



RS Global

INTERNATIONAL

Scientific and Practical CONFERENCE

.....

International Trends in Science and Technology

Proceedings of the IX International Scientific and Practical Conference

International Trends in Science and Technology

**Vol.3, January 31, 2019,
Warsaw, Poland**

Copies may be made only from legally acquired originals.
A single copy of one article per issue may be downloaded for personal use (non-commercial research or private study). Downloading or printing multiple copies is not permitted. Electronic Storage or Usage Permission of the Publisher is required to store or use electronically any material contained in this work, including any chapter or part of a chapter. Permission of the Publisher is required for all other derivative works, including compilations and translations. Except as outlined above, no part of this work may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means without prior written permission of the Publisher.

ISBN 978-83-952507-4-3

© RS Global Sp. z O.O.;
© The Authors

**RS Global Sp. z O.O.
Warsaw, Poland
2019**

Founder:
RS Global Sp.z O.O.,

Research and Scientific
Group
Warsaw, Poland

**Publisher Office's
address:**

Dolna 17, lok. A_02
Warsaw, Poland,
00-773

E-mail:
rsglobal.poland@gmail.com

The authors are fully
responsible for the facts
mentioned in the articles.
The opinions of the authors
may not always coincide
with the editorial boards
point of view and impose
no obligations on it.

CONTENTS

VETERINARY SCIENCE

Бияшев Б. К., Киркимбаева Ж. С., Сарыбаева Д. А., Алтенов А. Е., Шаяхмет Е. Б. ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЭМЕРДЖЕНТНЫМ ИНФЕКЦИЯМ В КАЗАХСТАНЕ.....	3
Бияшев Б. К., Киркимбаева Ж. С., Ермагамбетова С. Е., Макбуз А. Ж., Сарыбаева Д. А. СКРИНИНГ ЭМЕРДЖЕНТНЫХ ПАТОГЕНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ЖИВОТНЫХ, ПТИЦ, ИЗ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ..	7
Булегенова М. Д., Жолдасбекова А. Е., Джанабекова Г. К., Кулпыбай Е. Е., Шаяхмет Е. Б. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ, УРОВНЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЕЛЧИ И СОЛЯНОЙ КИСЛОТЕ ПРЕПАРАТА «АНТАКОН».....	10
Бияшев К. Б., Бабалиев С. У., Жуманов К. Т., Кошкимбаев С. С., Жолдасбекова А. Е. ЭТИОЛОГИЯ ОТЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПОРОСЯТ.....	15
Бияшев К. Б., Макбуз А. Ж., Киркимбаева Ж. С., Орынтаев К., Сарыбаева Д. А. ЭТИОЛОГИЯ ЛИМФАНГОИТА.....	18
Бияшев К. Б., Макбуз А. Ж., Бияшев Б. К., Киркимбаева Ж. С., Ермагамбетова С. Е. ИММУНОПРОФИЛАКТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И ЭШЕРИХИОЗА ЖИВОТНЫХ.....	20
Булегенова М. Д., Жолдасбекова А. Е., Ермагамбетова С. Е., Кулпыбай Е. Е., Алтенов А. Е. СПОСОБНОСТЬ ШТАММА E. COLI 64, ИСПОЛЬЗУЕМОГО ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА «АНТАКОН», К АДГЕЗИИ НА ЭПИТЕЛИИ И ПРОЖИВАНИЮ В КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ.....	23
Жылкайдар А. Ж., Бияшев К. Б., Ермагамбетова С. Е., Жуманов К. Т., Кошкимбаев С. С. ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МАСТИТОВ У КОРОВ.....	26
Жылкайдар А. Ж., Кошкимбаев С. С., Алтенов А. Е., Кулпыбай Е. Е., Шаяхмет Е. Б. ИДЕНТИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КОРОВ БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ.....	29
Киркимбаева Ж. С., Бияшев Б. К., Ермагамбетова С. Е., Жолдасбекова А. Е., Жуманов К. Т. ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЛЕПТОСПИРОЗУ ЖИВОТНЫХ В КАЗАХСТАНЕ.....	33

PHARMACY

Гала Л. А. АНАЛИЗ ЗАРУБЕЖНОГО ОПЫТА ДЕЯТЕЛЬНОСТИ АПТЕК ПО СБОРУ И ХРАНЕНИЮ ЛЕКАРСТВ, НЕ ПОДЛЕЖАЩИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В ПРОЦЕССЕ ОКАЗАНИЯ НАСЕЛЕНИЮ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ, В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ НАДЛЕЖАЩЕЙ АПТЕЧНОЙ ПРАКТИКИ.....	37
Карпюк У. В., Чолак І. С., Ємельянова О. І., Кисличенко В. С. ДОСЛІДЖЕННЯ МЕЛАНІНУ ШКІРКИ НАСІННЯ ГІРКОКАШТАНА ЗВИЧАЙНОГО.....	41
Дмитро Харченко, Сергій Мерзлікін, Тетяна Кучер ЩОДО ПИТАННЯ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ПОХІДНИХ СУЛЬФОНІЛСЕЧОВИНИ.....	43

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЭМЕРДЖЕНТНЫМ ИНФЕКЦИЯМ В КАЗАХСТАНЕ

д.в.н., профессор **Бияшев Биржан Кадырович**,
д.в.н., профессор **Киркимбаева Жумагуль Слямбековна**,
PhD **Сарыбаева Динара Амангельдиевна**,
магистр ассистент **Алтенев Абдиразак Еркинович**,
ассистент магистр **Шаяхмет Ерсұлтан Бакытович**

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. Ensuring microbiological safety of food products is one of the priority tasks, the solution of which is directly aimed at protecting public health. All over the world, this problem is of particular relevance due to the increasing number of diseases transmitted through food.

The growing concern of the world community about the microbiological safety of food has led to the emergence of the concept of “emerging food infections”, according to which they are considered not only in medical and genetic aspects but also taking into account environmental and technological factors. factors that can decipher the structure of the incidence and predict the emergence of new pathogens. These diseases, especially food zoonoses, are the most epidemiologically significant and cause great socio-economic damage.

Keywords: emergent infections, cultures, animals, foods.

Введение. Вопросы обеспечения производства и реализации безопасных продуктов питания занимают приоритетное место в жизни общества и имеют большое социальное значение, так как от их качества и безопасности зависит наше здоровье.

Производство продуктов питания, соответствующих современным гигиеническим требованиям качества и безопасности, предполагает всестороннюю комплексную оценку факторов, воздействующих на здоровье человека, наиболее значимым из которых на современном этапе является микробное загрязнение пищевых продуктов возбудителями, так называемых эмерджентных инфекций с пищевым путем передачи [1].

О важности проблемы питания говорит тот факт, что в нашей республике с 1 января 2008 года вступил в силу вновь принятый Закон Республики Казахстан «О безопасности пищевой продукции». Закон устанавливает правовые основы обеспечения безопасности пищевой продукции для защиты жизни и здоровья человека, законных интересов потребителей и охраны окружающей среды на территории Республики Казахстан [2].

Они нашли свое отражение и в концепции «Анализ риска и критические контрольные точки (ХАССП), рекомендованной ФАО, ВОЗ, Международной комиссией по микробиологической спецификации пищевой продукции и комиссией «Кодекс Алиментариус» [3].

Практика показывает, что существующая в настоящее время санитарно-эпидемиологического контроля продовольственного сырья и готовой продукции, так называемый «золотой стандарт» классической микробиологии – метод прямого культивирования микроорганизмов с дальнейшим изучением фенотипических свойств (тинкторальных, морфологических, культуральных и биохимических) не позволяет оценить качество и безопасность пищевых продуктов.

Современные подходы к организации системы обеспечения безопасности пищевых продуктов требуют детального изучения эпизоотической и эпидемиологической ситуации по эмерджентным инфекциям, выявления экологических особенностей возбудителей эмерджентных инфекций, закономерностями их распространения, источников выделения, уровень контаминации животного сырья и пищевых продуктов, степень риска даже при соблюдении технологических режимов производства и хранения пищевой продукции, исследования особенностей новых патогенов, биохимических и генетических механизмов их вирулентности, а также регулирующей роли технологических факторов в условиях рыночного производства. Необходимо разорвать сложную эпизоотическую цепь при эмерджентной инфекции и до минимума снизить возможность попадания возбудителя в пищевые продукты животного происхождения и окружающую среду.

Особую опасность представляют пищевые продукты из мяса животных вынужденного убоя с нераспознанным заболеванием. Появлению возбудителей эмерджентных пищевых зоонозов в

продуктах способствуют современные технологии: мягкая термообработка, микроволновые нагревания, пастеризация в потоке, химическое консервирование, применение добавок типа наполнителей, загустителей и эмульгаторов, без дополнительных термических обработок.

Бактериальная контаминация возбудителя пищевых зоонозов происходит вдоль всей пищевой цепи (от кормов для убойных животных и до потребителей).

Некоторыми исследователями установлено, что частота высеваемости возбудителей пищевых зоонозов у животных соответствует частоте обнаружения этих сероваров у людей. Это доказывает, что эпидемиологическая обстановка, зачастую, отражает эпизоотологическую ситуацию и наоборот [4].

Расширение международной торговли животными и продукцией животного происхождения, изменения окружающей среды, приводящие к появлению новых свойств у патогенных микроорганизмов, развитие интенсивных технологий убоя, переработки и хранения, расширение сети общественного питания, являются основными факторами, способствующими распространению пищевых инфекций и интоксикаций, включая и эмерджентные пищевые зоонозы.

Все это ставит новые задачи, в частности перед ветеринарной наукой и практикой, направленные на повышение эффективности ветеринарно-санитарной экспертизы.

Результаты исследования. Работа выполнялась с применением методик, используемых в международной научной практике и постоянно совершенствовалась за счет патентно-информационных проработок.

С целью изучения распространения возбудителей эмерджентных инфекций и этиологии пищевых отравлений материалом для бактериологического исследования служили различные органы (печень, селезенка, легкие, лимфатические узлы) взятых от здоровых и вынужденно убитых животных, пробы сырого мяса и мясных продуктов, молоко и молочные продукты, куриные яйца, пробы рыбы и другие продукты.

Первичный отбор культур будет проводится на основании особенностей роста на средах и микроскопии препаратов из отдельных колоний.

У культур изучены морфологические, культуральные, биохимические свойства по общепринятым схемам (Н.И. Розанов, 1952). Идентификацию выделенных эмерджентных патогенов проводили по определителю Бержи [5].

Для изучения свойств различных видов эмерджентных патогенов использовали современные сертифицированные и стандартизированные биохимические, микробиологические, молекулярно-биологические исследования.

Для математической обработки результатов будут использованы стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок.

Научные исследования по проекту проводились в научно-диагностической лаборатории Казахстанско-Японского инновационного центра, в лаборатории кафедры микробиологии и вирусологии Казахского национального аграрного университета

Отдельные этапы экспериментальных работ выполнены в творческом сотрудничестве с лабораториями Государственного-исследовательского института в г. Белосток (Польша) и Латвийского аграрного университета (Рига), НИИ микробиологии и вирусологии МО и Н РК.

В лаборатории кафедры имеется музей штаммов микроорганизмов. Опыты на сельскохозяйственных животных проводились в различных хозяйствах Республики Казахстан.

Метрологический контроль приборов и лабораторного оборудования обеспечивались в соответствии с требованиями Госстандарта РК в установленном нормативными документами порядке.

Проведенный нами эпизоотологический и эпидемический анализ распространенности эмерджентных патогенов среди животных, пищевых продуктов и объектов окружающей среды за последние пять лет свидетельствуют о ежегодных широком распространении эмерджентных патогенов, как среди животных, так и среди людей.

С целью определения степени распространения возбудителей эмерджентных инфекций проведено обследование более 1635 голов животных (545- крупный рогатый скот, 460- овцы, 220- свиньи, 150- лошади, 260 – домашних птиц) в ряде хозяйств из различных регионов Казахстана. Для бактериологического исследования взяты различные органы от здоровых и вынужденно убитых животных.

В результате проведенных исследований органов от здоровых и вынужденно убитых животных нами выделены и идентифицированы 185 культур *Salmonella*, 85 - *Escherichia*, 58 - *Listeria*, 19 - *Yersinia*, 29 - *Campylobacter*, 62 - *Staphylococcus* и 18 - *Clostridium*, способные в определенных условиях вызывать эмерджентные пищевые инфекции и токсикоинфекции (Таб.1).

Таблица 1. Варианты культур, выделенных у сельскохозяйственных животных и птиц

Вид животного	Обследовано голов	Вид выделенных культур							Всего выделено
		Сальмонеллы	эшерихии	листерии	иерсиний	Кампилобактерии	стафилококки	клостридии	
Крупный рогатый скот	545	72	38	16	1	1	26	4	158
Мелкий рогатый скот	460	33	12	18	1	-	15	7	86
Свиньи	220	36	14	12	4	11	15	4	96
Лошади	150	6	4	-	-	-	-	-	10
Домашние птицы	260	38	17	12	-	17	19	3	106
Всего обследовано животных	1635	185	85	58	6	29	75	18	456

В реализации задач, стоящих перед органами ветеринарии и здравоохранения по предупреждению кишечных заболеваний важную роль играет контроль за пищевыми продуктами объектами окружающей среды.

Исследованию подвергнуты 250 проб сырого мяса и мясных продуктов, взятых на скотобойне при проведении ветеринарной экспертизы: 100 проб рыбы и 100 яиц, взятых на рынке; 250 проб фляжного молока и сливок, взятого непосредственно на молочной ферме, 50 проб различного корма, 20 проб смывов с доильных аппаратов, 20 проб смывов с рук работников (доярок) животноводческого комплекса.

В результате проведенных исследований пищевых продуктов и объектов окружающей среды были выделены и идентифицированы 315 культур *Salmonella*, 159 - *Escherichia*, 48 - *Listeria*, 5 - *Yersinia*, 12 - *Campylobacter* и 138 - *Staphylococcus*. Результаты исследований показали, что наибольшее распространение возбудителей эмерджентных пищевых патогенов наблюдалось в мясе птиц (38%), в мясе и мясных продуктах (36%) и молочных продуктах (31%). Эмерджентные патогены обнаружены в смывах с оборудования, рук работающих и кормов (Таб.2).

Обнаружение эмерджентных патогенов в пищевых продуктах, на руках, работающих – прямое показание для организации и проведения целенаправленных комплексных мероприятий по пресечению путей передачи возбудителя как на объектах, так и в животноводческих комплексах – поставщиках продукции.

Таблица 2. Варианты культур, выделенных их пищевых продуктов и объектов окружающей среды

Вид объекта	Обследовано проб	Вид выделенных культур						Всего выделено
		Сальмонеллы	эшерихии	листерии	иерсиний	кампилобактерии	стафилококки	
Мясо и мясные продукты	250	91(36%)	35(14%)	12(5%)	1(3%)	7(3%)	21(8,4%)	167
Молочные продукты	250	77(31%)	40(16%)	12(5%)	1 (2%)	5(2%)	74(29,6%)	209
Мясо птиц	250	95(38%)	60(24%)	20(8%)	--	-	17(7%)	192
Яйцо (содержимое и смывы)	100	30(30%)	15(15%)	3(3%)	1(1%)	--	12(12%)	61
Мясо рыбы	100	6(6%)	-	-	1(1%)	-	1(1%)	8
Корма	50	7(14%)	4(8%)	1(2%)	1(2%)	-	-	13
Смывы доильных аппаратов	20	4(20%)	3(15%)	-	-	-	6(30%)	13
Смывы рук работников	20	5(25%)	2(10%)	-	-	-	7(35%)	14
Всего обследовано проб	790	315	159	48	5	12	138	677

Выводы. Таким образом, при бактериологическом исследовании материалов от здоровых и вынужденно убитых сельскохозяйственных животных и птиц, а также от пищевых продуктов и объектов окружающей среды было выделено 500 культур *сальмонелл*, из них от животных и птиц -185 и 315 – из пищевых продуктов и объектов окружающей среды; 244 - *эшерихии*, из них от животных и птиц -85 и 159 – из пищевых продуктов и объектов окружающей среды; 106 - *листерии*, из них от животных и птиц -58 и 48 – из пищевых продуктов и объектов окружающей среды; 24 - *иерсинии*, из них от животных и птиц -19 и 5 – из пищевых продуктов и объектов окружающей среды; 41 – *кампилобактер*, из них от животных и птиц - 29 и 12 – из пищевых продуктов и объектов окружающей среды; 213 - *стафилококки*, из них от животных и птиц -75 и 138 – из пищевых продуктов и объектов окружающей среды; 18 - *кlostридий*, все они были выделены от животных и птиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO Consultation on Selected Emerging Foodborne Diseases. Berlin, 20-24 March, 1995, WHO/CDS/VPH/95.147.
2. Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической ситуации в Республике Казахстан в 2003 году», Алматы, 2003, С. 115-117.
3. Галынкин В.А., Заикина Н.А., Карцев В.В., Шевелева С.А., Белова Л.В., Пушкарев А.А. Микробиологические основы ХАССП при производстве пищевых продуктов. //СПб, «Перспектив науки», 2007, 288 с.
4. Куликовский А.В. Эмерджентные пищевые зоонозы. //М., 2004, 174 с
5. Определитель бактерий Бержи. //под ред. Дж. Хоулта и др. 9-е издание. М., Мир, 1997, 800 с.

СКРИНИНГ ЭМЕРДЖЕНТНЫХ ПАТОГЕНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ЖИВОТНЫХ, ПТИЦ, ИЗ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Профессор *Бияшев Биржан Кадырович*,
Профессор *Киркимбаева Жумагуль Слямбековна*,
Профессор *Ермагамбетова Светлана Емелсовна*,
Профессор *Макбуз Аманжол Жасбилимович*,
PhD – доктор *Сарыбаева Динара Амангельдиевна*

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. Food production that meets modern hygienic requirements for quality and safety implies a comprehensive assessment of factors affecting human health, the most significant of which at the present stage is microbial contamination of food by pathogens, the so-called emergent infections with food transmission.

The results of a study on screening emergent pathogens isolated from farm animals, birds, from animal products and from environmental objects are presented.

Keywords: animals, food, pathogens, environment, emergent pathogens.

Введение. Производство продуктов питания, соответствующих современным гигиеническим требованиям качества и безопасности, предполагает всестороннюю комплексную оценку факторов, воздействующих на здоровье человека, наиболее значимым из которых на современном этапе является микробное загрязнение пищевых продуктов возбудителями так называемых эмерджентных инфекций с пищевым путем передачи [6, 7].

По литературным данным известно, что около 200 болезней, передаются через пищевые продукты. В настоящее время насчитывается 18 видов бактерий, 26 видов паразитов, включая простейших, 9 групп вирусов, 4 группы биотоксинов, 9 групп химических веществ, 3 группы биологически - активных веществ, различные токсичные растения, грибы, пищевые добавки и т.д., которые могут вызывать пищевые отравления человека [8, 9].

Главными факторами передачи возбудителя эмерджентных инфекций являются продукты животного происхождения (мясные и молочные), которые часто обсеменены микроорганизмами, вызывающими пищевые зоонозы. Зоонозные болезни наносят большой экономический урон из-за потери продуктивности животных (мяса, молока, яиц), падежа, затрат на ветеринарный осмотр, микробиологические исследования, карантин, организацию транспортировки и убой больных животных, выбраковки мяса, дезинфекцию, защиту персонала и окружающей среды [10, 11, 12, 13].

