

На правах рукописи



Морозов Виталий Юрьевич

**ИНДИКАЦИЯ МИКРОФЛОРЫ ВОЗДУХА
ЗАКРЫТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ
НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОРГАНИЗМА**

Специальность 16.00.03 – ветеринарная микробиология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук**

Ставрополь – 2005

Диссертация выполнена на кафедре эпизоотологии и микробиологии
в ФГОУ ВПО Ставропольском государственном аграрном университете

Научный руководитель: заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук, профессор
Дмитриев Анатолий Федорович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Майский Виктор Григорьевич

доктор ветеринарных наук
Николаенко Василий Павлович

Ведущая организация: **ФГОУ ВПО «Донской государственный
аграрный университет»**

Защита состоится «07» Октября 2005 г. в 10 часов
на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГОУ ВПО
Ставропольском государственном аграрном университете по адресу:
355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО Став-
ропольского государственного аграрного университета.

Автореферат разослан «05» сентября 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Квочко А.Н.

2006-4
15140

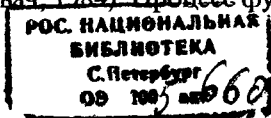
2779570

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Важным направлением профилактической работы в условиях животноводческих комплексов является создание высокого уровня ветеринарно-санитарной культуры и охраны ферм от заноса и распространения возбудителей болезней (Н.М. Федоров, 1989). Что касается условно-патогенной микрофлоры, то она очень широко распространена в природе, встречается в организме здоровых животных и в основных элементах внешней среды (Е.М. Сивак, 1984; В.А. Баранов, В.М. Федорова, 1985; О.В. Шимко и др., 1998; О.В. Вавина и др., 1999; J. Venglovsky, P. Juris, 1989). Достичь полного уничтожения этой микрофлоры очень трудно, да и нецелесообразно. Микромир животноводческого помещения с содержащимися в нем животными представляет единое целое (В.В. Шимко и др., 1998). На каждой животноводческой ферме создается своя экологическая среда со сложным и чрезвычайно широким диапазоном патогенных воздействий на организм животных (О.В. Вавина и др., 1999).

Своевременная индикация микроорганизмов в организме животных и основных элементах внешней среды, количественная и качественная оценка популяций позволит предвидеть возможность возникновения, развития и распространения болезней. Систематический контроль обсемененности воздушной среды микроорганизмами, снижение их пороговой численности является необходимым условием научной организации ветеринарно-санитарных мероприятий на животноводческих фермах (Ш.Э. Каришев, 1993; А.И. Баранков, В.А. Недосеков, Б.А. Крыштон, 1999; А.Ф. Гудкин, 1999; С. Лумбунов и др., 1999).

Условно-патогенной микрофлоре, а также представителям естественной флоры воздуха (споры микроскопических грибов, другие сапрофиты) не уделяется должного внимания (А.И. Олефгер, 1985; С.А. Мищенко, 1987; В.А. Немилов, 1981; Т.И. Нужнова, 1991). Между тем, эта микрофлора (даже убитая) может оказывать весьма существенное влияние на иммунную систему животного организма (А.А. Прокопенко, 1997). В одном случае, она стимулирует защитные реакции организма, в другом, наоборот, угнетает или обуславливает возникновение иммунопатологических состояний (А.А. Обголец, 1980; А.Ф. Могиленко, 1990). Чем интенсивнее антигенное воздействие на организм, тем шире круг систем, находящихся в состоянии деструкции, и тем многограннее приспособительные процессы со стороны неповрежденных структур, обеспечивающие сохранение жизни (Ф. Ковач, 1984). Процесс функционального



становления иммунной системы (приобретение специфических свойств защиты) осуществляется под непосредственным влиянием естественных антигенных стимулов, в качестве которых выступают микроорганизмы. Это становление затрагивает все уровни иммунной системы и характеризуется динамической непрерывностью в связи с необходимостью постоянного обновления клеточных популяций, участвующих в иммунном ответе (А.А. Обголыц, 1980). Принцип профилактики заболеваний, обусловленных условнопатогенной микрофлорой, должен базироваться на знании допустимого количества и свойств этой микрофлоры в окружающей среде (А.И. Олефгер, 1985; Б.Л. Дубовой, 1986; В.В. Дианов, 1987; А.А. Прокопенко, 1997; В.А. Недосеков, 1999).

