическим раствором натрия хлорида в объеме 0,5 мл. Каждая доза испытывалась на 5 белых мышах, за которыми велось предварительное наблюдение в течение 3 дней [3].

Гипериммунные сыворотки к *Pasteurella multocida* серовариантам А, В и D получали путем иммунизации кроликов массой 2,5 – 3 кг. С этой целью нами была предложена следующая схема гипериммунизации, которая предусматривала предварительную двукратную грундинмунизацию кроликов с адьювантом (эмульсиген) в соотношении 30:70. Первое введение антигена проводили подкожно в дозе 0,5 см<sup>3</sup>, второе - по 0,5 см<sup>3</sup> подкожно и внутримышечно с интервалом 21 день. Затем этих животных иммунизировали в дозах 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 см<sup>3</sup> внутримышечно с интервалом 3 дня. Спустя 14 дней у животных брали кровь и получали гипериммунные сыворотки, которые лиофилизировали. Их специфичность и активность проверяли после раститровки в РИД с гомологичными и гетерологичными антигенами.

Реакцию иммунодиффузии ставили по Оухтерлони. Для этого готовили плоский слой 1%-ного агара Дифко (рН 8,6), или агарозы на стеклянных пластинах, или чашках Петри. Консервировали агар мертиолятом в разведении 1:10000. Для получения лунок использовали штамп диаметром 5 мм с расстоянием от центральной до периферической лунки 8 мм. При заполнении лунок заливали одинаковое количество реагентов. Закрытые чашки ставили во влажную камеру (экзикатор с водой), который помещали в термостат при температуре 37°С. Учет наличия линий преципитации проводили через 14 – 16 часов и заканчивали к 4 – 5-му дню.

**Результаты исследований.** Как видно из таблицы 1, выделенные антигены трех серовариантов пастерелл подобны по химическому составу между собой и представляют комплексы белково-углеводной природы.

**Таблица 1 – Содержание общего белка и углеводов в капсульных, соматических и комплексных антигенах *Pasteurella multocida*, выделенных от телят**

Серовариант	Содержание основных химических компонентов	Антиген		
		Капсульный	Соматический	Комплексный
А	Белок, мг/см <sup>3</sup>	0,288±0,097	0,135±0,039	0,457±0,091
	Углеводы, мг/см <sup>3</sup>	0,101±0,022	0,910±0,031	0,146±0,024*
В	Белок, мг/см <sup>3</sup>	0,275±0,078	0,145±0,022*	0,410±0,084*
	Углеводы, мг/см <sup>3</sup>	0,110±0,061*	0,841±0,014*	0,150±0,032
D	Белок, мг/см <sup>3</sup>	0,246±0,020*	0,127±0,011	0,420±0,080
	Углеводы, мг/см <sup>3</sup>	0,106±0,027	0,910±0,019	0,157±0,049

Примечание. \* - P<0,05.

Соотношение белка и углеводов составляет в них 1:2,7 - 1:3,1. Наибольшее содержание белка было в комплексных антигенах и составляло от 0,410 до 0,457 мг/см<sup>3</sup>. Особого различия в содержании белка между антигенами трех серовариантов не выявили, за исключением сероварианта А, в комплексном антигене количество которого составило 0,457 ± 0,091 мг/см<sup>3</sup>.

Соматический антиген, в отличие от капсульных и комплексных, значительно отличался по количественному составу углеводов, в которых углеводные компоненты в 5,8 - 7,1 раз превышали содержание белка.

Из представленных данных видно, что количественное содержание общего белка и углеводов различалось в антигенных комплексах и зависело от способа их получения. Наибольшее содержание общего белка было в комплексных и капсульных антигенах. Меньше всего его было в соматических антигенах. При этом следует отметить, что выявленная взаимосвязь зависела от способа получения антигена, но не от серовариантной принадлежности возбудителя. Следующим этапом работы было изучение серологической активности полученных антигенных комплексов в РИД, которую оценивали по

образованию количества линий преципитации и их расположению по отношению друг к другу, а также к лунке с антигеном.

В результате проведенных исследований мы установили, что комплексные антигены образовывали до 6 - 7 линий преципитации с гомологичными гипериммунными сыворотками (рисунок 1). В то же время в перекрестных реакциях с антисыворотками все изучаемые нами сероварианты образовывали феномен «шпор», что свидетельствует о неполной антигенной идентичности штаммов (рисунок 2).