Особую опасность представляют пищевые продукты из мяса животных вынужденного убоя с нераспознанным заболеванием. Появлению возбудителей эмерджентных пищевых зоонозов в продуктах способствуют современные технологии: мягкая термообработка, микроволновые нагревания, пастеризация в потоке, химическое консервирование, применение добавок типа наполнителей, загустителей и эмульгаторов, без дополнительных термических обработок [14].

Бактериальная контаминация возбудителя пищевых зоонозов происходит вдоль всей пищевой цепи (от кормов для убойных животных и до потребителей продукции).

Международные организации (Всемирная Организация здравоохранения (ВОЗ), Продовольственная и сельскохозяйственная организация (ФАО), которые координируют проблемы пищевых эмерджентных инфекций, относят к числу наиболее важных эмерджентных патогенов представителей следующих родов *Salmonella*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Enterobacter*, *Listeria*, *Yersinia*, *Staphylococcus*, *Clostridium* и другие микроорганизмы, способные в определенных условиях вызывать эмерджентные пищевые токсикоинфекции [15].

Экономическая и социальная структура производства многих отраслей пищевой промышленности существенно изменилась. Изменение формы собственности, самостоятельности предприятий, развитие рыночных отношений – все это требует нового подхода в организации

производства и новых нормативных документов, устанавливающих требования к качеству продукции, а также к условиям хранения, транспортировки и реализации продуктов питания.

Результаты исследования. Задачей наших исследований явилось скрининг эмерджентных патогенов, выделенных у сельскохозяйственных животных, птиц, из продуктов животного происхождения и из объектов окружающей среды, с использованием традиционных методов бактериологического и биохимического анализа, позволяющих проводить выявление и видовую дифференциацию выделенных штаммов путем оценки ключевых фенотипических свойств микроорганизмов.

От животных и птиц, от продуктов животного происхождения и объектов окружающей среды было выделено 500 культур сальмонелл. Этиологическая структура сальмонеллезов представлены серологическими вариантами 4 групп: В – 34,2, С – 10,5, D – 54,4 и Е – 0,9 %. Культуры относились к 9 различным серовариантам.

Результаты исследований показали, что наиболее часто выделяемые серовары сальмонелл у животных и птиц, в продуктах животного происхождения и объектах окружающей среды были *S.typhimurium* (26,7%), *S.dublin* (22,4%), *S.enteritidis* (24,5%), *S.gallinarum* (20,5%), *S.choleraesuis* (10,0%).

На первом месте по зараженности приходится на мясо птиц, затем мясо и мясные продукты и молочные продукты.

Распространенность и частота выделения наиболее важных серотипов сальмонелл характеризуются эпидемиологически значимыми показателями, достигая в молоке – сырье 8,1%, в говядине и птице продуктах – 20 – 30%.

Обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах, в смывах с оборудования, в смывах рук работающих – прямое показание для организации и проведения целенаправленных комплексных мероприятий по пресечению путей передачи возбудителя как на объектах, так и на животноводческих комплексах (крестьянское хозяйство, ТОО и др.) – поставщиках продукции. Инфицированность кормов в основном связано с грызунами, населяющих сено-зернохранилище, что способствовало распространению сальмонеллезов среди сельскохозяйственных животных и птиц.

Птицы и животные – бактерионосители являются основным резервуаром большинства серотипов сальмонелл. Наиболее часто из кишечника домашней птицы выделяют *S.enteritidis*, которые адаптированы к организму кур. Серотип *S.enteritidis* в основном также ассоциируется с домашней птицей, но, кроме того, этот вид сальмонелл выделяют из кишечника крупного рогатого скота и свиней.

При бактериологическом исследовании материалов от здоровых и вынужденно убитых сельскохозяйственных животных и птиц, а также от пищевых продуктов и объектов окружающей среды было выделено 244 культуры эшерихий. При типировании, культуры эшерихий, выделенные у животных, в продуктах животного происхождения и в объектах окружающей среды, были отнесены к следующим серогруппам: 08, 09, 015, 020, 026, 055, 078, 086, 0101, 0103, 0111, 0115, 0117, 0119, 0137, 0138, 0139, 0141, 0142, 0147, 0119 и обладали адгезивными антигенами: К-99 (42,4%), а К-88 (28,5%), F-41 (14,8%). исследуемые культуры эшерихий продуцировали гемотоксин 36 (87,3%), из них бета-гемотоксин 77,8%, альфа-гемотоксин – 10,5 %, дельта-гемотоксин – 1,1%,

Эшерихии чаще обнаруживались в мясе птиц (29,8%), в молочных продуктах (30,1%) и в яйцах (26,4%). Штаммы *E.coli* характеризовались высокой степенью патогенности, что подтверждалось наличием одного или нескольких факторов агрессии (токсинообразование (79,5%), наличием адгезинов (74,4%), антибиотикорезистентность (42,3%). 4 штамма были отнесены к патогенной серогруппе 0157, из них 3 – культуры были выделены из мяса птиц, 1 – из свежего молока, взятого на ферме молочного хозяйства.

От животных, из продуктов животного происхождения и объектов окружающей среды было выделено 213 культур стафилококков, из них 151 культура отнесены к *Staph. aureus*, 31 – *Staph. albus*, 31 – *Staph. saprophyticus*. Проведенный анализ позволил обобщить новые данные о номенклатуре, классификации и свойствах обнаруживаемых штаммов стафилококков и расширенном спектре продуцируемых стафилококковых энтеротоксинов, которые в свете новых взглядов на экологию и эволюцию патогенов могут рассматриваться как возбудители эмерджентных пищевых токсикозов.

Нами от здоровых и вынужденно убитых сельскохозяйственных животных и птиц, от продуктов животного происхождения и объектов окружающей среды было выделено 19

культур *Yersinia enterocolitica*; 41 культура кампилобактер, из них 18 культур *C.fetus* (*Vibrio fetus*) и 23 *C.jejuni*; 18 культур клостридии, из них 15 культур отнесены *Cl.perfringens* и 3 *Cl.botulinum*. Биологические свойства выделенных культур изучали по культуральным, биохимическим, антигенным свойствам.

Установлена взаимосвязь этих возбудителей в возникновении кишечных инфекций в животноводческих хозяйствах и гастроэнтеритами человека. В связи с этим, экспертный комитет ВОЗ по безопасности пищевых продуктов включил в 1982 году вышеуказанных бактерий в официальный список возбудителей пищевых токсикоинфекций.

Выводы. Результаты исследований показали, что наиболее часто выделяемые серовары сальмонелл у животных и птиц, в продуктах животного происхождения и объектах окружающей среды были *S.typhimurium* (26,7%), *S.dublin* (22,4%), *S.enteritidis* (24,5%), *S.gallinarum* (20,5%), *S.choleraesuis* (10,0%). Распространенность и частота выделения наиболее важных серотипов сальмонелл характеризуются эпидемиологически значимыми показателями, достигая в молоке - сырье 8,1%, в говядине и птице продуктах - 20 - 30%.

Эшерихии чаще обнаруживались в мясе птиц (29,8%), в молочных продуктах (30,1%) и в яйцах (26,4%). Штаммы *E.coli* характеризовались высокой степенью патогенности, что подтверждалось наличием одного или нескольких факторов агрессии (токсинообразование (79,5%), наличием адгезинов (74,4%), антибиотикорезистентность (42,3%). 4 штамма были отнесены к патогенной серогруппе 0157, из них 3 - культуры были выделены из мяса птиц, 1- из свежего молока, взятого на ферме молочного хозяйства.

От здоровых и вынужденно убитых сельскохозяйственных животных и птиц, от продуктов животного происхождения и объектов окружающей среды было выделено 213 культур стафилококков, из них 151 культура отнесены к *Staph. aureus*, 31 - *Staph. albus*, 31 - *Staph. saprophyticus*; 19 - *Yersinia enterocolitica*; 41 - кампилобактер, из них 18 культур *C.fetus* (*Vibrio fetus*) и 23 *C.jejuni*; 18 - клостридии, из них 15 культур отнесены *Cl.perfringens* и 3 *Cl.botulinum*. Биологические свойства выделенных культур изучали по культуральным, биохимическим, антигенным свойствам.

Установлена взаимосвязь этих возбудителей в возникновении кишечных инфекций в животноводческих хозяйствах и гастроэнтеритами человека. В связи с этим, экспертный комитет ВОЗ по безопасности пищевых продуктов включил в 1982 году вышеуказанных бактерий в официальный список возбудителей пищевых токсикоинфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тутельян В.А., С.А. Шевелева, Н.Р. Ефимочкина. 8-й доклад Программы ВОЗ по контролю за пищевыми инфекциями и интоксикациями в Европе за 1999-2000 гг. Раздел: Российская Федерация. /FAO/WHO.- Берлин, 2003.
2. Куликовский А.В. Эмерджентные пищевые зоонозы. -М., 2004. - 174 с.
3. Шевелева С.А., Ефимочкина Н.Р. Анализ микробиологического риска как основа для совершенствования системы оценки безопасности и контроля пищевых продуктов. //Мат. X Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей. - М., 2007. -С.21-24.
4. Бухарин О.В. Инфекция – модельная система ассоциативного симбиоза. //ЖМЭИ. – 2009. - № 1. -С. 83-86.
5. Солодовников Ю.П., Иваненко А.В., Ефремова Н.Б. и др. Ускоренная эпидемиологическая диагностика вспышек и эпидемий пищевых отравлений бактериальной природы: кишечные пищевые токсикоинфекции и интоксикации. //ЖМЭИ. – 2009. - № 3. -С. 119-122.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ, УРОВНЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЕЛЧИ И СОЛЯНОЙ КИСЛОТЕ ПРЕПАРАТА «АНТАКОН»

PhD – докторант *Булегенова Мадина Джумагуловна*,
PhD – доктор *Жолдасбекова Асель Еркинбековна*,
Профессор *Джанабекова Гулмира Кумискалиевна*,
Ассистент магистр *Кулпыбай Ермек Ержанович*,
Ассистент магистр *Шаяхмет Ерсұлтан Бакытович*,

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. Intensification of livestock has led to the accelerated development of the industry of microbiological and chemical synthesis for the production of feed vitamins, amino acids, macro- and microelements, enzymes, antibiotics, biologically active substances. Currently, the veterinary service has a sufficient number of domestic and imported probiotic preparations of various species, intended for the prevention of gastrointestinal diseases of young animals and birds. However, monitoring the market for probiotics shows that the vast majority of developments are not in demand by practice. This is due, apparently, to insufficient knowledge of these drugs, unsuccessful selection of their bacterial strains. This article presents data on the determination of the spectrum of antagonistic activity, the level of resistance to bile and hydrochloric acid of the Antakon probiotic preparation.

Keywords: probiotic, strain, antagonistic activity, bile, hydrochloric acid.

Введение. Проблема полноценного кормления сельскохозяйственных животных в последние годы в связи с интенсификацией животноводства приобретает все большее значение. Доказано, что важно не только удовлетворение потребности животных в основных факторах питания, но и соотношение в рационе отдельных питательных веществ (сахаро-протеиновое, энерго-протеиновое, кислотно-щелочное), отсутствие в кормах антипитательных и токсических веществ.

Опыт организации кормления животных в условиях промышленной технологии показал, что обеспечить высший уровень полноценности кормления вообще невозможно без применения комплекса биологически активных веществ. Таким образом, интенсификация животноводства привела к ускоренному развитию промышленности микробиологического и химического синтеза по производству кормовых витаминов, аминокислот, макро- и микроэлементов, ферментов, антибиотиков, биологически активных веществ.

Производство биологически активных веществ должно опираться на научные исследования методов их применения, контроль за качеством животноводческой продукции и последствием. Определяя потребность животного в том или ином биологически активном веществе, одновременно следует устанавливать сочетаемость этого вещества с другими препаратами и на основании данных об их взаимодействии судить, о потребности организма.

В последние годы в условиях промышленного птицеводства значительно усилилась техногенная и антропогенная нагрузка на организм птицы, вследствие чего нарушаются процессы саморегуляции между основными представителями кишечного биоценоза, усиливается изменчивость бактерий и вирусов, быстро развивается множественная лекарственная устойчивость и возрастает патогенность кишечной палочки, энтерококков, стафилококков и др. При этом среди причин отхода молодняка основное место занимают болезни, связанные с нарушениями деятельности желудочно-кишечного тракта, возбудителями которых является условно-патогенная микрофлора [4, 5, 6, 7].

Широкое и активное применение антибиотиков в птицеводстве на протяжении ряда лет способствовало накоплению экспериментального материала о побочных реакциях, вызываемых ими. Так, установлено, что действие антибиотиков связано с изменением кишечной микрофлоры, проявляющейся в появлении дисбактериозов; нарушении витаминного баланса организма; вторичных инфекциях, вызываемых резистентными к антибиотикам формам возбудителей; появлением аллергических реакций [8, 9, 10]. Многие антибиотики (стрептомицин, пенициллин и их производные) корма, применяемые в течение 5-7 дней, накапливаются в мясе и внутренних органах.

Здоровье пищеварительного тракта, связанное с сбалансированной микрофлорой кишечника, считается основным условием низкочувствительного и благоприятного для окружающей среды животноводства.

Проблемы получения экологически безопасной сельскохозяйственной продукции заставляют по-новому взглянуть на организацию кормления с/х птицы. Поэтому актуальным является вопрос об использовании в кормлении птиц новых кормовых продуктов, в том числе биологически активных веществ нового поколения: витаминов, минеральных веществ, кормовых антибиотиков, пребиотиков, пробиотиков и синбиотиков.

В настоящее время на вооружении ветеринарной службы имеется достаточное количество отечественных и импортных пробиотических препаратов различного видового состава, предназначенных для профилактики желудочно-кишечных болезней молодняка животных и птиц.

Однако мониторинг рынка пробиотиков показывает, что подавляющее большинство разработок не востребованы практикой. Это обусловлено, по-видимому, недостаточной изученностью этих препаратов, неудачным подбором входящих в их состав штаммов бактерий. Чаше низкая эффективность некоторых пробиотических препаратов обусловлена тем, что разработчики часто пренебрегают некоторыми важными критериями селекции пробиотических штаммов. В настоящее время имеется множество публикаций, где даются характеристики микроорганизмов, необходимые для возможной их колонизации кишечника, и указывается, что штаммы для изготовления ветеринарных пробиотиков должны быть выделены из кишечника животных. Однако в состав большинства выпускаемых пробиотиков входят штаммы, выделенные из кишечника человека или взятые из коллекции штаммов для пищевой промышленности [13,14,15].

Указанное обстоятельство дает основание предполагать, что подход к разработке пробиотиков должен основываться на изучении многих параметров, включающих в первую очередь всестороннюю оценку свойств микроорганизмов – пробиотиков.

При отборе культур для приготовления пробиотиков следует помнить, что они должны обладать набором свойств, позволяющих им конкурировать с патогенными и условно патогенными микроорганизмами и соответствовать определенным требованиям: являться нормальными обитателями желудочно-кишечного тракта здоровых животных; быть непатогенными и нетоксичными; обладать способностью к адгезии на эпителии и приживлению в пищеварительном тракте, антагонистической активностью; переносить пассаж через желудок (обладать определенным уровнем устойчивости к желчи и соляной кислоте) и быть стабильными и способными длительное время оставаться жизнеспособными при хранении в производственных условиях.

Результаты исследования. В процессе жизнедеятельности нормальная микрофлора вырабатывает комплекс биологически активных соединений, которые воздействует на условно-патогенные микроорганизмы, оказывая антагонистическую активность. Явление антагонизма между бактериями, в большинстве случаев, обусловлено синтезом бактериоцинов. В отличие от обычных антибиотиков бактериоцины имеют сравнительно узкий спектр действия, так как активны против бактерий того же вида или родственных видов. Среди бактериоцинов кишечных палочек различают колицины и микроцины: они отличаются по химическим свойствам (размеру молекул) и условиям синтеза, которые отражаются на поведении штаммов-продуцентов в микробном сообществе. Интерес к бактериоцинам *Escherichia coli* связан с важной ролью этой бактерии в качестве компонента микрофлоры кишечника человека и животных.

Кишечные палочки начали применять в качестве основы биопрепаратов еще в начале прошлого века. Эффективность его объяснялась замещением токсических форм бактерий нормализованной кишечной микрофлорой. Препараты на основе кишечной палочки использовались в основном для лечения и профилактики дисбактериоза кишечника [4, 19, 20, 21, 22, 23, 24].

В СССР для разработки пробиотика применили штамм *E.coli*M-17, который является производным штамма *E.coli*, используемого для получения препарата «Mutaflor». Однако, в отличие от исходного штамма, коммерческий штамм *E.coli* M17 утратил способность к синтезу антибиотических веществ и, следовательно, снизил свою антагонистическую активность в отношении бактерий кишечной группы. Поэтому мероприятия по разработке новых пробиотических штаммов *E.coli* или восстановлению антагонистической активности уже существующих штаммов является актуальной задачей.

В результате многолетних исследований разработан пробиотический препарат «Антакон» (Патент № 29932 РК) на основе использования штамма *Escherichia coli* 64, полученного генетическим методом (Патент №28311 РК).

В задачу наших исследований входило определение спектра антагонистической активности, уровня устойчивости к желчи и соляной кислоте препарата «Антакон».

Определение спектра антагонистической активности препарата «Антакон», изготовленного из штамма *Escherichia coli* 64 проводили в сравнении со штаммом, используемым в качестве пробиотика *B. Longum* B 379M. Культуру *E.coli* 64 выращивали на жидкой среде (МПБ) в термостате 16-18 ч при 37-38°C. Культуру *B. Longum* B 379M выращивали на кукурузно-лактозной среде. Затем антагонистическую активность определяли микробиологическим способом – методом диффузии в агар (метод лунок). В чашках Петри, засеянные тест-культурами, сделали лунки. В лунки вносили штаммы *E.coli* 64 и *B.longum* B 379M из расчета 1,0см³. Чашки выдерживали в термостате при 37°C в течение 18-24 часов. Измеряли диаметр задержки роста тест-культур (Таблица 1).

О степени антагонистической активности изучаемых штаммов к каждому тест-микробу судили по ширине зоны задержки роста последнего: до 10 мм - средняя, более 20 мм - высокая; отсутствие зоны задержки роста - нулевая антагонистическая активность.

Таблица 1. Результаты определения антагонистической активности штаммов *E.coli*64Г и *B. longum* B 379M

Тест культуры	Зона задержки тест культур, в мм	
	<i>E.coli</i> 64	<i>B.longum</i> B 379M
<i>E.coli</i>	20,6	15,2
<i>Sal.dublin</i>	22,9	10,4
<i>Sal.abortus ovis</i>	29,4	16,3
<i>Sal. choleraesuis</i>	27,5	14,5
<i>Sal. typhimurium</i>	24,8	13,7
<i>Proteus vulgaris</i>	18,6	10,6
<i>Staph. aureus</i>	22,6	13,7
<i>Staph. albus</i>	23,9	14,4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	24,6	16,5
<i>Klebsiella pneumonia</i>	18,7	12,5
<i>Bacillus subtilis</i>	17,8	13,6

Результаты исследований показали, что оба штамма обладают антагонистической активностью по отношению к тест-культурам. Установлены значительные вариации в уровне антагонистической активности штаммов в спектре подавляемой ими микрофлоры. Однако из материала таблицы видно, что штамм *E.coli* 64 подавляет рост всех исследованных тест-культур, причем зона подавления роста большинства тест-культур превышает, чем штамм *B. longum* B 379M. Это свидетельствует о более высокой антимикробной активности предлагаемого штамма *E.coli* 64.