Применение современных и наиболее эффективных методов обнаружения микроорганизмов, знание динамики накопления их в воздухе закрытых помещений, а также степени влияния микрофлоры воздуха на животных представляет определенный научный интерес и практическую значимость. Это обуславливает необходимость создания и освоения новых высокоэффективных устройств и оригинальных методик по определению микроорганизмов в воздухе закрытых помещений.

Целью наших исследований явилась разработка прибора для улавливания микроорганизмов, изучение количественного и качественного состава микрофлоры воздуха животноводческого помещения и ее влияние на становление иммунного статуса животных.

В связи с этим перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Провести оценку существующих методов и устройств для индикации микрофлоры в воздушной среде.
2. Разработать прибор для улавливания микроорганизмов из воздуха и методику его применения.
3. Провести сравнительные испытания предлагаемого устройства и известных устройств.
4. Изучить качественный и количественный состав микроорганизмов воздушной среды различных животноводческих помещений.
5. Определить чувствительность организма крыс к микрофлоре воздуха, накапливающейся в помещениях.

Научная новизна. Разработано устройство «Прибор для улавливания микроорганизмов» (Патент на полезную модель №37097; Патент РФ на изобретение №2250257); разработана и утверждена методика по определению микрофлоры в воздушной среде; установлено влияние микроорганизмов воздушной среды на чувствительность организма молодняка крыс.

Практическая и теоретическая ценность работы. Изготовлено и испытано устройство и методика качественного и количественного определе-

ния микрофлоры в воздухе помещений, позволяющее проводить оценку микробного пейзажа воздушной среды. Устройство может использоваться при разработке санитарно-гигиенических требований и нормативов по бактериальной обсемененности воздуха помещений, в которых по условиям технологии требуется определенная степень чистоты, и при разработке систем мероприятий, направленных на оздоровление воздушной среды. Изданы методические рекомендации «Исследование микробной обсемененности воздуха животноводческих помещений», которые одобрены и утверждены научно-техническим советом МСХ Ставропольского края. Изучена микробная обсемененность различных типов помещений.

Данные по чувствительности организма животных могут использоваться для определения пороговой численности микроорганизмов воздушной среды закрытых помещений.

Реализация результатов исследований. Основные результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе Ставропольского государственного аграрного университета за 2002–2004 гг.

Материалы исследований используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий, научных исследований в Ставропольском государственном аграрном университете.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены, обсуждены, одобрены на научных конференциях: XI итоговой (межвузовской) научной конференции молодых ученых и студентов (Ставрополь, 2003); II Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельскохозяйственных животных» (Ставрополь, 2003); X ежегодной Международной научной конференции «Медико-биологические проблемы экологической безопасности агропромышленного комплекса» (Москва, Сергиев Посад, 2004); V межрегиональной научной конференции «Студенческая наука – экономике России», (Ставрополь, 2005); 68-й и 69-й научно-практических конференциях «Наука – региону» (Ставрополь, 2004–2005).

Публикации. По теме диссертации опубликовано три научные статьи, один информационный листок, получен один патент на полезную модель и один патент РФ на изобретение, изданы методические рекомендации, утвержденные методическим советом МСХ Ставропольского края.

Положения, выносимые на защиту:

1. Устройство для улавливания микроорганизмов, которое обеспечивает повышение количества выделяемых микроорганизмов из воздуха и степени его очистки.
2. Методика индикации микроорганизмов и определение коли-индекса воздуха.

ра для улавливания микроорганизмов и методики его применения (А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов, 2005), а также методом оседания (седиментации) по Коху (1881).