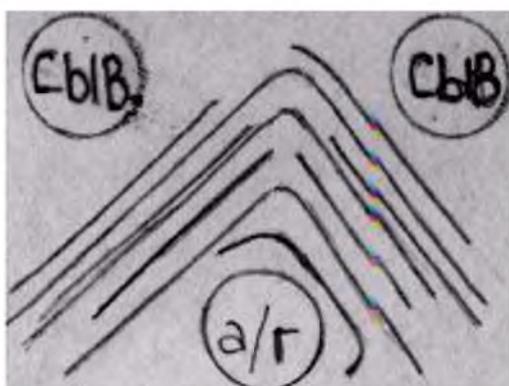


Рисунок 1 – Комплексный антиген с гомологичными сыворотками

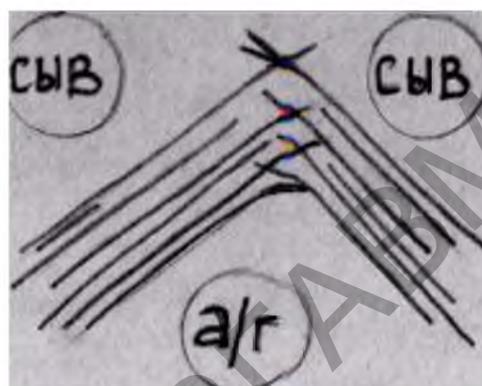


Рисунок 2 – Комплексный антиген с гетерологичными сыворотками

Капсульные антигены изучаемых серовариантов пастерелл с гомологичными гипериммунными сыворотками образовывали по две линии преципитации с расщеплением концевых участков дуг на 2 - 3 линии (рисунок 3).



Рисунок 3 – Капсульный антиген с гомологичными сыворотками

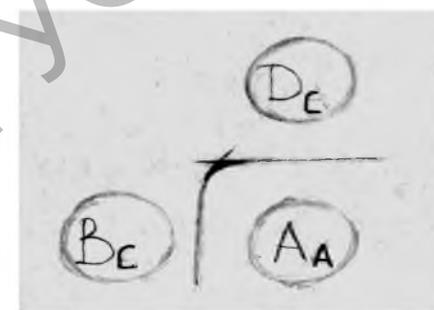


Рисунок 4 – Капсульный антиген с гетерологичными сыворотками

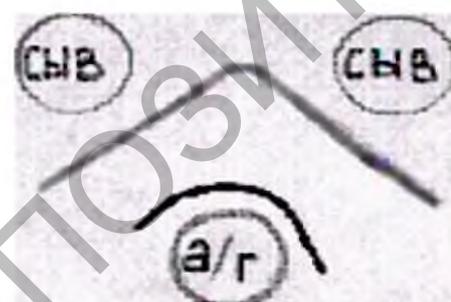


Рисунок 5 – Соматический антиген с гомологичными сыворотками

Предполагаем, что это обусловлено присутствием в капсульной фракции соматических антигенов, расположенных на поверхностных структурах микробной клетки. Это подтверждается тем, что когда в соседние лунки мы помещали соматические антигены различных серовариантов, наблюдали феномен неполной антигенной идентичности штаммов. При расположении в соседних лунках капсульных антигенов, имеющих родственные соматические антигены или один и тот же антиген, наблюдали слияние линий преципитации.

Исследуя капсульные антигены с гетерологичными антисыворотками, наблюдали феномен неполной антигенной идентичности

серовариантов А, В, D *Pasteurella multocida* (рисунок 4).

Соматические антигены изучаемых серовариантов пастерелл также образовывали с гомологичными сыворотками по две линии преципитации, но расположение их заметно отличалось от расположения у капсульных антигенов (рисунок 5).

Обе линии преципитации находились на значительном расстоянии друг от друга. Одна из дуг тонкая, отчетливо выраженная, находилась ближе к лунке с антигеном. Причем, когда в соседние лунки были помещены антигены, выделенные одним методом из разных серовариантов пастерелл, мы не обнаружили значительных различий и в большинстве случаев наблюдалось слияние линий преципитации. Это явление можно объяснить тем, что сероварианты, отличающиеся по соматическому антигену, расположенному на поверхности пастерелл, имеют также общие антигены, находящиеся в более глубоких ее слоях (рисунок 6). Результаты исследований РИД показали, что наиболее активными из всех изученных антигенов были капсульные антигены.