Таким образом, штамм *E. coli* 64, используемый для изготовления препарата «Антакон», обладает выраженными антагонистическими свойствами.

Для определения чувствительности штамма *E.coli* 64 к желчи, исследуемый штамм культивировали на МПБ (рН 7.0-7.4), содержащей 1,5,10,20,30 и 40 % желчи. В экспериментах использовали препарат желчи медицинский (*Chole medicata*), содержащий натуральную пузырную желчь крупного рогатого скота. Посевы инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 и 48 часов. Устойчивость к желчи определяли по уровню накопления биомассы, изменению числа КОЕ и рН среды. Количество жизнеспособных клеток бактерий в 1 см³ суспензии (в КОЕ) определяли методом предельных разведений (от 10² до 10⁹) при высеve на плотные питательные среды (МПА).

Показания снимали непосредственно после внесения суспензии культуры разных разведений на МПА через 24 ч культивирования в термостате, при 37°C в течение 18-20 часов. Затем проводился подсчет выросших колоний.

Результаты исследования показали, что при высеve суспензии исследуемой культуры в разведении - 10² на МПА (определение живых клеток), выросших в МПБ с содержанием различных концентраций желчи через 24 и 48 часов наблюдался рост штамма *E.coli* 64 со сред содержащих 1%, 5%, 10% и 20% желчи.

Таким образом, накопление биомассы исследуемого штамма зависело от концентрации желчи в среде. Наибольшая биомасса накапливалась на 1 сутки (через 24 часа)

культивирования, титр бактерий (КОЕ) равнялся при высеве в разведении: 10^2 (100 КОЕ) – штамм E.coli 64 – 91КОЕ из 100.

Титр бактерий при высеве исследуемой культуры через 48 часов равнялся в среднем 64-72 КОЕ из 100.

Рост штамма E.coli 64 на средах, содержащей 30 и 40% желчи не наблюдался.

Определение чувствительности штамма E.coli 64 к соляной кислоте проводили фотокалориметрическим методом по изменению оптической плотности бульонных культур при добавлении различных концентраций соляной кислоты, которая сравнивалась с контролем, где наблюдалось размножение исследуемых культур в средах без наличия соляной кислоты. В качестве эталонной культуры использовали штамм E.coli 04 (S – форма). Вместе с тем, нами учитывался другой критерий - уровень накопления биомассы, что определялось по изменению числа колониеобразующих единиц (КОЕ) и pH среды. Количество жизнеспособных клеток бактерий в 1 см^3 суспензии определяли методом предельных разведений (от 10^2 до 10^9) и высевом на плотные питательные среды (МПА).

Исследуемый штамм E.coli 64 выращивали на МПБ (pH 7.0-7.4), содержащей 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,8%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 1,8%, 2,0% и 2,5 % соляной кислоты, культивировали в течение 24 и 48 часов. Результаты роста исследуемой культуры в питательных средах (МПБ) с содержанием и без содержания соляной кислоты проводили через 24 и 48 часов культивирования сред в термостате при 37°C .

Результаты изучения резистентности штамма E.coli 64 к соляной кислоте по фотокалориметрическому методу свидетельствуют, что рост культуры E.coli 64 наблюдался в средах содержащих соляную кислоту в концентрациях 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,8%, 1,0%, 1,2%, (при исследовании выросшего штамма через 24 часа) и на средах содержащих соляную кислоту в концентрациях 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,8%, (при исследовании выросшего штамма через 48 часов). В контроле наблюдался рост культур на средах, не содержащих соляную кислоту.

Параллельно изучали устойчивость к соляной кислоте штамма E.coli 64 по уровню накопления биомассы, изменению числа КОЕ методом предельных разведений (от 10^2 до 10^9) при высеве выросших культур (через 24 и 48 часов) на плотные питательные среды (МПА).

Учет результатов опыта проводили после посева суспензии штамма E.coli 64 разных разведений на МПА, через 24 часа культивирования их в термостате при 37°C . Затем проводился подсчет выросших колоний.

Результаты исследования показали, что при высеве 24-часовой суспензии исследуемой культуры в разведении – 10^2 на МПА (определение живых клеток), выросших в МПБ с содержанием соляной кислоты в концентрациях 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,8%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 1,8%, 2,0% и 2,5 % рост наблюдался со сред, содержащих 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,8%, 1,0%, 1,2%, 1,5% соляной кислоты. Аналогичные результаты были получены при высеве 48-часовой суспензии исследуемой культуры в тех же концентрациях. Количество выросших колоний составлял в среднем от 55 до 64.

Высевы со сред содержащих 1,8%, 2,0% и 2,5 % соляной кислоты не дали роста исследуемой культуры, независимо от экспозиции культивирования.

Выводы. Результаты исследований спектра антагонистической активностью показали, что штамм E.coli 64 подавляет рост всех исследованных тест-культур, причем зона подавления роста большинства тест-культур превышает, чем штамм B. longum В 379М.

Результаты исследования чувствительности штамма E.coli 64 к желчи показали, что при высеве суспензии исследуемой культуры в разведении - 10^2 на МПА (определение живых клеток), выросших в МПБ с содержанием различных концентраций желчи через 24 и 48 часов наблюдался рост штамма E.coli 64 со сред, содержащих 1%, 5%, 10% и 20% желчи. Рост штамма E.coli 64 на средах, содержащей 30 и 40% желчи не наблюдался.

Результаты изучения резистентности штамма E.coli 64 к соляной кислоте по фотокалориметрическому методу свидетельствуют, что рост культуры E.coli 64 наблюдался в средах содержащих соляную кислоту в концентрациях 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,8%, 1,0%, 1,2%, (при исследовании выросшего штамма через 24 часа) и на средах содержащих соляную кислоту в концентрациях 0,1%, 0,2%, 0,5%, 0,8%, (при исследовании выросшего штамма через 48 часов). В контроле наблюдался рост культур на средах, не содержащих соляную кислоту.

Результаты исследований свидетельствует, что штамм E. coli 64, используемый для изготовления препарата «Антакон», полученный из желудочно-кишечного тракта здорового животного, обладает высокой антагонистической активностью, определенным уровнем устойчивости к желчи и соляной кислоте и способностью длительное время оставаться жизнеспособными при хранении в производственных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roberfroid, M.B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? //Am J. Klin Nutr.-2000: 71(16) Suppl: 1682-87.
2. Cummings, J.H. Prebiotics digestion and fermentation. //Am.J.Clin.Nutr.-2001.-Vol. 73(suppl.).- P. 415-420.
3. Тараканов Б.В. Пробиотики в животноводстве: достижение и перспективы// Материалы IV Международной конференции, посв.100-летию со дня рождения академика РАСХН Н.А. Шманенкова – Боровке, 2006. - стр.335-336.
4. Панин, А.И. Пробиотики как неотъемлемый компонент рационального кормления животных и птицы // Птица и птицепродукты.- 2008.- №3.- С.13-15.
5. Имангулов, Ш.А. Использование пробиотиков, пребиотиков и симбиотиков в птицеводстве. Методические рекомендации./ - Сергиев Посад, 2008.- 42 с.
6. Лысенко, С.Н. Научно-практическое обоснование использования новых пробиотических препаратов в промышленном птицеводстве: автореф. дисс. д-ра биол.наук; ГУ ВНИИ ММСИППЖ.- Волгоград, 2009.- 50 с.12-15.

ЭТИОЛОГИЯ ОТЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПОРОСЯТ

*Профессор Бияшев Кадыр Бияшевич,
Профессор Бабалиев Сеит Умирсеитович,
PhD – доктор Жуманов Кайрат Токсанбаевич,
Ассистент магистр Кошкимбаев Серик Сейдимханович,
PhD – доктор Жолдасбекова Асель Еркинбековна.*

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. *The lack of knowledge of the edema disease of piglets, the considerable prevalence and economic damage caused to pig breeding in the farms of the Republic of Kazakhstan necessitated a more detailed study of the epizootology, clinical manifestations, etiology of the disease, the development of specific means to combat it.*

The data on the study of the etiology of the edematous disease of pigs and the identification of selected cultures from sick and dead animals are given.

Keywords: *piglets, etiology, edema, disease, mortality.*

Введение. Отечная болезнь поросят является инфекционной болезнью поросят, проявляющаяся острым течением, поражением желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, образованием отеков в различных органах и тканях. Это заболевание распространено за рубежом и на территории нашей республики. Экономический ущерб, наносимый свиноводству неблагополучных хозяйств, значителен.

Отечная болезнь поросят наблюдается у поросят-отъемышей (35-45 дней после рождения) и охватывает до 40% всех поросят отъемного возраста. Летальность среди заболевших достигает до 90%. Возникает болезнь довольно часто в виде спорадических случаев или в виде энзоотии. В большинстве обследованных хозяйств заболевание наблюдается на протяжении нескольких лет.

Отечная болезнь свиней возникает, вероятнее всего по нашим данным, вследствие одновременного воздействия нескольких факторов. Это нарушение технологического срока отъема поросят, в некоторых хозяйствах наблюдался ранний отъем, а в некоторых случаях допускались погрешности в кормлении и содержании. Особенно неблагоприятно влияло позднее приучивание поросят к поеданию, а значит и перевариванию кормов растительного происхождения. После резкого уменьшения приема молока после отъема, поросята более подвержены к заболеванию.

Основным фактором является взаимоотношение макроорганизма и токсинообразующего микроорганизма кишечника, в частности, эшерихий, продуцирующих энтеро- и нейротоксины. Этому способствует бактерионосительство у свиноматок от которых поросята заражаются энтеропатогенной кишечной палочкой, размножение их в кишечнике поросят, накопление и всасывание токсинов, интоксикация организма и в конечном итоге развитие отечной болезни.

Анализ статистических данных проведенный нами в Комитете ветеринарии МСХ РК показали, что заболевание под названием отечная болезнь поросят не указываются в отчетах, хотя эта болезнь имеет значительное распространение среди свиноголовья республики, нанося большой экономический ущерб.

Не изученность отечной болезни поросят, значительная распространенность и экономический ущерб, причиняемый свиноводству в хозяйствах Республики Казахстан обусловило необходимость более детального изучения эпизоотологии, особенностей клинического проявления, этиологии болезни, разработки специфических средств борьбы с ней.

Результаты исследования. Несмотря на достигнутые успехи в вопросе профилактики кишечных заболеваний у молодняка сельскохозяйственных животных, этиологическая структура отечной болезни поросят в нашей республике окончательно не расшифрована.

Бактериологическому исследованию подвергнуто 460 проб патматериала от 106 поросят, в том числе от 86 павших поросят от спонтанной отечной болезни и от 20 поросят убитых с клиническими признаками.

Для прижизненной бактериологической диагностики исследовали 130 проб фекалий у клинических здоровых животных (30 - поросята сосуны, 70 - поросята-отъемыши и 30 - свиноматки).

Целью дальнейших исследований явилось идентификация выделенных культур по культуральным, биохимическим, антигенным и патогенным свойствам. Идентификации подвергнуто 316 выделенных культур бактерий: эшерихий - 264 (83,7%), стафилококков - 27 (8,5%), диплококков - 18 (5,6%) и 7 (2,2%) - стрептококков. При идентификации выделенных культур придерживались классификационной схемы Определителя бактерий Бержи.

Все 264 штаммов эшерихий обладали типичными морфологическими и тинкторальными свойствами. Из 264 штаммов 250 образовывали индол, 252 были подвижными, все штаммы разлагали глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, маннит с образованием кислоты и газа, не образовывали сероводород и не разжижали желатину.

Одним из критериев патогенности микробов является способность ге-молизировать эритроциты различных животных. По нашим данным из 264 штаммов эшерихий продуцировали гемотоксин 256 (96,9%), из них бета-гемотоксин - 97,6%, альфа-гемотоксин - 2%, дельта-гемотоксин - три штамма кишечной палочки. Все культуры эшерихий, выделенные от павших и клинических больных свиней отечной болезнью продуцировали бета-гемотоксин и стойко сохраняли их при пересевах и хранения в течение 5 лет (срока наблюдений).

Патогенность эшерихий связана не столько с продуцированием токсина, но и адгезивными свойствами этих бактерий - последние обуславливают прикрепление бактерий к эпителиальным клеткам кишечника и интенсивное их размножение, колонизацию кишечника, продукцию энтеротоксинов с последующим проникновением бактерий в регионарные лимфатические узлы и кровоток. Способность прилипать к клеткам эпителия слизистой оболочки кишечника обеспечивается наличием фимбрии или пили (реснички) белковой природы. Выявление адгезивных антигенов проводилось в соответствии с Методическими указаниями по бактериологической диагностике колибактериоза (эшерихиоза) животных и "Временным наставлением по применению агглютинирующих сывороток к адгезивным антигенам эшерихий K88, K99, 987P, F41, A20".

Выявлению на наличие адгезивных антигенов подвергли 186 штаммов эшерихий, выделенных от павших и больных поросят отечной болезнью, которые продуцировали бета-гемотоксин. В результате исследований установлено, что из 186 штаммов эшерихий, 159 (86%) дали положительную реакцию агглютинации с сывороткой K88 и 27 (14%) - с сывороткой K99.

При типировании этих же 186 штаммов эшерихий используя 0-типоспецифические агглютинирующие коли-сыворотки, удалось отнести их к следующим сероварам - 0141 (74,1%), 0139 (18,2%), 0138 (4,1%), 0142 (2,7%), 026 (1,2%) и 08 (0,2%).

С целью доказательства о этиологической роли этих микробов в заболевании свиней, в опытах на лабораторных животных и поросятах нами изучена патогенность и вирулентность. 10 штаммов эшерихий серовара - 0141 и 2 штамма - 0139, продуцирующих бета-гемотоксин. Всего в опытах использовано 600 белых мышей, 300 морских свинок и поросят.

Результаты опыта показали, что 90% лабораторных животных погибали в течение 3-10 суток после заражения и только 10% подопытных животных оставались живыми в течение месяца. Большинство штаммов имели приблизительно одинаковую вирулентность за исключением штамма 16-041, который вызывал гибель подопытных белых мышей и морских свинок в течение трех суток. Во всех опытах проводилось бактериологическое исследование павших лабораторных животных (белые мыши и морские свинки). Постоянно выделялась заражающая культура.

Патогенность выделенных штаммов эшерихий проверялась также на поросятах месячного возраста. Для заражения использовали штаммы эшерихий с различными адгезивными антигенами и обладающими наиболее патогенными свойствами. Животных заражали внутрибрюшинно суточной агаровой культурой в дозах - $5 \cdot 10^9$ микробных клеток, 10^{10} КОЕ и 15×10^9 КОЕ. На 4-5 сутки после введения изучаемых культур наблюдали признаки заболевания: отказ от корма, угнетенное состояние, посинение кожи живота и ушей, температура была в пределах $40-41^\circ\text{C}$, понос. У поросят, зараженных культурой №16-0141 (K-88) перед гибелью животных наблюдали нарушение координации движений, судороги, паралич конечностей. При вскрытии павших поросят отмечали увеличение брыжеечных лимфоузлов, геморрагический гастроэнтерит, дистрофия печени, отек легких, венозный застой крови внутренних органов, а у двух - очаговое утолщение стенки желудка. Указанные изменения соответствуют патологоанатомической картине трупов животных, павших от спонтанной отечной болезни.

Все 27 штаммов стафилококков, 18 - диплококков, 7- стрептококков, выделенных от павших, больных и здоровых поросят обладали типичными морфологическими, тинкторальными,

культуральными, антигенными свойствами. На основании изучения различных признаков у штаммов стафилококков, они были дифференцированы как непатогенные.

Выводы. Таким образом, установлено, что из 316 культур, выделенных от павших, больных поросят, а также от здоровых животных, 264 (83,7%) были идентифицированы как штаммы кишечной палочки, из них 97,6% отнесены к бета-гемолитическим культурам эшерихии. Все культуры эшерихии, выделенных от павших поросят от спонтанной отечной болезни и от клинически больных животных обладали адгезивными антигенами K-88 (86%) и K-99 (14%). Патогенность выделенных культур эшерихии доказана в опытах на лабораторных животных и поросятах, что является доказательством о этиологической роли этих микробов в заболевании свиней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ступак М.К. Профилактика отечной болезни в свиноводческих комплексах // Ветеринария. – М.: Колос, 1984. - №5. - с. 40-42
2. Тимашко М.А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных. – Кишинев: «Штиница» -1990. – 189 с.
3. Levine M. Инфекции, обусловленные E.coli. – N.Y. Med. – 1995. - 311.- №5.- р. 440-447
4. Телялаева М.В. Отечная болезнь поросят (совершенствование лечения). – Авт. реф. канд. дисс. – Алматы. - 2000. – 22 с.

ЭТИОЛОГИЯ ЛИМФАНГОИТА

Профессор *Бияшев Кадыр Бияшевич*,
Профессор *Макбуз Аманжол Жасбилимович*,
Профессор *Киркимбаева Жумагуль Слямбековна*,
Профессор *Орынтаев Кайрат*,
PhD – доктор *Сарыбаева Динара Амангельдиевна*

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. An important factor hindering the development of camel breeding, along with a weak formulation of zootechnical and breeding work, is infectious diseases. One of these diseases, often occurring among the camels of Kazakhstan, is lymphangitis. The disease is characterized by purulent inflammation of the lymph nodes and vessels with the formation of abscesses. Many of the issues of this disease, in particular, epizootology, clinic, therapy, prevention, and especially the causative agent of the disease were not sufficiently studied, which served as the basis for conducting this study.

Keywords: camel, etymology, lymphangitis, inflammation, lymph nodes.

Введение. Перед работниками сельского хозяйства Республики Казахстан поставлена задача - ускоренное внедрение интенсивных методов и прогрессивной технологии в животноводстве, численное увеличение поголовья животных и повышение их продуктивности, в частности, развитию таких отраслей, как верблюдоводство, коневодство, кролиководство, пчеловодство. Безусловно, развитие этих отраслей будет способствовать удовлетворению растущих потребностей населения в высококачественных продуктах питания.

В нашей республике верблюдоводство является важным резервом производства мяса, шерсти, молока. Разведению верблюдов в Казахстане способствует наличие обширных пустынь и полупустынь, своеобразные климатические и кормовые условия которых отвечают биологическим особенностям этого уникального вида животных.

Существенным фактором, сдерживающим развитие верблюдоводства, наряду со слабой постановкой зоотехнической и племенной работы, является инфекционные болезни.

Одной из таких болезней, нередко встречающейся среди верблюдов Казахстана, является лимфангоит. Болезнь характеризуется гнойным воспалением лимфатических узлов и сосудов с образованием абсцессов.

В неблагополучных по этому заболеванию хозяйствах болеют до 15% верблюдов. Из числа заболевших животных у 10-30% болезнь заканчивается летальным исходом.

Экономический ущерб, причиненный инфекцией хозяйствам, определяется как прямыми потерями животных, так и значительными затратами на содержание, уходом на больных животными, на организацию ограничительных мероприятий, а также снижением продуктивности больных и выздоравливающих.