Чувствительность крысят к микрофлоре воздуха определяли путем:

1. Определения антигенного воздействия микрофлоры воздуха на организм крысят (в течение 4 недель) с помощью реакции специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ) в модификации Л.А. Дуевой (1966).
2. Постановки реакции гемолиза эритроцитов с антигеном, приготовленным из микрофлоры воздуха.

Антигены готовились из микрофлоры, содержащейся в воздухе данного помещения. Для этого брали пробу воздуха и делали посевы на МПА. После инкубирования в термостате в течение 24 часов с поверхности агара делали смыв выросших колоний стерильным физиологическим раствором. Затем смыв микробной культуры фильтровали через вату и инактивировали в водяной бане при температуре 70 °С в течение 30 минут. После этого взвесь микробов дезинтегрировали ультразвуком в течение 5 часов. Использовали аппарат типа УТП-3м (ультразвуковой терапевтический переносной аппарат).

Выходная мощность, измеряемая произведением активной площади ультразвукового излучателя (4 см) на интенсивность в Вт, составляла 12 Вт/см².

Антиген из группы кишечных бактерий или гемолитических коков готовился аналогичным способом.

Содержимое пробирок тщательно перемешивали и ставили в термостат на 2 часа при 37 °С. При этом каждые 30 минут помешивали пробы путем наклона штатива. По истечении 2 часов пробы крови помещали на 24 часа в холодильник при 5 °С.

Учет реакции осуществляли в крестах.

3. Определения количества циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови крысят проводили по методике Digeon (1977) в течение 4 недель.

Состояние факторов неспецифической защиты крыс оценивали два раза в неделю по показателям: лизоцимной, бактерицидной активность сыворотки крови, показателю общего белка в сыворотке крови, морфологической картине крови, скорости оседания эритроцитов):

1. Лизоцимную активность сыворотки крови крысят определяли по методу В.Г. Дорофейчука (1968) в модификации В.И. Стогник, В.П. Голик, (1989). В качестве индикатора лизоцима применяли стандартный порошок суточной культуры *Micrococcus lysodeicticus*, штамм 2665.

2. Бактерицидную активность сыворотки крови по отношению к суточной агаровой культуре *Escherichia coli* штамма 078 определяли фотонейфелометрическим методом по О.В. Смирновой, Т.А. Кузминой (1966).
3. Определение общего белка в сыворотке крови крыс осуществляли рефрактометрическим методом, альбуминов и глобулинов — методом высаливания.
4. Морфологическую картину крови определяли общепринятыми методиками с использованием микроскопа и камеры Горяева.
5. Скорость оседания эритроцитов определяли с помощью аппарата Панченкова.

Для определения времени появления реакции организма на воздушную микрофлору 10-дневных крысят содержали в помещении, насыщенном микрофлорой (телятник), где в течение 7 дней брали кровь (по 5 голов) и ставили реакцию гемолиза эритроцитов с антигеном из микрофлоры воздуха.

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке. Достоверность различия между показателями оценивали по критерию Стьюдента (С. Гланц, 1998).

Приводимый графический материал полученных результатов (графики, диаграммы) был получен с использованием программы Excel. Для статистической обработки результатов использовалась программа «Биостат».

2.2. Результаты собственных исследований

2.2.1. Конструктивное совершенствование улавливателя микроорганизмов

Улавливатель микроорганизмов основан на использовании в приборе улавливающей жидкости, конической емкости и бактериального фильтра. В приборе создается замкнутая для микроорганизмов, но проницаемая для воздуха камера. Разработанное устройство «Прибор для улавливания микроорганизмов» (Патент на полезную модель №37097; Патент РФ на изобретение №2250257) состоит из конусообразной емкости 1 (рис. 1), в нижнюю часть которой заливают улавливающую жидкость 2, а в верхней части под сеткой 3 устанавливают рабочий фильтр 4, и с помощью эластичного уплотнительного кольца 5 прижимают крышкой 6. Верхняя часть крышки 6 выполнена в форме штуцера. В средней части конусообразной емкости 1 выполнено отверстие малого диаметра 7 под острым углом, например 45° к вертикальной оси конусообразной емкости 1.