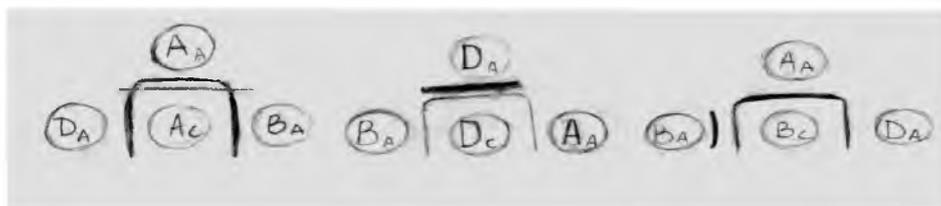


Рисунок 6 – Соматические антигены с гетерологичными сыворотками

Таким образом, капсульные, комплексные и соматические антигены имеют сложный состав и содержат несколько антигенных комплексов. Наиболее активными являются капсульные антигены.

Изучение токсических свойств капсульных и соматических пастереллезных антигенов проводили путем их введения внутривенно и внутрибрюшинно белым мышам. Большей токсичностью обладали соматические антигены сероварианта В в дозах 7,0 и 10,0 мг и серовариантов А и D в дозе 10 мг. При изучении токсичности соматических антигенов сероварианта В гибель животных отмечалась как при внутривенном, так и при внутрибрюшинном введениях. При введении этих антигенов внутривенно в меньших дозах у животных наблюдали тремор, продолжавшийся до 30 минут, с последующим угасанием этих явлений.

При внутривенном введении капсульных антигенов в дозе 7,0 мг видимых изменений в поведении животных отмечено не было. Доза антигена 10,0 мг при внутривенном введении вызывала гибель 20 - 40% животных в зависимости от сероварианта. Эти же антигены при внутрибрюшинном введении в аналогичных дозах не вызывали гибели белых мышей. Наблюдение за животными вели в течение 10 дней.

Таким образом, результаты исследований показали, что капсульные и соматические антигены *Pasteurella multocida* серовариантов А, В и D обладали слабой токсичностью, но тем не менее она была более выраженной у соматических антигенов.

Для точной идентификации пастерелл в серологических реакциях необходимо получение высокоспецифичных типоспецифических сывороток.

Основываясь на данных, полученных при изучении активности выделенных антигенов, установлено, что капсульные антигены обладают наибольшей активностью. Последующие исследования по получению гипериммунных сывороток были проведены с капсульным антигеном с целью разработки набора для идентификации серовариантов пастерелл в РНГА.

Определение специфичности пастереллезных сывороток проводили с референтными штаммами *Pasteurella multocida* серовариантов А - 1231, В - P15V91 и D - Т - 80, а также с сальмонеллезным моновалентным антигеном производства Витебской биофабрики и штаммом *Escherichia coli* O 18 (КМИЭВ - 18).

Результаты исследований показали, что полученные нами специфические пастереллезные сыворотки реагировали в РИД с соответствующими референтными штаммами *Pasteurella multocida* серовариантов А - 1231, В - P15V91 и D - Т-80 с образованием 1 линии преципитации. С сальмонеллезным моновалентным антигеном производства Витебской биофабрики и штаммом *Escherichia coli* O 18 (КМИЭВ - 18) образования линий преципитации отмечено не было.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика преципитирующей активности гипериммунных сывороток к разным серовариантам *Pasteurella multocida*

Капсульные антигены, полученные из серовариантов	Преципитирующая активность сыворотки к капсульному антигену для серовариантов			Преципитирующая активность сыворотки к цельноклеточным антигенам для серовариантов		
	А	В	Д	А	В	Д
А	0,3±0,01	0,037	0,01	0,44±0,19	0,057	0,02
В	0,016	0,55±0,17	0,02	0,08	0,61±0,23	0,04
Д	0,02	0,05	1,1±0,32	0,04	0,108	0,73±0,24

При сравнительной оценке преципитирующей активности сывороток к капсульному антигену *Pasteurella multocida* различных серовариантов установлено, что они характеризуются высокой антигенной активностью. Преципитирующая активность капсульного антигена пастерелл с гомологичными сыворотками к нему составляла в среднем 0,3±0,01; 0,55±0,17; 1,1±0,32, соответственно, для штаммов серовариантов А, В, D; с гомологичными сыворотками к цельным бактериальным клеткам - 0,44±0,19; 0,61±0,23; 0,73±0,24 (таблица 2). В гетерологической системе преципитирующая активность составила от 0,01 до 0,1. Это указывает на присутствие серологически родственных компонентов. При этом перекрестные связи выражены слабо.

**Заключение.** На основании результатов проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Капсульные, комплексные и соматические антигены изучаемых серовариантов пастерелл были идентичны по содержанию общего белка и углеводов, но различались по их количеству в зависимости от способа получения антигенов. В капсульных и комплексных антигенах количественное содержание общего белка значительно преобладало над углеводами, а в соматических антигенах углеводные компоненты в 6 - 7 раз превышали количество общего белка.