Литературные данные, касающиеся этой болезни весьма ограничены. В отечественных и зарубежных литературных источниках имеются лишь отдельные сообщения о болезни верблюдов, клинически проявляющиеся образованием абсцессов на различных участках тела животных. гнойным воспалением лимфатических узлов и сосудов (Н.Е. Crose, 1917; А.Н. Камбулин, 1934, 1934; Н.Р. Семушкин, 1940, 1958; В.А. Штанько, 1958). Однако в указанных публикациях нет полных сведений о этиологии болезни. Разноречивы и эпизоотологические, клинические и патологоанатомические данные об этой инфекции. Не разработаны меры борьбы и профилактики [1,2,3].

Первое сообщение о болезни, с раскрытием ее этиологии сделано К.Н. Бучневым, Р.Г. Садыковым, Ж.С. Дадабаевой. Ими описано заболевание верблюдов в хозяйствах Казахской ССР, клинически проявлявшееся гнойным воспалением лимфатических узлов и сосудов [4].

Несмотря на значительный ущерб, наносимый верблюдоводству лимфангоитом многие вопросы его эпизоотологии, клиники, терапии, профилактики, а особенно возбудителя болезни были недостаточно изучены, что и послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Результаты исследования. При бактериологическом исследовании патологического материала от павших (гнойное содержимое лимфатических узлов и легких) и больных верблюдов (гной из вскрытых абсцессов), взятых из ряда хозяйств Казахстана были выделены стафилококки.

При идентификации выделенных штаммов стафилококков придерживались классификационной схемы Определителя бактерий Бержи (1974).

В исследованиях нами были использованы 6 штаммов стафилококков. Все изученные штаммы стафилококков по Граму красятся положительно. Культуры хорошо растут на обычных питательных средах. В мясопептонном бульоне через 24 часа на дне пробирки образуется осадок в виде не разбивающихся комочков, бульон над осадком остается совершенно прозрачным. Не мясопептонном агаре через 1-2 суток вырастают круглые, сухие, восковидные колонии, легко снимающиеся с поверхности агара.

Исследованные штаммы стафилококков были способны расти в присутствии 8-10% NaCl.

Характерной особенностью всех изученных штаммов стафилококков является то, что они биохимически малоактивны. Из 9 углеводов (лактоза, сахароза, мальтоза, маннит, глицерин, глюкоза, дульцит, салицин, рафиноза) они ферментировали только глюкозу с образованием кислоты, но без газа. Не способны свертывать молоко, разжижать желатину, не образуют индола.

Согласно теста предложенного И.В. Евансом с соавторами (J.B. Evans, 1955), который рекомендован Международным подкомитетом по таксономии стафилококков и микрококков (1965), к стафилококкам относят кокки образующие каталазу и ферментирующие глюкозу с образованием кислоты в анаэробных условиях.

Нами установлено, что все штаммы стафилококков, выделенные от павших и больных верблюдов, были каталазоположительными и на 2-е сутки в анаэробных условиях разлагали глюкозу.

При дифференциации исследуемых штаммов стафилококков на патогенные и непатогенные было установлено, что они не коагулируют плазму кролика, не разлагают маннит, не типизируются международным основным набором бактериофагов. Однако, все штаммы обладали дермoneкротизирующими свойствами, вызывали незначительный гемолиз на агаре с 5% кровью барана, образовывали серовато-белый пигмент и были патогенными для белых мышей и морских свинок.

Все штаммы стафилококков имели приблизительно одинаковую вирулентность. Они вызывали гибель морских свинок при подкожном заражении в дозе 3×10^7 КОЕ, в 85-100% случаев в течение 4-8 суток, а белых мышей, зараженных внутрибрюшинно в дозе 10^8 КОЕ в 90-100% случаев в течение 5-10 суток.

Этиологическая роль изученных штаммов стафилококков в заболевании верблюдов, нами доказана в опытах по экспериментальному воспроизведению болезни на этих животных. Верблюдов заражала подкожно 2-суточной агаровой культурой в дозе 10^9 КОЕ (в объеме 1 мл). На 4-5 сутки после введения изучаемых культур на место инъекции у верблюдов отмечалась гиперемия кожи, на 6 сутки появилась значительная припухлость величиной 8-10 см. Припухлость при пальпации имеет твердую консистенцию, наблюдалось повышение местной температуры. Общее состояние животных внешне было нормальным, аппетит не нарушен.

Но 8-9 дней наблюдалось самопроизвольное вскрытие припухлости (абсцесса) и истекал белый густой гной без запаха. Температура тела животных была повышена на 0,5-1°C. Отмечалось увеличение лимфатических узлов, как регионарных, так и далеко находящихся от места заражения.

При вскрытии убитых подопытных верблюдов гнойное поражение было обнаружено в надвыменных, нижнешейных и средостенных лимфатических узлах, в легких, значительное увеличение бронхиальных и медиастинальных лимфатических узлов.

Клиника экспериментального заболевания верблюдов вполне соответствует спонтанным случаям болезни и подтверждается картиной патологоанатомических вскрытий.

Выводы. Результаты проведенных исследований, по идентификации возбудителя болезни верблюдов показывает, что по своим культуральным, биохимическим, патогенным, вирулентным и антигенным свойствам коагулазонегативные штаммы стафилококков, выделенные от больных верблюдов, существенно отличаются от коагулазонегативных (*Staph. epidermidis*, *Staph. saprophyticus*) и от коагулозоположительных стафилококков (*Staph. aureus*) возбудителей раневых инфекций людей и животных.

В естественных условиях они вызывают заболевание только у верблюдов.

Таким образом, в хозяйствах Республики Казахстан установлено заболевание верблюдов, клинически проявляющееся гнойным поражением лимфатических узлов и сосудов. Возбудителем болезни является стафилококк, этиологическая его роль доказана опытами по экспериментальному заражению верблюдов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камбулин Н.А. Заразные болезни верблюдов и меры борьбы с ними. Казгосиздат, Алма-Ата, 1937, с.30-32.
2. Семушкин Н.Р. Диагностика заболеваний верблюдов. Сельхозиздат., Москва, 1958, с.272-273.
3. Штанько В.А. О заболевании верблюдов с признаками гнойных лимфаденитов. Ашхабад, 1958, с.393-395.
4. Садыков Р.Г., Дадабаева Ж.С. О гнойном лимфангите верблюдов в Казахской ССР.- Инфекционные и паразитарные болезни сельскохозяйственных животных. Алма-Ата, 1976, т. XXXIY, с.73-76.

ИММУНОПРОФИЛАКТИКА САЛЬМОНЕЛЛЕЗА И ЭШЕРИХИОЗА ЖИВОТНЫХ

Профессор *Бияшев Кадыр Бияшевич*,
Профессор *Макбуз Аманжол Жасбилимович*,
Профессор *Бияшев Биржан Кадырович*,
Профессор *Киркимбаева Жумагуль Слямбековна*,
Профессор *Ермагамбетова Светлана Емлсовна*,

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. The data on obtaining genetically characterized vaccine strains of *Salmonella* and *Escherichia*, with the aim of using them for the production of innovative biological products against enteroinfections of animals and birds are given.

Keywords: intestinal infections, salmonellosis, escherichiosis, vaccines.

Введение. Кишечные инфекции относятся к числу наиболее распространенных в мире зооантропонозов и с каждым годом, по данным ВОЗ (1999) приобретают реальную проблему во всех странах мира. Ущерб, наносимый кишечной инфекцией, заключается не только в падеже сельскохозяйственных животных и птиц, но и в том, что переболевшие животных и птицы на протяжении длительного времени являются бактерионосителями и становятся постоянными источниками контаминации окружающей среды. Широко распространено носительство среди крупного рогатого скота (15-25, 4%), овец (20-30%), лошадей (10-35, 0%), свиней (12, 5-24, 5%), кур (6—24, 1%), уток (8—14, 8%), гусей (4—15, 2%). В среднем носители выявлены среди здоровых животных и птиц в пределах от 6, 8 до 32, 2%, [1-6].

Эпизоотическая и эпидемиологическая напряженность по кишечным инфекциям, обусловленных возбудителями энтероинфекций, в последние годы повысилась в связи с изменениями методов разведения и откорма скота, а также правил зоотехнического и ветеринарного обслуживания животных. Вакцинация животных и птиц против кишечных заболеваний стала необязательной, и в плане противоэпизоотических мероприятий Комитета ветеринарии МСХ РК она не предусматривается.

В сложившихся социально-экономических условиях особенности борьбы с заболеваниями, общими для человека и животных, требуются осуществления сложного скоординированного комплекса противоэпизоотических, противоэпидемических, санитарно-ветеринарных и санитарно-гигиенических мероприятий.

Профилактика зооантропонозов в первую очередь основана на своевременном выявлении опасности заражения людей той или иной инфекцией. Эпизоотологические и эпидемиологические особенности инфекции, эффективные средства профилактики и возможности их применения определяют выбор основных мероприятий. В одних случаях это могут быть режимно-ограничительные мероприятия, в других - ветеринарно-санитарные, санитарно-противоэпидемические меры, использование средств специфической профилактики и др. [7-10].

Накопленный значительный опыт по получению производственных вакцинных штаммов с использованием генетических методов и современных технологий позволило авторам статьи разработать технологию производства инновационных биопрепаратов против энтероинфекций животных и птиц с дальнейшим их серийным выпуском.

Результаты исследования. Успехи бактериальной генетики и молекулярной биологии в последнее время позволили перейти к целенаправленным методам получения вакцинных штаммов со сниженной вирулентностью. Особо широкое распространение в качестве вакцинных штаммов получили ауksотрофные мутанты, обуславливающие потребность в добавках ростовых факторов, штаммы-гибриды, полученные в результате межвидовых скрещиваний и рибосомальные мутанты (в частности, стрептомицинзависимые формы бактерий).

Нами разработан и использован новый метод аттенуации бактерий, обеспечивающий получение двухмаркерных потенциальных вакцинных штаммов сальмонелл с оптимальным уровнем аттенуации к соответствующему хозяину.

Аттенуация связана с нарушением трансляции генов, кодирующих синтез важных факторов патогенности бактерии или генов, продукты которых имеют важное значение в жизнедеятельности

бактерии. Изучение вирулентности полученных трансдуктантов при внутрибрюшинном заражении белых мышей выявило снижение ее у клонов, которые приобрели одновременно 2 мутации, сообщающие резистентность к двум мутагенам, так и каждую в отдельности. Присутствие в авирулентном штамме двух мутаций с известными механизмами действия, каждая из которых может значительно снижать вирулентные свойства, служит убедительным генетическим доказательством стабильности и безопасности вакцинного авирулентного штамма.

Теоретическая частота обратной мутации одновременно по обоим маркерам составляет примерно 10^{-14} , хотя практически это невозможно. Живые вакцины, приготовленные из аттенуированных штаммов были безвредны, иммуногенны, маркированы и генетически безопасны при их изучении на различных биологических объектах.

Разработан метод, позволяющий дополнительно в двухмаркерный штамм введение третьей мутации, сообщающая высокую чувствительность бактерии к поверхностно активным веществам. Указанная мутация, обозначенная как Hst (high sensibility), не влияет на аттенуацию и иммуногенность штамма, однако ограничивает время переживания бактерий в кишечнике хозяина и во внешней среде. Потенциальные вакцинные штаммы, обладающие Hst - мутацией, не способны к длительному пребыванию во внешней среде, в связи с чем они могут рассматриваться как "экологически чистые" живые вакцины, характеризующиеся ограниченной способностью к формированию инфекционной цепи (т.е. неспособные к эпидемическому или эпизоотическому распространению). Присутствие в штамме энтеробактерии трех мутаций с известными механизмами действия, служит убедительным генетическим доказательством стабильности и безопасности аттенуированных штаммов. Теоретическая частота обратной мутации одновременно по всем трем маркерам составляет примерно 10^{-21} , что практически невозможно.

Используя разработанный нами метод аттенуации бактерий были получены аттенуированные штаммы *Salmonella typhimurium* 42, *Salmonella dublin* 31, *Salmonella abortusequi* 17, *Salmonella abortusovis* 37, *Salmonella choleraesuis* 51 *Escherichia coli* 143, *E.coli* 152, *E.coli* 183 обладающих стабильностью биологических свойств, умеренной реактогенностью и остаточной вирулентностью, безвредностью, высокой иммуногенностью для животных, эпизоотически безопасны для использования и имеющие генетические маркеры для отличия его от штамма естественного происхождения.

Полученные аттенуированные штаммы энтеробактерии депонированы в Коллекции микроорганизмов Республиканского государственного предприятия «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Министерства образования и науки Республики Казахстан (РГП НИИПББ КН МОН РК), на них получены коллекционные номера.

В сложившихся социально-экономических условиях особенности борьбы с заболеваниями, общими для человека и животных, в значительной степени связаны с развитием частного сектора в животноводстве, бесконтрольной миграцией скота, в том числе из неблагополучных регионов. Профилактика зооантропонозов в первую очередь основана на своевременном выявлении опасности заражения людей той или иной инфекцией. Вакцинопрофилактика занимает значительное место в борьбе с инфекционными болезнями. Благодаря вакцинопрофилактике ликвидированы многие заболевания животных.

Успехи вакцинопрофилактики зависят от качества вакцин и своевременного охвата прививками уязвимых контингентов. Современные иммунология и вакцинопрофилактика подвели теоретическую базу и наметили пути совершенствования вакцин в направлении создания новых безвредных эффективных вакцин.

Важнейшим требованием по изготовлению и контролю биопрепаратов является схема технологического процесса производства препарата.

Разработана схема технологического процесса производства инактивированных вакцин из штаммов сальмонелл и эшерихий. В способе получения живых поливалентных вакцин против сальмонеллеза и эшерихиоза животных включает раздельное культивирование вакцинных штаммов концентрирование бактериальной массы, разведение бактериальной культуры средой высушивания, расфасовка препарата, высушивание препарата, маркировка ампул (флаконов) с препаратом и упаковка.

Использование для изготовления вакцины всех основных возбудителей сальмонеллеза и эшерихиоза животных с хорошими антигенными свойствами позволило создать высокоиммуногенные вакцины: иммунизирующая доза для животных у предлагаемых вакцин в 2 раза меньше, чем у применяемых вакцин, и не вызывает побочных явлений в месте введения, то есть не реактогенная; обладает широким спектром действия, имеет продолжительный срок

годности; снижает трудозатраты ветеринарными специалистами на изготовление, обслуживание животных и повышает эффективность профилактики сальмонеллеза и эшерихиоза животных и птиц.

Нами разработана поливалентные живые вакцины против эшерихиоза крупного рогатого скота, овец и свиней, а также против сальмонеллеза овец, свиней, лошадей и птиц. Вакцины пригодны для применения в течение 12-18 месяцев со дня изготовления при условии хранения ее при температуре +4 - +10°C. На препараты получены патенты за № 32327 и № 32879 РК.

Эффективность разработанных живых вакцин проводили на животных в различных регионах Казахстана, неблагополучных по сальмонеллезу и эшерихиозу. Всего в опыте было использовано 3550 телят, 6300 коров, 9000 овец, 2250 свиней, 750 конематок.

Эффективность применяемых вакцин определялась по проявлению клинических форм заболеваний. После каждой инъекции учитывалась местная и общая реакция. После введения вакцин особых отклонений от нормы у животных не наблюдалось. В течение 1 - 2 дней была местная реакция в виде незначительной болезненной припухлости. Температура, пульс и дыхание оставались в пределах нормы. Отрицательного влияния на организм животного иммунизация не оказывала.

Выводы. Использование живых вакцин позволило оздоровить хозяйства от сальмонеллеза и эшерихиоза животных, увеличить выход молодняка, улучшить эпизоотическую обстановку хозяйств, резко снизить пищевые токсикоинфекции у людей.

Проведенные исследования свидетельствуют, что разработанные инновационные препараты можно применять для профилактики заболеваний сальмонеллезом и эшерихиозом крупного рогатого скота, овец, свиней, лошадей в любых регионах страны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шустер Б. Ю., Малахов Ю. А., Киржаев Ф. С., Персов А. С., Зуев В. Г. Вакцина против сальмонеллеза водоплавающей птицы // Мат. ВГНКИ, «Новое в борьбе с болезнями птиц». – М., 1984. - С. 24 -26.
2. Доуган Г., Четфилд Н. С., Хормече К. Патент РФ. №2114172 Способ получения аттунированного штамма бактерий Salmonella. Опубликовано 27.06.1998
3. Graham Rook, Immunity to bacteria. //Immunology. -London, 2000. - P. 322 – 323.
4. Линде К., Беер Й., Рандхаген Б. Патент РФ №2177804 С2. Живая сальмонеллезная вакцина. Опубликовано 10.01.2002

СПОСОБНОСТЬ ШТАММА E.COLI 64, ИСПОЛЬЗУЕМОГО ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА «АНТАКОН», К АДГЕЗИИ НА ЭПИТЕЛИИ И ПРОЖИВАНИЮ В КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ

PhD – докторант *Булегенова Мадина Джумагуловна*,

PhD – доктор *Жолдасбекова Асель Еркинбековна*,

Профессор *Ермагамбетова Светлана Емльевна*,

Ассистент магистр *Кулпыбай Ермек Ержанович*,

Ассистент магистр *Алтепов Абдиразак Еркинович*,

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. The data on the study of the ability of E.coli 64 strain used for the preparation of the Antakon preparation for adhesion on the epithelium and engraftment in the digestive tract are presented. Studies have shown that the relatively short-term 2-day application of E. coli 64 has a pronounced regulatory effect on the intestinal microflora of mice. 24 hours after cessation of the E.coli 64 strain, the number of Escherichia increased by an order of magnitude compared with the control, regardless of the method of administering the Escherichia cultures studied. On days 2 and 3, their numbers increased 5 and 7 times respectively.

Keywords: Escherichia, strain, adhesion, survival, intestines.

Введение. В современных условиях при ведении животноводства основной задачей ветеринарии является обеспечение такого уровня профилактики, который исключал бы групповые заболевания животных. Одной из таких проблем являются кишечные инфекции молодняка. Диареи инфекционного происхождения являются основной причиной массовой гибели и заболеваемости молодняка сельскохозяйственных животных первых дней жизни и достигает на животноводческих фермах и комплексах в пределах 30-80%. Ущерб от этих заболеваний складывается не только из стоимости павших животных, но и от затрат на лечение и ухудшения конверсии корма, то есть при одинаковом рационе переболевшие молодняк животных дают значительно меньший прирост [1].

Накопленный фактический материал и многочисленные научные публикации последних лет свидетельствуют о том, что характерной чертой современной инфекционной патологии молодняка является неукоснительный рост кишечных инфекций, возбудителями которых являются условно-патогенные бактерии. Эти микроорганизмы широко циркулируют в хозяйствах, обладают широким спектром вирулентности (энтеротоксигенности, адгезивности, гемолитической активности, антибиотикоустойчивости). Высокая приспособляемость условно-патогенных бактерий во внешней среде позволяет им длительно сохраняться. На фоне высокой обсемененности кормов и различных объектов внешней среды условно-патогенными микроорганизмами нарушается процесс колонизации кишечной стенки нормальной микрофлорой - молочнокислыми бактериями, бифидобактериями, пропионовокислыми бактериями и энтерококками, происходит опережающее заселение кишечника новорожденных животных энтеробактериями. Не случайно болезни молодняка, сопровождающиеся диарейным синдромом, остаются наиболее сложной проблемой ветеринарной медицины [2,3].

Мировой опыт свидетельствует, что в профилактике и лечении желудочно-кишечных болезней молодняка велико значение заместительной терапии, направленной на восстановление кишечного биоценоза путем регуляторного введения живых бактерий – представителей нормальной кишечной микрофлоры [4,5].