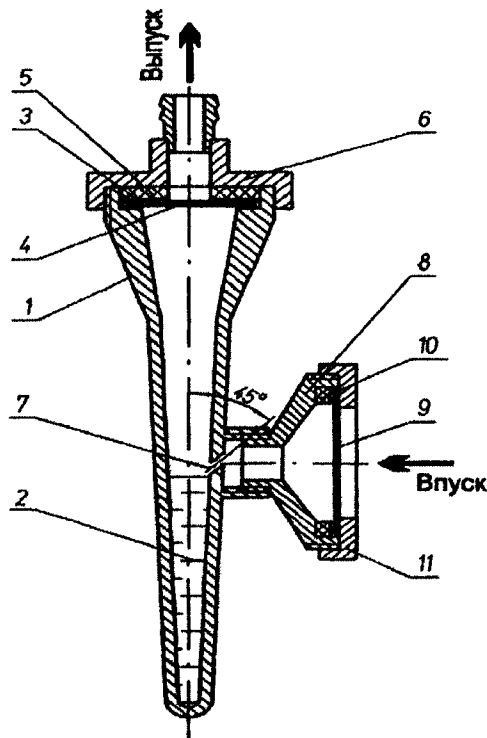


Рис. 1. Схема прибора для улавливания микроорганизмов

К конусообразной емкости 1, в средней ее части, напротив отверстия 7 при помощи резьбового соединения присоединяется съемная насадка 8, оснащенная вспомогательным фильтром 9, который фиксируется в дополнительной съемной насадке 8 с помощью эластичного уплотнительного кольца 10 и крышки 11.

В сравнении с другими улавливателями, основанными на фильтрации воздуха через жидкости, растворимые вещества (прибор Дьяконова, Киктенко, улавливатели Соколинского), фильтры (прибор Милявской), предлагаемый улавливатель позволяет осуществлять двойную фильтрацию воздуха: на входе через улавливающую жидкость и на выходе через фильтр, а также осаждение микроорганизмов в конической емкости под действием гравитации.

Предлагаемое устройство, по сравнению с прототипом и другими известными техническими решениями, имеет следующие преимущества:

- данный прибор позволяет проводить исследования без использования стерильного бокса во внелaborаторных условиях;
- устройство обладает повышенной эффективностью улавливания микроорганизмов, так как позволяет осуществлять двойную фильтрацию воздуха: на входе через жидкость и на выходе через фильтр;
- предлагаемый улавливатель легко стерилизуется всеми общепринятыми способами;
- данный прибор прост в изготовлении и эксплуатации.

2.2.2. Методика определения общей бактериальной обсемененности и коли-индекса воздуха

Конструктивные особенности улавливателя позволяют проводить различные варианты анализа воздуха: общее количество микроорганизмов путем высева улавливающей жидкости на питательную среду и метод прямого счета микроорганизмов на поверхности фильтра, что обеспечивает возможность определения санитарно-показательных микроорганизмов (коли-индекса воздуха, количество гемолитических кокков и др.).

Сущность метода определения общего количества микроорганизмов заключается в концентрации микроорганизмов в улавливающей жидкости, ее высева с последующим подсчетом и дифференциацией микроорганизмов.

Сущность метода прямого счета заключается в концентрировании на мембранном фильтре микроорганизмов, содержащихся в пробе воздуха, окрашивании их карболовым эритрозином непосредственно на фильтре и определения их количества под микроскопом с помощью окулярной сетки.

Сущность определения коли-индекса воздуха заключается в фильтрации улавливающей жидкости через фильтр, находящийся в улавливателе, концентрировании микроорганизмов на поверхности фильтра, выращивании их при 37 °С на среде Эндо, дифференцировании выросших колоний и подсчете количества бактерий группы кишечных палочек в определенном объеме воздуха.