2. Капсульные, комплексные и соматические антигены пастерелл, относящиеся к различным серовариантам (А, В, D), имели сложный состав и содержали несколько антигенных комплексов. Однако наиболее серологически активными и менее токсичными являются капсульные антигены.

3. Предложенная схема гипериммунизации кроликов позволила получить высокоспецифические гипериммунные сыворотки к капсульному антигену пастерелл.

**Литература.** 1. Бовкун, Г. Ф. Биологические особенности и антигенная структура возбудителя пастереллеза: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03 / ВИЭВ. – М., 1977. – 19 с. 2. Бовкун, Г. Ф. Иммунохимическая характеристика антигенов возбудителя пастереллеза / Г. Ф. Бовкун // Ветеринария. – 1977. - № 7. – С. 44. 3. Куликова, А. Я. Токсичность капсульных антигенов *Pasteurella multocida* / А. Я. Куликова, Т. Е. Попова // Ветеринария. – 1995. - № 7. – С. 25 – 28.

Статья передана в печать 10.09.2015 г.

УДК 619:615.246.9

## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОГО ВОДНОГО РАСТВОРА НА ОСНОВЕ КАТОЛИТА ЩЕЛОЧНОГО

\*Брыло И.В., \*\*Белко А.А., \*\*Лях А.Л.

\*УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия», г. Горки, Республика Беларусь

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

*Изучены патоморфологические и гистологические изменения во внутренних органах лабораторных животных (белых крыс и мышей для определения токсико-фармакологических свойств препарата «Биостим» (электроактивированного водного раствора католита щелочного)).*

*In this article we studied pathological and histological changes of the internal organs of laboratory animals (white rats and mice to determine the toxicological and pharmacological properties of «Biosstim» drug (electroactivated water solution of alkaline catholyte)).*

**Ключевые слова:** токсичность, католит щелочной, микроскопия, препарат «Биостим», формалин, электролиз.

**Keywords:** toxicity, alkaline catholyte, microscopy, «Biosstim» drug, formalin, electrolysis.

**Введение.** Основа животноводства и его конкурентоспособность закладываются в пренатальной и постнатальной стадиях развития животных. Поэтому получение и выращивание здорового, жизнеспособного приплода является важнейшим элементом технологии производства продукции животноводства. При несоблюдении или несоответствии технологических условий животные вынуждены приспосабливаться к ним за счет повышения затрат энергии, ухудшения состояния здоровья, что в конечном итоге приводит к снижению устойчивости организма, заболеваниям, спаду продуктивности и перерасходу кормов на единицу получаемой продукции. Животные в неудовлетворительных условиях никогда не будут высокопродуктивными, даже если они происходят от высокопродуктивных родителей. Доказано, что телята, недоразвившиеся в пренатальный период, хуже усваивают питательные вещества корма в течение всей последующей жизни [1, 2, 6, 7].

Электрохимическая активация — способ получения растворов, обладающих различными физико-химическими свойствами, путем обработки воды или растворов солей в камерах электрохимического реактора. Продуктами электрохимических превращений являются растворы с повышенной реакционной способностью анолит, католит и гипохлорит натрия. Использование электроактивированных растворов в качестве лечебных средств позволит полностью уменьшить либо исключить расход дорогостоящих химических реагентов и одновременно увеличить эффективность процессов, для которых предназначены данные растворы.

Использование активации жидкостей позволит без применения химических реагентов изменять кислотно-основные, окислительно-восстановительные и каталитические свойства водных растворов [3].

Активность электрохимически активированных растворов намного выше за счет наличия высокоактивных соединений - продуктов электрохимических реакций, т.е. реакций, протекающих на электродах. Чем меньше минерализация исходного раствора, тем больше активных соединений образуется в реакторе, тем глубже структурные изменения раствора, тем сильнее он активирован. Наоборот, чем минерализация исходного раствора выше, тем больше образуется в электрохимическом реакторе устойчивых продуктов и тем ближе по свойствам электрохимически активные растворы к растворам кислот или щелочей.

В зависимости от режима электрохимического воздействия и содержания в исходном растворе хлористого натрия рН католита обычно колеблется от 7 до 12, рН анолита - от 2 до 7, натрия гипохлорита - рН 7,4—8,2. Окислительно-восстановительный потенциал, характеризующий окислительно-восстановительные способности компонентов активированных растворов, изменяется в довольно широких пределах (у католита - от 200 до 850 мВ, а у анолита - от 400 до 1200 мВ) [4].