С этих позиций пробиотики следует рассматривать как часть рационального потенциала животных, поддержания их здоровья и получения продукции высокого качества, безопасной как в бактериальном, так и в химическом отношении. Механизм действия пробиотиков в отличие от антибиотиков направлен не на уничтожение, а на конкурентное исключение условно-патогенных бактерий из состава кишечного биоценоза, чтобы предотвратить усиление и передачу факторов вирулентности в популяции условно-патогенных бактерий. В тоже время профилактика желудочно-кишечных болезней приобретает социальную значимость, поскольку параллельно с увеличением потребления животноводческой продукции возрастает риск ее

контаминации сальмонеллами, эшерихиями, иерсиниями и другими микроорганизмами – возбудителями пищевых токсикоинфекций у человека.

Общий методологический подход в оценке эффективности пробиотиков предусматривает их испытание на различных лабораторных животных, а также биологическую статистическую обработку результатов, подтверждающую достоверность вариаций в опытных и контрольных группах.

Результаты исследования. В задачу наших исследований входило изучение способности штамма *E.coli* 64, используемого для изготовления препарата «Антакон», к адгезии на эпителии и приживлению в пищеварительном тракте.

Изучение воздействия штамма *E.coli* 64Г на кишечные бактерии и определение длительности их персистенции в пищеварительном тракте проведено на лабораторных мышах (14-16 г).

Штамм *E.coli* 64 выращивали на МПА. Отбирали посеvy с выраженным ростом культур и по оптическому стандарту мутности доводили концентрацию до значения 10^9 КОЕ.

Первой группе мышей культуру вводили однократно перорально по $0,5 \text{ см}^3$ (5×10^8 КОЕ.). Вторая группа мышей – путем вольной выпойки в поилке с концентрацией культуры в 1 см^3 физраствора – 10^9 КОЕ. Третью группу мышей использовали в качестве контроля, которая получала физиологический раствор.

По 10 мышей каждой группы убивали через 6, 12 часов, 24 часа и через 2 суток после введения исследуемой культуры. Вскрывали кишечники мышей, отбирали участки тонкого и толстого отделов кишечника и делали соскобы слизистой, захватывая часть кишечного химуса, из которого на 0,9%-ном растворе хлорида натрия готовили серийные 10-кратные разведения. Из каждого разведения брали одну каплю взвеси и наносили ее на различные плотные питательные среды с целью определения количества бактерий различных таксономических групп. Посевы тщательно растирали по поверхности среды, после чего чашки Петри с посевами помещали в термостат при $37-38^\circ\text{C}$ на 24 часа. По окончании культивирования проводили подсчет количества выросших колоний бактерий (КОЕ) разных групп из химуса кишечника мышей. Для культивирования и подсчета количества кишечной палочки использовали среду Эндо, энтеробактерии – среду Плоскирева, энтерококков – энтерококк-агар, лакто- и бифидобактерий среду Блаурокка.

Нами проводилось идентификация изолятов, выделенных из кишечника лабораторных животных при применении штамма *E.coli* 64.

При исследовании установлено, что до применения штамма *E.coli* 64 и после его применения из кишечника мышей выделялись культуры эшерихий, энтеробактерий, энтерококки, лактобактерии и бифидобактерии.

При бактериологическом исследовании кишечного химуса мышей у контрольных животных было выделено от 14 до 18 культур эшерихий. Выделенные культуры эшерихий обладали типичными культурально-биохимическими свойствами. На среде Эндо наблюдался рост в виде сочных круглых, гладких колоний красно-малинового цвета. Они не обладали способностью гемолизировать эритроциты животных.

Через 24 часа после приема препарата «Антакон» из штаммов *E.coli* 64 количество эшерихий по сравнению с контролем возрастало на порядок, независимо от метода введения исследуемых культур эшерихий (Таблица 1). На 2 и 3 сутки численность их увеличилась соответственно в 5 и 7 раз.

Идентификация культур эшерихий, выделенных из кишечника белых мышей после применения штамма *E.coli* 64 показало, что все культуры по своим культурально-биохимическим, антигенным и адгезивным свойствам соответствуют штамму *E.coli* 64.

Таблица 1. Количество бактерий разных групп в химусе кишечника белых мышей

Группа	Эшерихии	Энтеро- Бактерии	Энтеро- кокки	Лакто- бактерии	Бифидо- бактерии
Контрольная (фоновое иссл.)	$14 \pm 0,12$	$32 \pm 0,07$	$19 \pm 0,11$	$3 \pm 0,19$	$3 \pm 0,16$
Опытная через 24ч.	$33 \pm 0,14$	$19 \pm 0,14$	$11 \pm 0,15$	$2 \pm 0,01$	$2 \pm 0,15$
Примечание. $P < 0,05$					

При бактериологическом исследовании кишечного химуса мышей у контрольных животных было выделено от 32 до 45 культур энтеробактерии. Первичной идентификацией выделенных культур на среде Плоскирева установлено: 85 до 90% – сальмонеллы (колонии

бесцветные, полупрозрачные, плоские), 5- 8% - клебсиеллы (розовые, с желтым центром, выпуклые), 1- 2% - протеи (прозрачные, выпуклые, с желтовато-розовым перламутровым оттенком).

Изучение антигенных свойств выделенных культур энтеробактерии подтвердило их типовую специфичность. Через 24 часа после приема препаратов из штамма E.coli 64 количество энтеробактерии по сравнению с контролем значительно понизилось в 2-3 раза.

Энтерококки в кишечном химусе в основном были представлены *Streptococcus faecalis*. Численность энтерококков, лактобактерий и бифидобактерий в кишечном химусе мышей через 24 часа после приема препаратов из штамма E.coli 64 по сравнению с контролем незначительно снизилось, затем на 2 и 3-е сутки после исключения из рациона испытуемого штамма увеличилась, чем в контроле, в 1 и 2 раза.

Выводы. Исследования показали, что сравнительно краткосрочное 2 - суточное применение штамма E.coli 64 оказало выраженное регулирующее влияние на микрофлору кишечника мышей. Через 24 часа после прекращения дачи штамма E.coli 64, количество эшерихий по сравнению с контролем возрастало на порядок, независимо от метода введения исследуемых культур эшерихии. На 2 и 3 сутки численность их увеличилась соответственно в 5 и 7 раз.

Штамм E.coli 64, используемый для изготовления препарата «Антакон», обладает характерными признаками для рода *Escherichia* и отвечает всем требованиям, предъявляемым к пробиотикам: является нормальным обитателем желудочно-кишечного тракта здорового животного, непатогенный, нетоксичный; метаболически активный в экосистеме желудочно-кишечного тракта; переносит пассаж через желудок; обладает способностью к адгезии на эпителии и приживанию в кишечном тракте; стабильный и способный длительное время оставаться жизнеспособными при хранении в производственных условиях; безопасный для молодняка сельскохозяйственных животных; имеет генетические маркеры для отличия его от штаммов естественного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стегний, Б.Т., Гужвинская, С.А. Перспективы использования пробиотиков в животноводстве // Ветеринария.-2005.-№ 5.-С. 10-12.
2. Панин, А.Н., Малик, Н.И. Пробиотики - неотъемлемый компонент рационального кормления животных. [Текст]: / А.Н.Панин А// Ветеринария.-2006.-№ 7.-С. 3-6.
3. Новик Г.И., Самарцев А.А. Биологическая активность микроорганизмов – пробиотиков //Прикладная биохимия и микробиология - 2006.- №2 – С. 39-42.
4. Бияшев К.Б., Киркимбаева, Ж.С., Жумашева, Ж. Распространение желудочно-кишечных болезней новорожденных животных. // Вестник с-х науки.-2009.-№11.-С. 16-18.
5. Kirkimbaeva Zh., Biyashev B., Ermagambetova S, Zhakupova A. Determination of antagonistic activity of isolated strains E.coli /VII Междунар. Научно-практ.конф. «Проблемы и перспективы развития науки в начале третьего тысячелетия в странах СНГ 29-31 января 2013 г., Переслав-Хмельницкий /Украина/, - 2013. -№3.- С.8-10.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МАСТИТОВ У КОРОВ

PhD – докторант *Жылкайдар Арман Жетписбаевич*,
Профессор *Бияшев Кадыр Бияшевич*,
Профессор *Ермагамбетова Светлана Емлсовна*,
PhD – доктор *Жуманов Кайрат Токсанбаевич*,
Ассистент магистр *Кошкимбаев Серик Сейдимханович*,

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. Diseases of the mammary gland, and above all, mastitis, are a big problem for veterinary science and practice of national and social importance. In the farms of our country, from 20 to 40% of cows suffer from mastitis. Moreover, the most common is subclinical form, which is registered 2-4 times more often than clinical mastitis. The etiology of mastitis and the role of the infectious agent remains insufficiently studied.

Keywords: cow, mastitis, clinical and subclinical form, productivity.

Введение. Развитие животноводства в значительной мере сдерживается распространением различных болезней сельскохозяйственных животных, и в том числе маститов. Маститы (воспаления молочной железы) в 70 – 90 % случаев протекают без ясно выраженных клинических признаков (скрытое течение). Падёжа животных, как правило, не наблюдается. Однако у животных, больных маститами, снижаются удои, а после переболевания некоторые из них вообще утрачивают способность продуцировать молоко вследствие атрофии одной или нескольких четвертей вымени.

Причиняемый этой болезнью экономический ущерб складывается из прямых и косвенных убытков. Основными из них являются: снижение молочной продуктивности, увеличение заболеваемости телят, ухудшение качества молока и молочных продуктов, вызывающие массовые интоксикации и токсикоинфекции у людей.

Маститы значительно сокращают срок эксплуатации животных. Средняя продолжительность продуктивной жизни коров из-за ранней вынужденной выбраковки составляет 3-4 лактации, что совершенно недостаточно, так как не охватывает период наивысшей молочной продуктивности коров и увеличивает затраты на воспроизводство молочного стада, увеличивает количество бесплодных коров и расходы на организацию и проведение противомаститных мероприятий [1, 2, 3].

В настоящее время в ветеринарной практике для лечения маститов широко применяются антибиотики. Однако, в связи с появлением резистентных к ним рас микробов, лечебный эффект нередко снижается, особенно малоэффективными оказались они против маститов кокковой этиологии.

В целях увеличения количества коров, удлинения срока их молочной продуктивности и увеличения производства молока в нашей стране, изучение этиологии, диагностики, совершенствование существующих и изыскание новых методов профилактики маститов является актуальной задачей.

Результаты исследования. Задачи наших исследований являлось определение наиболее эффективных диагностических средств субклинических (скрытых) форм маститов у крупного рогатого скота, изучение этиологической природы мастита у коров в различных хозяйствах Казахстана. Всего исследовано 2330 проб молока от 585 коров.

Перед взятием молока осматривали животных по принятой в клинической практике схеме. Анамнестические данные о животных устанавливали из книг учета, документов бонитировки, а также опроса обслуживающего персонала и специалистов-животноводов. Для определения субклинического мастита существует много методов, однако, ни один из них не получил преимущественного признания.

Нами использовались следующие диагностические тесты: 1) проба с димастинном, 2) проба мастидином, 3) проба отстаивания.

Молоко при маститах содержит повышенное количество лейкоцитов и в основном имеет щелочную реакцию. Действие мастидина и димастина основано на выявлении увеличенного количества лейкоцитов и изменений реакции (pH) молока.

Цвет смеси при работе с *димастинном*: 1) оранжевый, оранжево-красный (красно-оранжевый) - нормальная слабокислая реакция молока; 2) желтый - повышенная кислотность

молока; 3) красный - сдвиг в сторону повышения щелочности; 4) алый, пунцовый, малиновый - повышенная щелочность.

При использовании *мастидина* цвет смеси при нормальной реакции (pH) молока светло-сиреневый, дымчатый, при кислой - почти белый, при щелочной - темно-сиреневый, фиолетовый.

Одновременно ставилась *проба отстаивания*: в конце доения из каждой доли отдельно выдаивалось в стерильные пробирки по 10 мл паренхимного молока. После 18 - 24 часового отстаивания на холоде (при 4 - 6 °С) пробирки с молоком просматривались и определялось наличие осадка, его объем, характер и цвет, а также внешний вид плазмы и сливок.

В молоке здоровых коров осадка не наблюдалось. Появление на дне пробирки беловатого осадка в виде плоского кружочка диаметром 3 – 5 мм указывало на заболевание подострым или хроническим серозным маститом.

При обследовании 585 животных в 5,35 % случаев диагностирована клиническая и в 23,5 % - субклиническая формы маститов (Таблица 1).

Таблица 1. Исследования субклинических форм маститов у коров

Метод исследования	Кол-во Проб	Выявлено положительно реагирующих		Совпадение с пробой отстаивания		Несовпадение с пробой отстаивания	
		проб	%	проб	%	Проб	%
Проба отстаивания	2330	186	8,0	186	100	-	-
Димастин	2330	168	7,2	168	90,3	18	9,7
Мастидин	2330	127	5,4	127	68,3	59	31,7

Приведенные данные показывают, что при выявлении субклинических форм маститов проба с димастинном в основном совпадает с пробой отстаивания. Проба с мастидином совпадала с пробой отстаивания в 68,3 % случаев, в тоже время в 59 пробах она дала положительный результат с молоком из здоровых долей.

Бактериологическому исследованию подвергнуто 1000 проб молока от 250 коров, в том числе из долей вымени клинически больных маститом – 150, субклиническим маститом – 298 и здоровых – 552.

Исследования проводили согласно «Методическим указаниям по бактериологическим исследованиям молока и секрета вымени коров».

Из каждой пробы делался посев молока на МПА в чашках Петри, а также на солевой, кровяной агар и на среду Эндо. Для посева брали 0,1 см³ пробы и распределяли ее по поверхности стерильным шпателем, далее инкубировали при 37 °С в течение 24 часов. Проводили учет результатов.

Первичный отбор культур проводился на основании особенностей роста на средах и микроскопии препаратов из отдельных колоний.

У выделенных культур изучали морфологические, культуральные, биохимические свойства по общепринятым схемам.

Идентификацию выделенных культур проводили по определителю Бержи [4].

Результаты бактериологических исследований проб молока от 250 коров, больных клиническим и субклиническим маститом, а также от здоровых животных приведены в таблице 2.

Таблица 2. Культуры, выделенные из молока больных и здоровых коров

Всего исследовано проб из них от животных	Наименование культур												Всего выделено	
	Стафило кокки		Стрепто кокки		кишечная палочка		Дипло кокки		клебсиеллы		микоплазмы			
	кол- во	%	кол- во	%	кол- во	%	кол- во	%	кол- во	%	кол- во	%	кол- во	%
Клиническим маститом – 150	86	14,6	23	9,6	19	17,4	14	56,0	21	41,1	22	40,0	185	17,3
Субклиничес- ким маститом – 298	351	59,5	129	53,9	57	52,2	10	40,0	19	37,2	24	43,6	590	55,2
От здоро- вых – 552	153	25,9	87	36,5	33	30,4	1	4,0	11	21,7	9	16,4	294	27,5
ИТОГО 1000 проб	590	100	239	100	109	100	25	100	51	100	55	100	1069	100

Материалы таблицы показывают, что при бактериологическом исследовании проб молока от 250 коров, было выделено 1069 культур, из них от больных клиническим маститом - 185 (17,3 %), субклиническим – 590 (55,2 %) и от здоровых – 294 (27,5 %), основную роль в этиологии маститов играют стафилококки (590 штаммов) и стрептококки (239).

В наибольшем количестве стафилококки (351 штаммов) и стрептококки (129) выделяются с молоком коров, больных субклиническим маститом.

Выводы. Проба с реактивом димастин, наряду с простотой и доступностью применения для широкой практики, показала высокую диагностическую ценность. Поэтому при массовой проверке коров, на наш взгляд, наиболее целесообразно применять пробу с реактивом димастин и пробу отстаивания, как наиболее объективные методы диагностики субклинических форм маститов.

Комплексное исследование причин мастита у коров позволило установить, что основным возбудителями маститов у коров являются стафилококки (55,2 %) и стрептококки (22,4 %), в меньшей степени кишечная палочка (10,1 %), диплококки (2,3 %), клебсиеллы (4,7 %), микоплазмы (5,1 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузьмин Г.Н., Казаков С.А. Этиологическая структура бактериального мастита у коров на фермах Центрального Черноземья // Сб. науч. тр.- Краснодар, 2001. - С. 202-203.
1. 2. Shathele M. S. Weather effect on bacterial mastitis in dairy cows // International Journal of Dairy Science. 2009. №2. - s. 19 – 21.
2. Белкин Б.Л. Мастит коров: этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика/Монография. - Изд-во ОреГАУ. - 2009, 216с.
3. Определитель бактерий Бержи. //под ред. Дж. Хоулта и др. 9-е издание. М., Мир, 1997, 800 с.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КОРОВ БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ

PhD – докторант **Жылкайдар Арман Жетписбаевич**,
Ассистент магистр **Кошкимбаев Серик Сейдимханович**,
Ассистент магистр **Алтенев Абдиразак Еркинович**,
Ассистент магистр **Кулыбай Ермек Ержанович**,
Ассистент магистр **Шаяхмет Ерсұлтан Бакытович**,

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. Effective control of animal mastitis is possible only when determining the true causes of its occurrence. However, the etiology of this disease has not yet been disclosed. On this issue there are completely opposite points of view and, as a result, completely different, sometimes even contradictory measures to combat it are proposed. However, giving preference to one factor and discarding others, it is impossible without establishing the true causes of the disease to suggest measures against cattle mastitis.

Keywords: mastitis, etiology, staphylococci, streptococci, disease.

Введение. Несмотря на то, что за последние 15 - 20 лет заболеванию коров маститом уделялось большое внимание со стороны специалистов и ученых, все же его уровень остается достаточно высоким. Хотя, что за последние годы произошло разукрупнение молочных ферм и комплексов, снижение в связи с этим, концентрации коров на ограниченной территории, а также уменьшение общего поголовья коров, заметного снижения уровня заболеваемости маститом не отмечается [1].

Это связано со многими причинами. На этапе построения многоукладного хозяйства нарушена существовавшая стройная система обеспечения их моющими, дезинфицирующими, диагностическими, терапевтическими средствами. Низкий уровень технического обслуживания механизированных и автоматизированных систем привело к возникновению новых проблем ведения молочного хозяйства. В этих условиях нельзя было ожидать снижения заболеваемости животных вообще, и заболевания коров маститом, в частности

Причины возникновения мастита крупного рогатого скота в настоящее время до конца не изучены. По этому вопросу существуют совершенно противоположные точки зрения.

В частности, В. И. Мутовин и др., считает, что в этиологии мастита главную роль (около 80 % случаев) играют нарушения ветеринарно-зоотехнических правил кормления, содержания и доения коров, травмы и послеродовые осложнения. Причем основное значение придается кормлению, а микроорганизмам отводится второстепенная роль.

Маститы неинфекционной этиологии большей частью является результатом нарушения правила машинного доения. Здесь, прежде всего, необходимо иметь в виду следующие причины: неполное выдаивание, передержка доильных стаканов на сосках, чрезмерный вакуум (150 и более мл. ртутного столба) в доильных стаканах и т. п. [2, 3].

В более редких случаях неинфекционные маститы возникают как результат простуды, неудовлетворительного санитарного состояния в коровнике.

Другие же ученые считают, что микробный фактор является основным, на его долю приходится около 85% всех случаев мастита [4].