2.2.3. Результаты испытания нового устройства и способа бактериологического анализа воздуха

Как видно из таблицы 1, во всех опытах концентрация микроорганизмов, установленная с помощью предлагаемого устройства, значительно выше, чем с помощью седиментационного способа определения микроорганизмов. Качество улавливания микроорганизмов повышается от 3 до 7 раз.

Повышение качества улавливания микроорганизмов мы объясняем наличием некоторых положительных эффектов у предлагаемого устройства и отсутствием их у известных устройств. Это прежде всего наличие ударного действия воздушной струи в жидкость, осаждения микроорганизмов в конической емкости под действием гравитации, наличие фильтра, который задерживает микроорганизмы, отделяя их от газовой фазы. Состав задерживаемых микроорганизмов определяется характеристикой фильтров, используемых в улавливателе. Размещение фильтра на последнем этапе движения воздушного потока обеспечивает заключительную фильтрацию воздуха и сохранение микроорганизмов, исключая возможность их контакта с наружным воздухом.

Таблица 1

Сравнительные данные определения концентрации микроорганизмов

Метод определения	Количество проб воздуха	Количество микроорганизмов в 1 л $M \pm m$
Предлагаемый	5	$336,0 \pm 15,28^*$
Известный	5	$57,4 \pm 7,16^*$
Предлагаемый	5	$228,0 \pm 22,43^*$
Известный	5	$30,6 \pm 7,02^*$
Предлагаемый	5	$608,4 \pm 47,46^*$
Известный	5	$84,0 \pm 6,08^*$
Предлагаемый	5	$195,0 \pm 17,03^*$
Известный	5	$57,8 \pm 5,89^*$

Примечание: $*P < 0,005$

2.2.4. Количественный и качественный состав микроорганизмов воздуха различных помещений

Общая бактериальная обсемененность (рис. 2) воздуха вивария в течение года колебалась от $20,77 \pm 0,65$ (февраль) до $42,67 \pm 3,05$ (август) микробных тел в одном литре, а в воздухе телятника эти колебания находились в пределах от $51,67 \pm 2,51$ (октябрь) до $131,0 \pm 3,60$ (июнь) микробных тел в одном литре воздуха. Подобные колебания количества микроорганизмов в воздухе животноводческих помещений объясняются температурными изменениями окружающей среды, высокой влажностью животноводческих помещений, разным уровнем солнечной активности — летний период и характерным накоплением микрофлоры — зимний стойловый период.

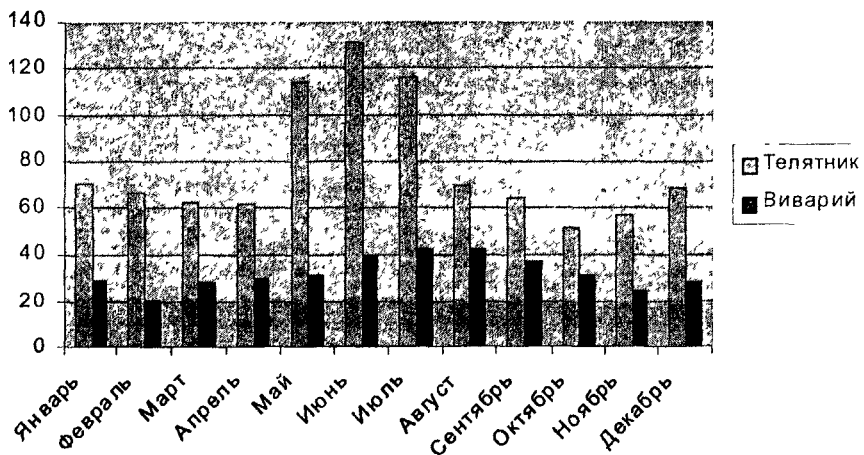


Рис. 2. Общая бактериальная обсемененность в воздухе вивария и телятника (мк.т./л)

Коли-индекс воздуха изменялся в течение всего периода исследования в пределах от 2,92 до 8,83 м.т./л. в воздухе вивария, максимальное количество наблюдалось в период с марта по июль. В воздухе телятника коли-индекс составлял от 4,41 до 12,03 м.т./л. Пик нарастания концентрации кишечной палочки наблюдался с января по февраль в период стойлового содержания и большой концентрации телят в помещениях (январь, февраль, март, апрель) и с апреля по июнь. Содержание микроорганизмов группы кишечной палочки напрямую зависело от общего количества микроорганизмов. Соотношение общего количества микроорганизмов и кишечной палочки составляло приблизительно 10 : 1.

Как видно из диаграммы (рис. 3), в периоды (апрель–июль, декабрь–февраль) отмечалось накопление содержания кишечной палочки в одном литре воздуха.

Гемолитические кокки обнаруживали на протяжении всего периода исследования, их количество составляло в виварии от $1,30 \pm 0,06$ мк.т./л (ноябрь) до $4,49 \pm 0,07$ мк.т./л (август) наибольшее их количество отмечалось в период с мая по сентябрь. В телятнике же наибольшее количество гемолитических кокков наблюдалось с апреля по октябрь: от $1,74 \pm 0,09$ мк.т./л до $4,70 \pm 0,20$ мк.т./л.

Из других видов микроорганизмов отмечен рост белого и золотистого стафилококков.

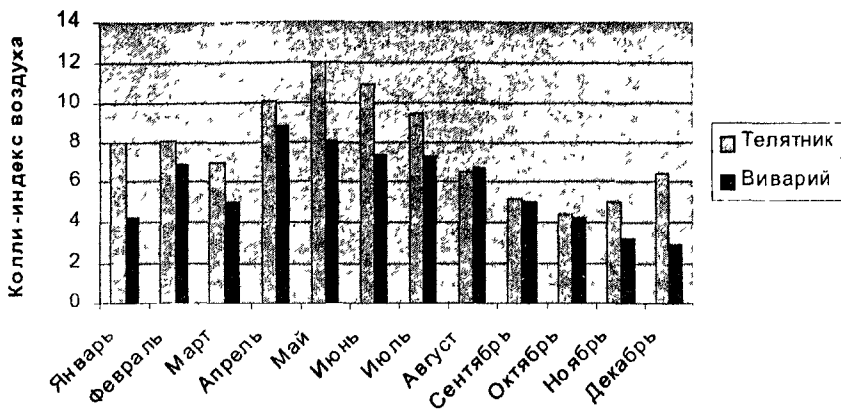


Рис. 3. Коли-индекс воздуха вивария и телятника (мк.т./л)

В течение всего периода исследования отмечали колебания в содержании микроорганизмов в обоих помещениях. Однако следует отметить, что теплое время года является благоприятным для размножения всех микроорганизмов. В целом отмечается тенденция количественного увеличения микрофлоры воздуха помещений телятника и вивария в теплое и незначительное количественное снижение в холодное время года.

2.2.5. Чувствительность организма животного к антигенам микрофлоры воздуха

Результаты исследований, приведенные в таблице 2, показывают, что повреждающее действие антигенов из микрофлоры воздуха, а также из отдельных физиологических групп микроорганизмов значительное. Повреждению подвергалось до $47,76 \pm 1,69\%$ лейкоцитов.

Наибольшим повреждающим действием на лейкоциты крыс, помещенных в телятник, обладают антигены из гемолитических бактерий, выделенных в телятнике ($16,90 \pm 0,88 - 47,76 \pm 1,69\%$), сложный антиген из микрофлоры воздуха телятника ($11,0 \pm 0,70 - 35,69 \pm 1,63\%$). Антиген из кишечной палочки телятника вызывал меньшее разрушение лейкоцитов опытных крысят ($7,10 \pm 0,60 - 25,62 \pm 1,67\%$).

На лейкоциты крыс, содержащихся в виварии, наибольшее повреждающее действие оказывал сложный антиген из микрофлоры воздуха ($9,26 \pm 0,50 - 24,96 \pm 2,22\%$), антиген из кишечной палочки

($6,57 \pm 0,67 - 19,21 \pm 1,34\%$). Антиген из гемолитических бактерий оказывал менее интенсивное повреждающее действие ($11,0 \pm 0,66 - 16,98 \pm 1,03\%$).