В настоящее время известно около 90 видов условно патогенных микроорганизмов - возбудителей мастита. Наиболее важным и частыми возбудителями мастита являются стафилококки, стрептококки, эшерихии, сальмонеллы, псевдомонады, коринебактерии, микоплазмы, кампилобактерии.

Однако принято считать, что основные возбудители мастита - патогенные стафилококки и стрептококки, наиболее часто выделяемые из молока и секрета вымени больных коров.

Все группы стафилококков и стрептококков, которые могут вызывать болезнь у животных, у людей вызывают заболевания дыхательных путей (ангина, скарлатина, фарингиты и др.), септические процессы (септицемия и пиемия, эндокардит), интоксикацию организма, а также раневые и гнойные инфекции.

По данным ряда авторов золотистый стафилококк - наиболее частый возбудитель среди всех стафилококков: на его долю приходится от 50,0 % до 85,0 % случаев, причем мастит, вызываемый золотистым стафилококком наиболее опасен, поскольку его трудно

ликвидировать из-за его устойчивости к действию антибиотиков, к тому же он способен паразитировать внутри клеток [5,6].

В настоящее время нет четкой границы в определении патогенности отдельных микроорганизмов. Обладая убиквитарностью, способностью к необычайно быстрому размножению, пластичностью, а также неприхотливостью в использовании источников питания и энергии, многие, ранее считавшиеся условно патогенными, микроорганизмы приобрели новые свойства и экологические ниши и играют сегодня существенную роль в развитии разного рода заболеваний макроорганизма, в том числе и маститов у коров.

Ввиду актуальности проблемы во многих странах Западной Европы и Северной Америки разработаны и введены в повседневную практику национальные программы «Здоровое вымя». Принятие подобной программы намечалось и в Республике Казахстан, однако в связи с экономическими трудностями в сельском хозяйстве ее выполнение было отложено.

Таким образом, представленные материалы о распространении, этиологии и патогенезе мастита коров свидетельствует о том, что этому заболеванию по-прежнему уделяется большое внимание, как со стороны отечественных, так и зарубежных исследователей. Несмотря на значительные разработки в этом направлении, анализируя многочисленные работы ученых, производственные условия эксплуатации молочных коров, можно объяснить недооценку этого заболевания в целом.

Результаты исследования. Ранее, при изучении этиологической природы мастита у коров в различных хозяйствах Казахстана установили, что основными возбудителями маститов у коров являются стафилококки – 590 культур (55,2 %) и стрептококки – 239 (22,4 %), в меньшей степени кишечная палочка – 109 (10,1 %), диплококки – 25 (2,3 %), клебсиеллы – 51 (4,7 %) и микоплазмы – 55 (5,1 %).

В связи с тем, что доминирующими инфекционными агентами при мастите у коров выявлены стафилококки и стрептококки, были предприняты попытки дать подробную характеристику стафилококков и стрептококков.

Все 590 штаммов стафилококков обладали типичными морфологическими и тинкторальными свойствами. Культуры хорошо росли на МПА в виде мелких, круглых, гладких колоний, с характерным пигментообразованием: золотистым, белым, лимонно-желтым.

Для определения патогенности стафилококков, мы использовали следующие тесты: реакция плазмокоагуляции, реакция гемолиза, дермoneкротическая проба, пигментообразование, фаготипирование.

Из исследованных 590 штаммов стафилококков, выделенных из молока коров, коагулировали плазму 259 штаммов или 44,0 %, из них в течение 1 часа 68 штаммов или 26,9 %, 1–2 часов – 41 или 15,8 %, 3 часа – 6 или 2,7 %, 6 часов – 99 или 38,4 % и в течение 18 часов – 41 или 16,2 % штаммов. Наибольшее число (42,7 %) штаммов коагулировали плазму в течение 1-2 часов. Из числа плазмокоагулирующих стафилококков 44 штамма (14,7 %) были выделены из молока здоровых коров, 172 (57,8 %) из молока коров с субклиническим маститом и 81 штамм (27,5 %) из молока коров с клиническим маститом.

По нашим данным из 590 штаммов стафилококков продуцировали гемотоксин 316 (53,7 %). Из 316 гемолитических штаммов 91 (28,8 %) продуцировали альфа - гемотоксин, 10 (3,1 %) – бета - гемотоксин, 8 (2,5 %) дельта - гемотоксин, 100 (31,6 %) – смешанный типы гемотоксина (альфа-бета), 81 (25,7 %) – альфа-бета-дельта, 14 (5,8 %) – альфа-дельта, 8 (2,5 %) – бета-дельта.

Учитывая, что основными критериями патогенности стафилококков являются плазмокоагуляция и гемолитическая активность, дальнейшие исследования проводили только с 259 коагулазоположительными штаммами.

Одним из признаков патогенности стафилококка является его способность вызывать инфильтрат и некроз при введении в кожу. Дермoneкротизирующие свойства изучали на кроликах, положительную реакцию (некроз) дали 61,1 % исследованных культур, сомнительную (инфильтрация и покраснение) – 26,5 % и отрицательную – 12,5 % культур.

Образование стафилококками золотистого пигмента часто ассоциируется с патогенностью и этот критерий широко фигурирует в различных схемах классификации.

Все 590 штаммов стафилококков обладали типичным морфологическими и тинкторальными свойствами. Из 590 штаммов стафилококков, 386 (65,5 %) штаммов отнесены к *Staphylococcus aureus*, 150 (25,5 %) – *Staphylococcus albus*, 54 (8,0 %) – *Staphylococcus citreus*.

Успешная борьба с маститами стафилококковой этиологии зависит от их своевременной идентификации, выявления источников и путей распространения инфекции.

Новым достижением в области бактериологической диагностики пищевых отравлений стафилококковой этиологии является фаготипирование.

В специальной ветеринарной литературе очень мало работ по вопросу определения фаголизависимости стафилококков (Б.А. Степанов, 1967; Н. Маматов, 1967).

В связи с этим мы задались целью дать фаготипаж патогенных стафилококков, выделенных от коров, больных маститами.

Фаготипирование патогенных стафилококков проводилось с помощью типовых стафилококковых фагов, полученных из лаборатории стафилококковых инфекций Института эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи АМН России.

Основной набор состоял из 22 типовых фагов. Эти фаги разделены на 4 группы.

В связи с этим мы задались целью дать фаготипаж патогенных стафилококков, выделенных от коров, больных маститами.

Фаготипирование патогенных стафилококков проводилось с помощью типовых стафилококковых фагов, полученных из лаборатории стафилококковых инфекций Института эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи АМН России. Основной набор состоял из 22 типовых фагов. Эти фаги разделены на 4 группы.

Нами исследовано 259 коаглагоположительных штаммов стафилококков, которые были выделены из молока как от здоровых коров, так и от коров с субклиническими и клиническими формами маститов. Из изученных культур стафилококков типировались 171 штаммов (66,3 %) и не типировались 88 культур (33,7 %). Из 171 типизируемых штаммов 111 (65,0) лизировались фагами в дозе ГР (тест-разведения) и 59 (35 %) – в дозе ТР. Во многих случаях штаммы лизировались не одним, а несколькими фагами, что дает для каждого штамма характерную – фагомозаику.

Из 171 типизированных штаммов 81 или 47,7 % коагулируют плазму в течение 1-2 часов и 74 (43,6 %) штаммов в течение 2-6 часов, что составляет 91,3 %, 158 (92,9 %) содержали альфа - гемотоксин или в сочетании с другими гемотоксинами.

Согласно нашим материалам, из 171 типизируемых штаммов 132 культуры являлись *Staphylococcus aureus*. Характерно, что из этих 132 штаммов 62 (47,1 %) типировались фагом 42Д.

При анализе результатов фаготипирования стафилококковых штаммов в зависимости от источника, из которого они были выделены, нами получены следующие данные: из 171 типизированных штаммов 55 культуры (32,5 %) были выделены от коров с клиническими маститами, 95 (55,8 %) – при латентной форме мастита и 20 (11,7 %) – от здоровых коров.

Фаготипирование набором международных стафилококковых фагов 297 стафилококковых штаммов, выделенных при носительстве из разных источников, показало, что наибольшее число стафилококков лизируется фагами III и IV групп.

Из типизированных штаммов встречаются фаготипы (6/7/47/42Е), образующие энтеротоксин и вызывающие при употреблении молока и молочных продуктов пищевые отравления у людей.

Основным источником обсеменения молока патогенными стафилококками являются коровы, страдающие воспалительными процессами вымени.

Как правило, в исследованном нами хозяйстве преобладал один и тот же фаготип стафилококков. Из этого вытекает, что передача инфекции от одного животного к другому, вероятно, осуществляется через доильную аппаратуру, предметы обихода и обслуживающим персоналом.

Таким образом, из 590 штаммов стафилококков, 260 (44,1 %) были патогенными и в большинстве случаев (436 штамма) выделялись из долей вымени с клиническим и субклиническим маститом.

Из 240 штаммов стрептококков 130 (54,1 %) выделены из молока коров при латентной форме мастита, 24 (10,0 %) – при клиническом мастите и 88 (36,6 %) штаммов из молока здоровых коров.

Все 240 штаммов стрептококков обладали типичными морфологическими и тинкториальными свойствами. Культуры хорошо росли на МПА в виде сероватых, просвечивающихся блестящих колоний. При выращивании исследуемых культур на МПБ, среда оставалась прозрачной, а на дне пробирки образовывался осадок в виде крупинки или мелких хлопьев, легко разбивающихся при встряхивании.

Из всех исследуемых культур 215 штаммов образовывали вокруг колонии ясную зону гемолиза типа β , 4 – зону гемолиза типа α (зеленящий стрептококк) и 20 штаммов гемолизитическими свойствами не обладали.

На средах с pH – 9,6 и 6,5 % поваренной соли у всех штаммов роста не обнаружено. На среде с 10 % желчи все штаммы давали слабый рост.

Результаты исследования по описанным выше показателям позволили отнести выделенные 240 культур стрептококков по их культурально-биохимическим и морфологическим свойствам к следующим серологическим группам: группе В (*Str. agalactiae*) – 216 штаммов, к молочнокислым стрептококкам – 19 штаммов и к зеленым стрептококкам – 5 штаммов. Кроме того, для дифференциации стрептококков группы В (*Str. agalactiae*) от других серологических групп применялся САМР – метод.

Нами проведены исследования по определению патогенности культур стафилококков и стрептококков, выделенных от коров с субклиническим и с клинической формой мастита в опыте на белых мышах. Подопытные животные погибали в течение первых 3 суток, в пределах 55,8 %. Полученные результаты исследований показывают, что стафилококки и стрептококки играют значительную роль в этиологии скрыто протекающих и клинических форм маститов у коров.

Выводы. Из исследованных 590 штаммов стафилококков, выделенных из молока коров, 259(44,0 %) штаммов - коагулировали плазму, 316 (53,7 %) - продуцировали гемотоксин, 360 (61,1 %) –обладали дермонекротизирующими свойствами.

Из 590 штаммов стафилококков, 386 (65,5 %) штаммов отнесены к *Staphylococcus aureus*, 150 (25,5 % – *Staphylococcus albus*, 54 (8,0 %) – *Staphylococcus citreus*.

При анализе результатов фаготипирования стафилококковых штаммов в зависимости от источника, из которого они были выделены, нами получены следующие данные: из 171 типированных штаммов 55 культуры (32,5 %) были выделены от коров с клиническими маститом, 95 (55,8 %) – при латентной форме мастита и 20 (11,7 %) – от здоровых коров.

Из типированных штаммов встречаются фаготипы (6/7/47/42Е), образующие энтеротоксин и вызывающие при употреблении молока и молочных продуктов пищевые отравления у людей. Основным источником обсеменения молока патогенными стафилококками являются коровы, страдающие воспалительными процессами вымени.

Из 240 штаммов стрептококков - 130 (54,1 %) выделены из молока коров при латентной форме мастита, 24 (10,0 %) – при клиническом мастите и 88 (36,6 %) штаммов из молока здоровых коров.

Из всех исследуемых культур 215 штаммов образовывали вокруг колонии ясную зону гемолиза типа β , 4 – зону гемолиза типа α (зеленый стрептококк) и 20 штаммов гемолизитическими свойствами не обладали.

На средах с рН – 9,6 и 6,5 % поваренной соли у всех штаммов роста не обнаружено. На среде с 10 % желчи все штаммы давали слабый рост.

Результаты исследования по описанным выше показателям позволили отнести выделенные 240 культур стрептококков по их культурально-биохимическим и морфологическим свойствам к следующим серологическим группам: группе В (*Str. agalactiae*) – 216 штаммов, к молочнокислым стрептококкам – 19 штаммов и к зеленым стрептококкам – 5 штаммов.

Таким образом, результаты исследования культур стафилококков и стрептококков, выделенных из молока коров, больных клиническим и субклиническим маститом, по морфологическим, тинкторальным, культуральным, биохимическим, антигенным и патогенным свойствам доказывают о этиологической роли их в заболевании маститом у крупного рогатого скота

ЛИТЕРАТУРА

1. Зверева Г.В., Хомин С.П., Тирановец В.И., Андросюк М.Г. Акушерська і гінекологічна диспансеризація у системі профілактики неплідності та маститів у корів // Наук. вісн. Нац. аграр. ун-ту: Проблеми фізіології і патології відтворення тварин. – К., 2000. – Вип. 22. – С. 21-23.
2. Исайкина, Е.Ю. Диагностика и лечение субклинического мастита стафилококковой и стрептококковой этиологии крупного рогатого скота/ Н.А. Сивожелезова, О.Л. Карташова, Е.Ю. Исайкина. Методические рекомендации. Оренбург, 2002. - 14 с.
3. Черпакина, Л.А. Мастит коров кокковой этиологии как факторная инфекция и рациональные способы его терапии /Монография. -Изд-во Орел ГАУ. - 2007, 155с.
4. Steeneveld W., Hogeveen H., Barkema H.W. The Influence of Cow Factors on the Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Cows // American Dairy Science Association. 2008. №4. - s. 31 – 35.
5. Shathele M. S. Weather effect on bacterial mastitis in dairy cows // International Journal of Dairy Science. 2009. №2. - s. 19 – 21.
6. Biyashev K.B., Biyashev B.K., Oryntaev K.B. «Biological preporties of staphylococci isolated from cows with mastitis». Исследования, результаты №1. Алматы 2016 г. стр. 24-27.

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЛЕПТОСПИРОЗУ ЖИВОТНЫХ В КАЗАХСТАНЕ

*Профессор Киркимбаева Жумагуль Слямбековна,
Профессор Бияшев Биржан Кадырович,
Профессор Ермагамбетова Светлана Емльсовна,
PhD – доктор Жолдасбекова Асель Еркинбековна,
PhD – доктор Жуманов Кайрат Токсанбаевич*

Казахстан, Алматы, Казахский Национальный Аграрный Университет

Abstract. The data on the study of the etiological structure of leptospirosis of animals, with the definition of the major leptospira serovars, distributed in Kazakhstan, are presented.

Keywords: leptospirosis, animals, morbidity, natural focus.

Введение. Создание стабильного благополучия территории Республики Казахстан по инфекционным болезням и обеспечение биологической безопасности является важной задачей для улучшения социально-экономической обстановки и укрепления национальной безопасности. Вспышки инфекционных болезней животных наносят большой социально-экономический ущерб. Природа Казахстана весьма разнообразна, ее фауна насчитывает множество видов, через пространства республики проходят пути сезонных миграций диких животных и птиц, что не может не оказывать влияние на экологию возбудителей инфекций. Кроме того, в последние годы в связи с развитием экономики республики повысилась интенсивность взаимных контактов с зарубежными странами, в том числе по запуску племенных животных, продуктов животного происхождения. Указанные факторы способствуют значительному усилению циркуляции и увеличению вероятности заноса в республики разнообразных инфекций.

В настоящее время на территории Республики Казахстан зарегистрировано 127 нозологических форм, в том числе 33 (30,8%) - болезни общие для многих видов животных, 18 (16,8%) - болезни крупного рогатого скота, 13 (12,1%) - овец и коз, 12 (11,2%) - лошадей, 2 (1,9%) - верблюдов, 7 (6,5%) - свиней, 13 (12,1%) - птиц, 4 (3,7%) - пушных зверей и собак, 5 (4,7%) - пчел. В этой связи контроль эпизоотической ситуации по инфекционным заболеваниям является важной задачей ветеринарных служб Казахстана, поскольку инфекционные заболевания могут привести к тяжелым экономическим потерям в стране.

Залогом успешной борьбы с любым инфекционным заболеванием является правильно разработанный комплекс мероприятий, включающий в себя своевременную и эффективную диагностику, специфическую профилактику и разработку мер по оздоровлению хозяйств. Лептоспироз является инфекционным заболеванием многих видов животных, птиц и человека. Природные очаги лептоспироза зарегистрированы во многих странах мира, в том числе и в Казахстане. Многочисленные серовары лептоспир, по числу которых род *Leptospira* уступает только энтеробактериям, обусловлен экологической пластичностью возбудителя. Морфологические и патогенные особенности лептоспир обеспечивают легкое включение в эпизоотическую цепь большого количества теплокровных животных, вызывая патологию с широкой вариабельностью симптомов болезни.

В Казахстане этиологическая структура лептоспироза сельскохозяйственных животных не стабильна в зависимости от регионов. Для достижения эпизоотического благополучия по указанной инфекции необходимо проводить постоянный мониторинг с широким спектром диагностических исследований.

Результаты исследования. В 1983 году Международный подкомитет по таксономии лептоспир и спирохет выделил лептоспиры в самостоятельное семейство *Leptospiraceae* в порядке *Spirochetaliales*. Его включили род *Leptospira*, объединяющий два вида: *L.interrogans* - патогенные лептоспиры и *L.biflexa* - лептоспиры-сапрофиты.

Изучение эпизоотологических особенностей лептоспироза животных в Казахстане, а также этиологической структуры с определением основных сероваров лептоспир, поражающих животных на территории республики, проводили по годовым ветеринарным отчетам Комитета ветеринарии МСХ РК.

С целью изучения распространения лептоспироза в республике было проведено серологические и бактериологические исследования проб, взятых от сельскохозяйственных животных.

К серологическому исследованию были подвергнуты 162 образца сыворотки крови, из которых 75 проб получено от крупного рогатого скота, 19 - от лошадей, 5 - от мелкого рогатого скота, 6 - от свиней. Из всех исследованных образцов лептоспирозные антитела обнаружены в 23 (14,19%) пробах. При этом 10 (13,3%) проб от крупного рогатого скота, 5 (11,9%) - от мелкого рогатого скота, 6 (23%) - от свиней, 2 (10,5%) - от лошадей. Положительная реакция получена с лептоспирами следующих серологических групп: Pomona - 4 (17,3%), Tarassovi - 5 (21,7%), Hebdomadis - 5 (21,7%), Sejroe - 1 (4,3%), Icterohaemorrhagiae - 5 (21,7%), Grippotyphosa - 3 (16,0%).

При этом результаты исследований показали, что у крупного рогатого скота из 10 серопозитивных показателей к серотипу Hebdomadis соответствовали - 3 образца, Grippotyphosa - 2, Pomona - 2, Tarassovi - 2, Sejroe - 1; из 5 положительных реакции от овец, соответствовали серотипу Hebdomadis - 2, Icterohaemorrhagiae - 3; из 6 положительных реакции от свиней, соответствовали серотипу Pomona - 2, Tarassovi - 3, Icterohaemorrhagiae - 1; из 2 положительных реакции от лошадей, соответствовали серотипу Grippotyphosa - 1, Icterohaemorrhagiae - 1.