Таблица 2

Аллергическая альтерация лейкоцитов у подопытных крыс (%)

Природа антигена	Помещение в котором содержались исследуемые животные	Аллергическая альтерация лейкоцитов в (%) M $\pm$ m, n=5			
		Время исследования (июль–август, 2004 г.)			
		1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
Сложный антиген	Телятник	11,0 $\pm$ 0,70	24,8 $\pm$ 0,9	35,69 $\pm$ 1,63	32,78 $\pm$ 1,5*
	Виварий	9,26 $\pm$ 0,50	20,96 $\pm$ 1,04	24,96 $\pm$ 2,22	20,56 $\pm$ 4,41*
Антигены кишечной палочки	Телятник	7,1 $\pm$ 0,60	16,88 $\pm$ 0,97	19,74 $\pm$ 0,67	25,62 $\pm$ 1,67*
	Виварий	6,57 $\pm$ 0,67	12,66 $\pm$ 0,54	17,96 $\pm$ 0,68	19,21 $\pm$ 1,34*
Антигены гемолитических кокков	Телятник	16,9 $\pm$ 0,88	32,88 $\pm$ 1,61	47,76 $\pm$ 1,69	35,32 $\pm$ 1,3*
	Виварий	11,0 $\pm$ 0,66	16,98 $\pm$ 1,03	13,38 $\pm$ 1,38	15,18 $\pm$ 1,25*

Примечание: *P < 0,001

Результаты исследований свидетельствуют о том, что процент аллергической альтерации лейкоцитов крови крыс, помещенных в условия с более высоким содержанием микроорганизмов, соответственно в телятнике – 116,3 мк.т./л, виварии – 42,33 мк.т./л значительно выше. Более выраженное влияние оказывали гемолитические антигены и сложный антиген из микрофлоры телятника. Как следует из графика на рисунке 4 наибольший процент аллергической альтерации лейкоцитов наблюдали через 3 недели содержания.

Сенсибилизация к микрофлоре воздуха наблюдается и у животных, содержащихся в виварии (рис. 5), однако степень антигенного воздействия выражена гораздо ниже, что связано, по нашему мне-

нию, с более низким содержанием микрофлоры в воздухе помещений. Полученные данные говорят о нарастании сенсибилизации организма животного к микрофлоре животноводческого помещения, причем степень влияния зависит от количественного и качественного состава микрофлоры окружающей среды.

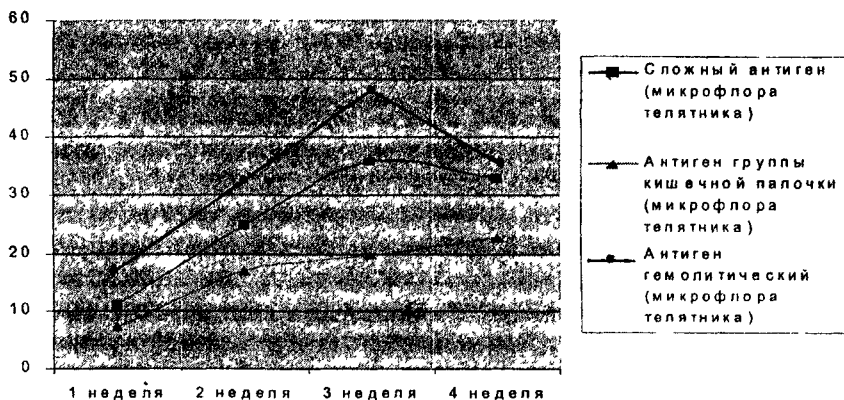


Рис. 4. Аллергическая альтерация лейкоцитов крыс, содержащихся в телятнике (%)