Патогенность и вирулентность отобранных нами эпизоотических культур лептоспир в сравнении с музейными штаммами проверяли на золотистых хомячках 20-30 дневного возраста. Животных заражали внутрибрюшинно 7-10 дневной культурой, содержащей 200-250 лептоспир в поле зрения микроскопа.

Многие исследователи в качестве показателя патогенности культур лептоспир считают, что, если культуры лептоспир убивают золотистых хомячков на 5-10 сутки в дозе 0,1 см³ являются высоковирулентными, в дозе 0,3 мл - средневирулентными и в дозе 0,5-1,0 см³ - слабовирулентными.

В результате экспериментального заражения золотистых хомячков эпизоотическими и музейными штаммами лептоспир было установлено, что между патогенными лептоспирами существует больше сходства, чем различий. Некоторые особенности клинических проявлений и морфологических изменений в органах и тканях имеют скорее количественный, чем качественный характер. Течение болезни обуславливается не столько антигенными различиями между серотипами лептоспир, сколько вирулентностью штамма.

Таким образом, исследуемые штаммы L.pomona, L.grippotyphosa, L.tarassovi, L.hebdomadis были высоковирулентными, L.icterohaemorrhagiae, L.sejroe - средней вирулентности и только штамм L.canicola - был слабовирулентным. Все эталонные штаммы L.pomona, L.grippotyphosa, L.icterohaemorrhagiae, L.tarassovi, L.canicola, L.hebdomadis, L.sejroe были отнесены к культурам лептоспир средней вирулентности.

Из приведенных материалов ясно, что в сыворотке исследованных животных были обнаружены специфические антитела в большинстве случаев Pomona, Grippotyphosa, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis.

Результаты наших исследований показывают наличие в республике природных очагов заболевания.

В южных регионах республики в основном нами зарегистрирован лептоспироз крупного рогатого скота и овец. При этом большинство случаев заболеваний приходилось на июнь-июль месяцы. Болезнь протекала с признаками повышения температуры тела до 40,5-41°C, желтухи и гемоглобинурии. У лактирующих животных удои резко снижались. Наблюдались признаки атонии преджелудков в виде замедления перистальтики и часто отмечалась тимпания рубца. Некрозы кожи в виде шелушения эпидермиса в области поясницы и шеи наблюдали лишь в двух случаях. Летальность составляла в пределах около 12%. В некоторых хозяйствах имеет место абортанная форма лептоспироза. Именно в этом регионе, заболеваемость лептоспирозом является самым высоким.

Диагноз ставили на основе следующих признаков: клинические признаки и патологоанатомические изменения, положительный титр антител, выделение чистой культуры, который был продемонстрирован электронным микроскопом.

В целом, патологоанатомические изменения в органах павших животных изменения в органах и тканях носили более или менее одинаковый характер. Видимые слизистые оболочки маслянистые, окрашены в ярко-охряно-желтый цвет. Кожа желтушна. Подкожная клетчатка желтого цвета и студенистая. Дистрофией паренхиматозных органов, особенно почек и печени; ярко выраженным геморрагическим диатезом с множественными кровоизлияниями в почках, печени, легких на эпи- и эндокарде, что согласуются с ранее описанными данными при

лептоспирозе различных животных. При гистологическом исследовании почек обнаруживали негнойный интерстициальный нефрит и расширение просвета извитых канальцев.

Пробы для бактериологических исследований отбирались от свежих трупов и животных, убитых с диагностической целью, а также от абортированных плодов. Высевы на питательные среды делали из почек, печени, мочевого пузыря в 3-5 пробирок на каждую пробу. Параллельно готовили суспензию из внутренних органов, затем микроскопировали в темном поле микроскопа, просматривая не менее 50 полей зрения.

Для обнаружения лептоспир у абортированных плодов микроскопировали суспензию из всех органов и тканей, околоплодной жидкости, транссудат грудной и брюшной полостей, околосердечной жидкости, содержимое желудка. Живые лептоспиры были обнаружены в околоплодной жидкости в виде нитки, которые вращались в разные стороны.

Рост лептоспир в посевах контролировали микроскопированием. Микроскопию проводили с использованием микроскопа Levenhuk D 800 с темнопольным фильтром и с точечной лампой. Использовали сухую систему увеличения объектив x 20-40, окуляр x 7-10]. Для приготовления препаратов брали только чистые, без царапин предметные и покровные стекла.

Для исследования лептоспир в живом состоянии готовили препарат «раздавленная капля». Морфология и характерная активная подвижность, являющиеся основными диагностическими признаками, позволяют отнести исследуемые микроорганизмы к роду *Leptospira*.

Лептоспиры представляли собой длинные нежные клетки, винтообразно закрученные в виде тонкой спирали. Концы крючкообразно загнуты. В культурах свежeweделенных штаммов содержались обычно более короткие особи, а в культурах, длительно культивируемых в лаборатории – более длинные. Лептоспиры совершали активные разнообразные движения. Характерными формами движения являлись: вращательные движения на месте; прямолинейные поступательные перемещения; движение по кругу, при котором дугообразно изгибается все тело лептоспиры.

Для более детального изучения морфологии лептоспир проведена электронная микроскопия выделенных культур лептоспир. При электронной микроскопии в образцах из чистой культуры лептоспиры имели четкую спиралевидную структуру, с осевой нитью и периплазматическим цилиндром.

В результате бактериологических исследований от свиней выделено 5 культур лептоспир, которые были отнесены к следующим сероварам: *L.pomona* -2, *L.tarassovi* – 2, *L.icterohaemorrhagiae* – 1, *L.canicola* – 1; от крупного рогатого скота 8 культур: *L.pomona* – 4, *L.tarassovi* – 1, *L.hebdomadis* – 2, *L.grippotyphosa* – 1; от овец 3 культур: *L.icterohaemorrhagiae* – 2, *L.grippotyphosa* – 1; от лошадей 2 культуры: *L.grippotyphosa* - 1, *L.icterohaemorrhagiae* – 1.

В процессе исследования нами установлено, что Особую эпизоотологическую и эпидемиологическую опасность представляют бессимптомно больные животные-лептоспиноносители. Количество лептоспиноносителей на неблагополучной по лептоспирозу ферме среди крупного и мелкого рогатого скота колеблется от 1-5 до 10-20%; среди свиней - 30-80%. Срок лептоспиноносительства после переболевания или скрытого инфицирования довольно продолжительный: у крупного рогатого скота 1,5-6 месяцев; у овец, коз - 6-9 месяцев; у свиней - от 15 дней до 2 лет; у собак - от 110 дней до 3 лет; у кошек - от 4 до 119 дней; у кур, уток, гусей - от 108 до 158 дней. У таких животных серологическая диагностика зачастую дает отрицательные результаты, в связи с циркуляцией возбудителя только в почках. Здесь лептоспиры могут еще долго после выздоровления животного размножаться и выделяться из организма. Это объясняется тем, что, находясь в извитых канальцах почек, защищены от действия антител. И даже после исчезновения в крови антител лептоспиры продолжают выделять возбудителя, контаминируя окружающую среду. Эта группа животных представляет особую опасность для человека и животных.

Выводы. Серологическому исследованию были подвергнуты 162 образца сыворотки крови, из которых 75 проб получено от крупного рогатого скота, 19 - от лошадей, 5 – от мелкого рогатого скота, 6 - от свиней. Из всех исследованных образцов лептоспирозные антитела обнаружены в 23 (14,19%) пробах.

В результате экспериментального заражения золотистых хомячков эпизоотическими и музейными штаммами лептоспир было установлено, что штаммы *L.pomona*, *L.grippotyphosa*, *L.tarassovi*, *L.hebdomadis* были высоковирулентными, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.sejroe* – средней вирулентности и только штамм *L.canicola* – был слабовирулентным. Все эталонные штаммы

L.pomona, *L.grippotyphosa*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.tarassovi*, *L.canicola*, *L.hebdomadis*, *L.sejroe* были отнесены к культурам лептоспир средней вирулентности.

Результаты наших исследований показывают наличие в республике природных очагов заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Малахов Ю.А., Панин А.Н., Соболева Г.Л. Лептоспироз сельскохозяйственных животных. - Москва, 2000. – 420 с.
2. Бадра Б.М. Лептоспироз как зооантропоноз в мегаполисе: этиологическая структура, эпизоотологические и эпидемиологические особенности, диагностика, профилактика//Автореферат на соискание кандидата ветеринарных наук. г. Санкт-Петербург, 2008г.
3. Белоусов В.И. Лептоспироз животных в Российской Федерации и меры борьбы с ним // Лептоспироз: матер.10-й Всерос. науч. -практ. конф. по лептоспирозу. - Краснодар, 2003. -С.6-10.
4. Leshem E., Segal G., Barnea A., Yitzhaki S., Ostfeld I., Pitlik S., Schwartz E. Travel-Related Leptospirosis in Israel: A Nationwide Study // *Am J Trop Med Hyg.* Mar 2010; 82(3): 459–463.
5. Bruere S. *Leptospira pomona* and abortions in sheep and beef cattle//Society of Sheep and Beef Cattle Veterinarians Newsletter.- 2013. Issue 43, pp 33-34.

АНАЛИЗ ЗАРУБЕЖНОГО ОПЫТА ДЕЯТЕЛЬНОСТИ АПТЕК ПО СБОРУ И ХРАНЕНИЮ ЛЕКАРСТВ, НЕ ПОДЛЕЖАЩИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В ПРОЦЕССЕ ОКАЗАНИЯ НАСЕЛЕНИЮ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ, В СООТВЕТСТВИИ С ТРЕБОВАНИЯМИ НАДЛЕЖАЩЕЙ АПТЕЧНОЙ ПРАКТИКИ

Гала Л. А., канд. фармацевт. наук

Украина, Киев, Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

Abstract. The article presents the results of systematization of foreign experience of pharmacies in collecting and temporarily storing drugs that can no longer be used by the population. We found that in the European pharmaceutical community at the end of the last century a clear position was formulated with regard to the safe handling of drugs. At the same time, each European country has its own peculiarities in organizing the work of the pharmacy for the collection and storage of medicines, which can no longer be used by the population to provide pharmaceutical aid.

Keywords: environmental security, ecological responsibility of pharmacies, pharmaceutical aid, pharmaceutical waste, social responsibility of pharmacies

Введение. В настоящее время здоровье людей и их экологическая безопасность рассматривается как высшая общественная ценность. Формирование условий для сохранения жизни и повышения ее качества является одним из самых важных направлений развития любого государства независимо от его политического устройства и социально-экономического вектора развития. В последнее время все больше внимания уделяется анализу повышения роли аптек в процессе сохранения экологического благополучия и безопасности граждан в условиях повышения требований населения к качеству жизни. Уже в течение нескольких десятилетий усилия влиятельных международных организаций (World Health Organization – WHO, International Pharmaceutical Federation – FIP) и ученых направлены на переосмысление современной роли аптечных учреждений, а также оценку новых форм деятельности фармацевтов [1-3]. Особую актуальность указанные вопросы имеют в условиях внедрения социально адаптированных моделей отношений между различными субъектами в современной системе фармацевтического обеспечения населения [4]. Качественные и количественные изменения, произошедшие на фармацевтическом рынке, а также в отношениях между врачами, пациентами, операторами фармацевтического рынка, государством привели к формированию нового видения современной роли фармацевтических работников в контексте развития фармацевтической помощи [1, 2, 4]. Специалисты отмечают, что с каждым годом возрастает уровень требований к организации профессиональной подготовки фармацевтов, а также существенно расширяется спектр задач деятельности аптек. Пути решения проблемы потенциальной опасности для общества и окружающей среды лекарственных средств (ЛС) стали одним из направлений работы 76-го Всемирного конгресса по фармации и фармацевтическим наукам FIP (2016 г.). По мнению FIP – фармацевтические работники и их профессиональные организации должны стать лидерами в решении многих вопросов, связанных с воздействием лекарств на экологию, и обязаны взять на себя задачу по повышению общего уровня осведомленности общественности по обращению с отходами [5].

Все большую актуальность вопросы расширения направлений деятельности аптек приобретают в свете внедрения современных стандартов оказания фармацевтических услуг, прописанных в «Надлежащей аптечной практике» (Good Pharmacy Practice, GPP). Украина придерживается четкой позиции в направлении внедрения стандартов GPP. В структуре руководства по внедрению указанных стандартов вопросы безопасного обращения с ЛС, которые утратили параметры качества и стали непригодными к применению, приобретают особое значение [6, 7]. Так, согласно Базельской Конвенции (1989 г.), которая была ратифицирована Украиной в 1999 г., отходы производства и переработки фармацевтической продукции; ненужные фармацевтические товары, лекарства и препараты; отходы производства, получения и

применения биоцидов и фитофармацевтических препаратов относятся к группе «Опасных и других отходов» [8]. Необходимо отметить, что несмотря на очевидную актуальность и социальное значение эффективного решения вопросов безопасного обращения с ЛС в Украине отсутствует опыт их сбора и временного хранения до утилизации в промышленных условиях. Вышесказанное и определило основное направление наших исследований.

Целью исследований стало проведение анализа данных специальной литературы по вопросам организации сбора и временного хранения ЛС, утративших качество, до их централизованной утилизации в промышленных условиях. Нами использовались такие методы, как исторический, логический, сравнительный и т.д., а объектами стали данные специальной литературы, а также официальных сайтов различных государственных структур стран Европейского Союза (ЕС), функционирующих в системе регулирования фармацевтической деятельности.

Результаты исследования. Систематизация данных международного руководства GPP позволила нам выделить основные функциональные роли аптечных учреждений в современных реалиях развития системы фармацевтического обеспечения населения и здравоохранения в целом. Так, одна из указанных ролей касается организации эффективного процесса изготовления, получения, хранения, отпуска и утилизации ЛС и медицинских изделий. Эта роль предусматривает выполнение «Функции Е: Утилизация лекарственных препаратов и медицинских изделий», для обеспечения которой рекомендуется разработать и внедрить национальные стандарты для следующих видов деятельности провизоров (фармацевтов):

- регулярный мониторинг сроков годности ЛС;
- обеспечение отдельного хранения изъятых лекарств;
- поощрение общественности возвращать ненужные ЛС в аптеки;
- информирование пациентов о путях безопасного обезвреживания ЛС [6,7].

В Директиве 2004/27/ЕС в отношении ЛС для человека указано, что основной обязанностью для государств-членов является введение соответствующих схем сбора неиспользованных населением ЛС [9]. Однако, указанная Директива, к сожалению, не содержит конкретного практического руководства по реализации указанных программ. Поэтому в различных странах отмечаются существенные различия в организации сбора и временного хранения таких ЛС. В результате проведенных исследований можно утверждать, что в большинстве стран ЕС именно аптечные учреждения осуществляют сбор от населения неиспользованных ЛС, а также тех препаратов, у которых истек срок годности. Так, например, во Франции прием от населения ЛС, не подлежащих дальнейшему использованию, стал относиться к дополнительным задачам деятельности аптек с 2007 года. В 2017 г. количество собранных от населения товаров аптечного ассортимента составило 15168 тонн, в т. ч. 11 083 тонн ЛС, в среднем 164 г лекарств на душу населения. В Германии вопросами правильного обращения с ЛС, которые не были использованы или у которых истек срок годности, занимается Федеральное министерство образования и научных исследований. При непосредственной поддержке этой организации в стране функционирует информационный сайт с советами в виде руководства «Утилизация лекарств должна быть правильной». Ввиду отсутствия в Германии единого порядка утилизации ЛС на указанном сайте можно получить также ответы на следующие вопросы: где можно утилизировать ЛС в зависимости от места проживания с адресами муниципальных управлений обращения с отходами; какие существуют пути современной утилизации ЛС; возможные негативные последствия от неправильного обращения людей с ЛС непосредственно для окружающей среды. Например, в руководстве указано, что ненужные для потребителя лекарства следует выбрасывать вместе с бытовым мусором отдельно от упаковки. Для исключения доступа детей и посторонних лиц ЛС лучше измельчить и завернуть во влажную газету.

В Испании сбор и утилизацию неиспользованных ЛС осуществляет некоммерческая организация «Sigre», а услуга по уничтожению ЛС для граждан и аптек предоставляется бесплатно. В аптеках ЛС передаются непосредственно специалисту или попадают в белый контейнер Sigre. Важно то, что каждое наименование ЛС следует сдавать в первоначальной упаковке, что позволяет его идентифицировать для последующей надлежащей утилизации.

В Австрии с 1.01.2015 г. действует первая общенациональная система сбора и переработки ЛС, не подлежащих дальнейшему использованию. В литературе отмечается, что на данный момент в окружающей среде насчитывается более 150 различных препаратов, из которых два десятка классифицируются как опасные для человека. Аптеки, участвующие в

проекте, получают от «Kwizda Pharmahandel GmbH» специальные мешки для сбора ЛС, которые затем вывозятся для последующей промышленной утилизации.

Аптеки Великобритании обязаны принимать от населения и сортировать неиспользованные им ЛС для дальнейшей передачи «Национальной службе здравоохранения». Все местные управления первичной медицинской помощи используют схемы сбора и утилизации ЛС, непригодных для дальнейшего приема, через аптеки.

В Ирландии, согласно исследованиям компании «Initial Medical» 2018 г., только 13,6% респондентов возвращают неиспользованные ЛС в аптеку, где они могут быть безопасно утилизированы в специальных контейнерах, а 68,2% опрошенных не знают об опасности, связанной с ненадлежащим уничтожением ЛС.

В Люксембурге после анализа состава бытовых отходов и выявления в них большого количества ЛС (2014 г.) была усилена общественная агитация по вопросам сдачи населением лекарств в аптеки, центры переработки вторичного сырья или мобильные приемные пункты компании «SuperDrecksKëscht®». В 2017 г. в стране общая масса собранных ЛС, не подлежащих дальнейшему использованию, составила 159 тонн, по 266 г на каждого гражданина, при этом 23% отходов поступило от аптек.

Выводы. В заключение проведенных исследований можно утверждать, что эффективность функционирования системы сбора и хранения ЛС, не подлежащих дальнейшему использованию, в странах ЕС зависит от целого ряда факторов. Среди основных факторов следует отметить такие, как наличие:

- в стране государственной политики по внедрению в общественную жизнь программ экологической безопасности и социальной ответственности по сохранению окружающей среды;
- общественной доминанты в формировании экологической ответственности бизнеса;
- постоянных и финансово надежных источников финансирования сбора и утилизации ЛС;
- современного понимания таких понятий как «фармацевтические отходы», «экологическая ответственность», «экологическая безопасность»;
- высокого уровня социальной ответственности специалистов аптечных учреждений;
- достаточного для решения глобальных проблем экологической безопасности уровня осведомленности граждан относительно негативного влияния ЛС и других товаров аптечного ассортимента на природные ресурсы;
- эффективных и доступных, с организационной точки зрения, путей участия в программах обезвреживания ЛС, не подлежащих дальнейшему использованию, в процессе оказания фармацевтической помощи населению;
- доступных пунктов сбора ЛС, которые больше не подлежат к использованию населением;
- регулярного характера организации и проведения информационно-просветительских кампаний среди населения, особенно в образовательных учреждениях страны.

Учитывая усиление социальной нагрузки на аптеки, спектр профессиональных обязанностей специалистов будет постоянно расширяться. Справедливо также утверждение, что уровень профессиональной и социальной ответственности фармацевтов будет только увеличиваться. Вследствие этого внедрение новаторских форм и методов организации деятельности аптек в практическом здравоохранении, и обществе в целом, будет и в дальнейшем продолжаться. В совокупности это обуславливает социально-экономическую необходимость постоянного пересмотра содержания и форм организации деятельности фармацевтов и уровня их профессиональной подготовки по целому спектру направлений, в т.ч. и в отношении экологической безопасности и ответственности аптек.

ЛИТЕРАТУРА

1. The Role of Pharmacists in a Changing Health Care Environment. Available from: <https://cvshealth.com/thought-leadership/the-role-of--pharmacists-in-a-changing-health-care-environment>
2. Mil V. Pharmaceutical care the future of pharmacy. Available from: <http://dissertations.ub.rug.nl/FILES/faculties/science/2000/j.w.f.van.mil/titlecon.pdf>
3. New tool to enhance role of pharmacists in health care. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/new/2006/nw05/en/index.html>
4. Fred M. Eckel, The Pharmacist's Expanded Role. Pharmacy Time. Available from: <http://www.pharmacytimes.com/publications/issue/2015/october2015/the-pharmacists-expanded-role>

5. Бондарчук І. Система глобальної охорони здоров'я: на що очікувати у майбутньому? / І. Бондарчук // Єженедельник Аптека. – 2016. – №1059 (38) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/385570>.
6. Good Pharmacy Practice (GPP) in developing countries. Supplementary guidelines for stepwise implementation. FIP Community Pharmacy Section, 1999. Available from: www.pharmainfo.net/reviews/good-pharmacy-practice-review
7. Joint FIP/WHO Guidelines on Good Pharmacy Practice: Standards for Quality of Pharmacy Services. WHO Technical Report Series, No. 961, 2011, Annex 8. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18676en/s18676en.pdf>
8. Базельська конвенція про контроль за транскордонним перевезенням небезпечних відходів та їх видаленням від 22.03.1989 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/995_022/page
9. Directive 2004/27/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1546376239124&uri=CELEX:32004L0027>

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕЛАНІНУ ШКІРКИ НАСІННЯ ГІРКОКАШТАНА ЗВИЧАЙНОГО

¹д. фарм. н. Карпюк У. В.,

¹к. фарм. н. Чолак І. С.,

¹к. мед. н. Ємельянова О. І.,

²д. фарм. н. Кисличенко В. С.

¹Україна, м. Київ, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

²Україна, м. Харків, Національний фармацевтичний університет

Abstract. The aim of our study was to isolate melanin from the skin of horse chestnut seeds (*Aesculus hippocastanum* L.), followed by its identification and quantitative determination. The study of the obtained melanin was carried out by methods of qualitative reactions. The aqueous solutions of melanin gave a positive reaction to the reagents used to identify melanins: when added to the solution of iron (III) chloride, a precipitate was formed; silver nitrate was restored to metallic silver; when adding a solution of potassium permanganate and hydrogen peroxide solution there was a discoloration of aqueous solution. The nature of melanin was confirmed by IR- and UV-spectroscopy. The quantitative determination has been done by gravimetry method. Melanin has been isolated and its quantitative content has been determined ($1.92 \pm 0.09\%$).

Keywords: *Aesculus hippocastanum* L., melanin, skin seeds

Вступ. На сьогоднішній день значне місце в сучасній медицині займають природні сполуки рослинного походження і лікарські засоби на їх основі. Перспективність фітопрепаратів обумовлена біологічно активними речовинами, які забезпечують високу біодоступність препаратів, мають мінімум побічних ефектів та фармакологічну адекватність до людського організму. До таких речовин відноситься меланін.

Меланін – природний пігмент, який накопичується у багатьох рослинах – винограді, соняшнику, гречці, гіркокаштані та ін. Він має високу біологічну активність: антиоксидантну, антимуtagenну, антистресорну, цитостатичну, ентеросорбуючу, регулює активність травних ферментів та перистальтику кишечника, захищає організм людини від УФ- та рентгенівського випромінювання, а також підвищує регенеративну здатність нервових волокон при ураженнях ЦНС за рахунок відновлення кровопостачання пошкоджених тканин [1,3,6,7].

Тому метою нашого дослідження було виділення меланіну із шкірки насіння гіркокаштану звичайного із подальшою його ідентифікацією та кількісним визначенням.

Результати дослідження. Насіння каштану звичайного збирали в Київській та Харківській областях в період повного дозрівання, висушували, відокремлювали шкірку та подрібнювали на порошок. Сировина зібрана у вересні-жовтні 2017–2018 рр. Кількість серій – 5.

До 10,0 г подрібненої сировини додавали 20 мл води очищеної та 20 мл суспензії дріжджів. Отриману суміш залишали у термостаті на 10 діб при температурі 37-40°C. До ферментованої маси додавали таку ж кількість води очищеної, перемішували, фільтрували та проводили повторну екстракцію. Витяжки об'єднували, упарювали під вакуумом до мінімального об'єму, фільтрували та додавали 4-кратну кількість 96% етанолу. Утворювався осад темного кольору. Осад відфільтровували, вдруге переосаджували спиртом, знову фільтрували та висушували у вакуумі 10-2 мм рт. ст. при 100°C, зважували.

Вміст меланіну (X, %) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 10000}{m \cdot (100 - W)},$$

де m_1 – маса фільтра, г;

m_2 – маса фільтра з осадом, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата у масі при висушуванні, % [2,4,5].

Кількісний вміст меланіну в шкірці насіння гіркокаштану в перерахунку на абсолютно суху сировину становив $1.92 \pm 0.09\%$.

Подальше дослідження одержаного меланіну проводили методами якісних реакцій [4]. Водні розчини меланіну давали позитивні реакції із реактивами, які використовуються для ідентифікації меланінів: при додаванні розчину заліза (III) хлорида утворювався осад; срібла нітрат відновлювався до металічного срібла; при додаванні розчину калію перманганату та розчину водню пероксиду спостерігалось знебарвлення водного розчину.

Природу меланіну підтверджували за допомогою ІЧ- та УФ-спектроскопії. Елементний аналіз виконували на приладі Euro Vector EA-3000. В основі дії приладу покладений принцип спалювання в атмосфері кисню, з наступним хроматографічним розділенням продуктів у вигляді газів (CO_2 , SO_2 , H_2O , N), які утворюються в процесі спалювання. Детектор – катарометр (ДТП) [4].

В УФ-спектрі досліджуваної речовини максимум спостерігався при 320 нм. Розчином порівняння була вода. ІЧ-спектр речовини (рис. 1) мав смуги поглинання в області 3430 см^{-1} , що відповідає валентним коливанням NH - та OH -груп; смуги поглинання в області $2920\text{--}2850\text{ см}^{-1}$ зумовлено коливанням CH_2 -, CH_3 -груп; в області $1730\text{--}1635\text{ см}^{-1}$ – коливанням спряжених подвійних зв'язків $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$ та $\text{C}=\text{O}$ у складі вторинних амідів; в області 1420 см^{-1} – наявністю $-\text{NH}_2$ та $-\text{CONH}_2$ груп, деформаційними коливаннями NH -груп вторинних амідів, CH_2 -груп у складі аліфатичних радикалів, $\text{C}=\text{O}$; в області 1080 см^{-1} – наявністю $\text{C}=\text{O}$ вуглеводних та спиртових груп.

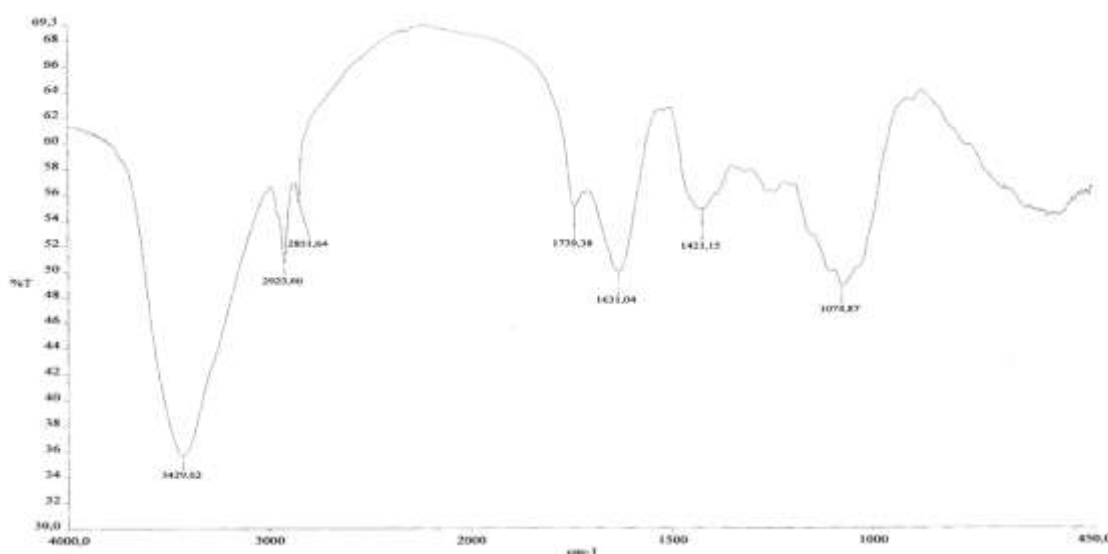


Рис. 1. ІЧ-спектр меланіну

На підставі результатів якісних реакцій, даних ІЧ- та УФ-спектроскопії отримана речовина була віднесена до меланіну.

Висновки. Проведено дослідження меланіну шкірки насіння гіркокаштану. Виділено меланін та встановлено його кількісний вміст ($1,92 \pm 0,09\%$). Отримані результати обумовлюють доцільність подальшого фармакологічного дослідження шкірки насіння гіркокаштану з метою комплексного використання даної сировини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Евса Т. В. (2004). Противовоспалительная и антиоксидантная активность растительного меланина. Материалы международной Пушкинской конференции: Биология – наука XXI века. Пушкино, 21.
2. Журавель, І. О. (2010). Дослідження меланінів з навколоплідників гречки посівної. *Фармацевтичний журнал*, 6, 93–96.
3. Панасенко, Т. О., Непорада К. С. (2012). Застосування меланіну як стреспротектора півкуль головного мозку в залежності від стресостійкості тварин. *Таврический медико-биологический вестник*. Т.15, (3), Ч.1 (59), 250–253.
4. Прутенская, Е. А., Сульман Э. М. (2014). Перспективные методы получения меланинов различного происхождения. *Биотехнология: реальность и перспективы: материалы международной научно-практической конференции (Саратов)*, 68–70.
5. Прутенская, Е. А., Васильев А. С., Лебедева Е. Ю., Сидоров А. И. (2017). Технологии получения меланинов. *Вестник Тверского государственного технического университета*, 1 (31), 129–132.
6. Petrosyan, T. R. (2012). Neuroprotective action of bacterial melanin in rats after corticospinal tract lesions. *Pathophysiology*. 71–80.
7. Solano, F. (2014). Melanins: Skin Pigments and Much More-Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. Department of Biochemistry and Molecular Biology B & Immunology.

ЩОДО ПИТАННЯ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ПОХІДНИХ СУЛЬФОНІЛСЕЧОВИНИ

Дмитро Харченко¹, Сергій Мерзлікін², Тетяна Кучер³

¹Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine,

²National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine,

³Ternopil State Medical University named after P.Ya. Horbachevsky, Ternopil, Ukraine.

Abstract. Aim: This research is dedicated to development of a methodology for the determination of sulfonylurea derivatives in biological samples for analytical diagnostics of lethal overdose caused by the drug.

Materials and Methods. TLC method: chromatographic plates Merck silica gel 60 F₂₅₄ 10×10 cm in size, mobile phase - ethyl acetate, visualization reagent 1% vanillin solution or 5% solution of chloral hydrate. HPLC method: liquid chromatograph «Milichrom-A-02» with UV detecting (RF); ProntoSIL-120-5-C18- AQ reverse-phase column Ø2×75 mm in diameter, 5 µm grains (Bischoff Analysetechnik und Geräte GmbH, Germany); Gradient elution with a mixture of two eluents (eluent A – [0.2 M solution LiClO₄ – 0.005 M solution of HClO₄] and eluent B - acetonitrile); Wavelength 230 nm.

Results. Methodology for the determination of sulfonylurea derivatives in biological samples is developed. It includes an effective method of sulfonylurea derivatives isolation from the objects of the study, specific and selective chromatographic detection methods and quantitative determination of toxicity in the extracts that had been received. It was established that while using TLC method sulfonylurea derivatives was assigned an R_f value of 0,48±0,01; detection limit is 3.0 µg. When applying HPLC method sulfonylurea derivatives holding time was 7.80 min (RSD = 0.13%), detection limit was 0.050 µg / ml, limit of the quantitative determination was 0.157 µg/ml, linearity of the procedure was in the range of 0.1-20.0 µg/ml. Under the developed conditions, sulfonylurea derivatives were determined at 17.48 ± 1.32 µg/ml (RSD = 6.06%).

Conclusions. Results of the study indicate that methodology for the determination of sulfonylurea derivatives in biological samples that was developed can be used for analytical diagnostics of lethal overdose caused by the drug.

Keywords: sulfonylurea derivatives, analytical methods of research, chemical-toxicological analysis.

Вступ. Отруєння хімічного походження є глобальною проблемою охорони здоров'я в світі. Токсикологічна ситуація в Україні відповідає загальному світовому та європейському трендам поширеності та летальності внаслідок гострих інтоксикацій, які часто пов'язані з використанням лікарських речовин при самолікуванні та з суїцидальною метою. За певних обставин практично кожна лікарська речовина може спричинити отруєння.

Так, згідно з даними сайтів FDA і *patientsville.com* у багатьох країнах світу в період 2010-2015 рр. зареєстровано близько 600 випадків отруєнь похідними сульфонілсечовини, що є поширеними антидіабетичними засобами для лікування цукрового діабету (ЦД) 2 типу [1-3].

Серед них, понад 60 випадків – летальні отруєння, які в основному обумовлені навмисним передозуванням препаратами у дозах, що перевищують терапевтичні в десятки та більше разів. Найбільша кількість зареєстрованих отруєнь похідними сульфонілсечовини спостерігається у США та країнах Західної Європи, що насамперед пояснюється доступністю до бази даних FDA. Проте, кількість випадків летальних отруєнь такими антидіабетичними засобами може бути значно більшою за умов їх реєстрації в інших країнах, зокрема в Україні, що пов'язане з відсутністю методів систематичного хіміко-токсикологічного аналізу (ХТА) в закладах судово-медичної експертизи. Тому, дослідження в даному напрямку є актуальними, а одержані результати сприятимуть якісному проведенню судово-токсикологічних досліджень.

Мета досліджень полягає у розробці методології визначення лікарських засобів похідних сульфонілсечовини в біологічних об'єктах для аналітичної діагностики летальних передозувань.

Методи. Метод ТШХ: хроматографічні пластинки Merck silica gel 60 F₂₅₄ розміром 10×10 см, рухома фаза – етилацетат, проявник – 1% розчин ваніліну або 5% розчин хлоралгідрату. Метод ВЕРХ: рідинний хроматограф «Міліхром-А-02» з УФ-детектуванням (РФ); обернено-фазова колонка Prontosil-120-5-C18-AQ розміром Ø2×75 мм, зерніння 5 мкм («Bischoff Analysetechnik und Geräte GmbH», Німеччина); градієнтне елюювання сумішшю двох елюентів (елюент А – [0.2 М розчин LiClO₄ – 0.005 М розчин HClO₄] та елюент Б – ацетонітрил); довжина хвилі 230 нм.

Результати та обговорення. Наведені в статті результати є продовженням комплексу систематичних хіміко-токсикологічних досліджень антидіабетичних засобів похідних сульфонілсечовини, що проводяться з метою розробки методів аналітичної діагностики їх летальних передозувань [4].

Методологія досліджень відповідає міжнародній практиці ХТА на хімічну речовину, що спричинила отруєння, і включає розробку ефективного методу ізолювання речовини з біологічного матеріалу, а також чутливих, специфічних та селективних методик виявлення та кількісного визначення токсиканту в одержаних вилученнях.

Моделювання гострої інтоксикації похідних сульфонілсечовини проводили на прикладі -(гексагідроциклопентан[с]пірол-2(1H)-ілкарбамоіл)-4-метил-бензенсульфонамід (гліклазид) згідно загальноприйнятої практики експериментальної токсикології, а саме шляхом насичення зразка «свіжої» свинячої печінки летальними дозами речовини. Розрахунок уведених доз токсиканту здійснювали з врахуванням результатів аналізу його суїцидальних передозувань, токсикокінетики та результатів за моделюванням гострої інтоксикації у щурів [5-7]. У перерахунку на 50 г біологічного об'єкту уведена доза речовини становила 20 мг.

Для ізолювання токсиканту з біологічного об'єкту використовували ацетонітрильний метод, який застосовується при направленому ХТА на деякі лікарські речовини, в тому числі похідні сульфонілсечовини [8]. Одержаний за даним методом хлороформний екстракт досліджували методами ТШХ та ВЕРХ.

Висновки. Запропонований ацетонітрильний метод визначено ефективним для ізолювання похідних сульфонілсечовини з біологічного матеріалу при направленому ХТА на токсикант. Результати за виявленням та кількісним визначенням токсиканту в одержаних вилученнях є відтворюваними та свідчать про достатню точність, специфічність та селективність використаних аналітичних методів аналізу. Загалом можна зробити висновок, що розроблена методологія визначення похідних сульфонілсечовини в біологічних об'єктах є придатною для аналітичної діагностики летальних передозувань антидіабетичними препаратами, що містять похідні сульфонілсечовини у якості діючої речовини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пекарева Е.В. Преимущества применения гликлазида МВ у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. Проблемы эндокринологии 2012;58:58-61.
2. Смирнова О.М., Кононенко И.В. Диабетон МВ в лечении сахарного диабета 2 типа и профилактике его поздних осложнений. Фарматека 2011;16:30-36.
3. Side_effects – [Electronic resource]. – 2015. – Access: <http://patientaville.com>.
4. Кучер Т.В., Мерзликин С.И., Коваленко Е.В. Хроматографическое обнаружение глибенкламида в биологических объектах при моделировании комбинированных отравлений лекарственными веществами. Вестник фармации 2016;1:28-33.
5. Levine M, Ruha A, Lovecchio F. Hypoglycemia after accidental pediatric sulfonylurea ingestions. Pediatr Emerg Care 2011; 27:846-49.
6. Gul M, Cander B, Girisgin S. The effectiveness of various doses of octreotide for sulfonylurea-induced hypoglycemia after overdose. Adv Ther 2006; 23:878-84.
7. Кучер Т.В., Мерзликін С.І., Штриголь С.Ю. Дослідження розподілу глібенкламід у органах тварин при моделюванні гострої інтоксикації. ScienceRise 2016; 3:7-12.
8. Карташов В.А. Химико-токсикологический анализ. Ч. 1. Выделение токсических веществ из биологических объектов. Майкоп: ООО «Качество», 2008.

Proceedings of the IX International Scientific and Practical Conference International Trends in Science and Technology

(Vol.3, January 31, 2019, Warsaw, Poland)

MULTIDISCIPLINARY SCIENTIFIC EDITION

Indexed by:



Passed for printing 25.01.2019. Appearance 31.01.2019.

Typeface Times New Roman.

Circulation 300 copies.

RS Global S. z O.O., Warsaw, Poland, 2019