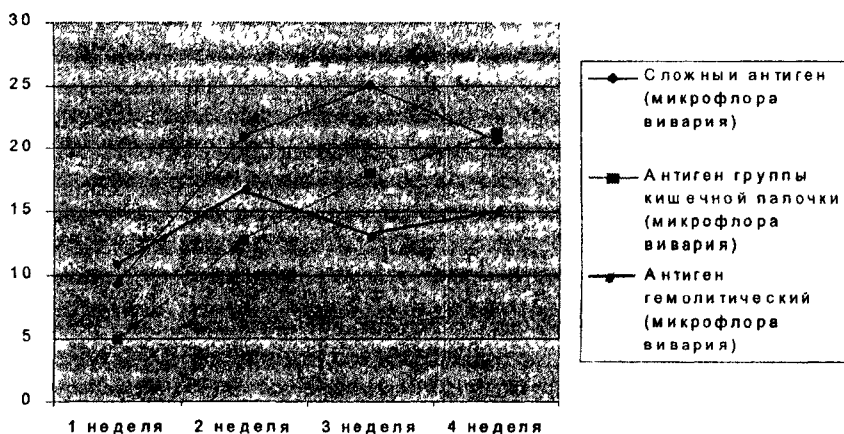


Рис. 5. Аллергическая альтерация лейкоцитов крыс, содержащихся в виварии (%)

Таблица 3

**Показатели чувствительности крыс к микрофлоре воздуха телятника
в процессе опыта $M \pm m$, $n=5$**

Показатели	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
Аллергическая альтерация лейкоцитов, в % (сложный антиген)	$11,0 \pm 0,70$	$24,8 \pm 0,9$	$35,69 \pm 1,63$	$32,78 \pm 1,5^*$
ЦИК, у.е.	$54 \pm 3,2$	$75 \pm 4,7$	$110 \pm 6,2$	$77,5 \pm 6,1^*$
Количество лейкоцитов, $10^9/\text{л}$	$6,8 \pm 0,8$	$5,2 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,5^*$
Количество эритроцитов, $10^{12}/\text{л}$	$5,8 \pm 0,3$	$5,9 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,4$	$6,7 \pm 0,4^{**}$
СОЭ мм	$4,9 \pm 0,27$	$5,2 \pm 0,3$	$6,0 \pm 0,42$	$7,8 \pm 0,5^*$

Примечание: * $P < 0,001$; ** $P < 0,01$

Как видно из таблицы 3, показатель аллергической альтерации лейкоцитов у крыс в начале опыта составил $11,0 \pm 0,70\%$. Это означает, что только 11% лейкоцитов крови повреждалось в присутствии антигена, приготовленного из воздушной микрофлоры. К концу периода содержания показатель повреждаемости лейкоцитов составил $35,69 \pm 1,63\%$. Имеет место значительное увеличение чувствительности (в 3,2 раза) лейкоцитов к микрофлоре воздуха, которая накапливается в животноводческом помещении.

Уровень циркулирующих иммунных комплексов (рис. 6) в течение опыта у подопытных крыс возрастал с 54 у.е. до 110 у.е., что объясняется возрастанием образовавшихся комплексов антиген+антитело. Далее наблюдается спад ЦИК до 77,5 у.е.; это, в свою очередь, объясняется истощением иммунной системы и развитием так называемого микробного стресса.

По показателям морфологического состава крови у крыс (табл. 3) установлены различия в содержании лейкоцитов в 1 мл³ крови в начале и конце опыта. Причем к концу стойлового периода содержания их количество снизилось с $6,8 \pm 0,8 \cdot 10^9/\text{л}$ до $4,6 \pm 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$.

К концу опыта у крыс повышалась скорость оседания эритроцитов — с $4,90 \pm 0,27$ до $7,80 \pm 0,50$ мм. Отмечено также и повышение количества эритроцитов — с $5,8 \pm 0,3 \cdot 10^{12}/\text{л}$ до $6,7 \pm 0,4 \cdot 10^{12}/\text{л}$.

Интересно отметить, что перестройка в организме крыс имела место и связана она с сенсibilизацией клеточных элементов крови и повышенной их повреждаемостью. Снижение количества лейкоцитов к концу опытного периода содержания можно объяснить их сенсibilизацией и повышенной повреждаемостью.

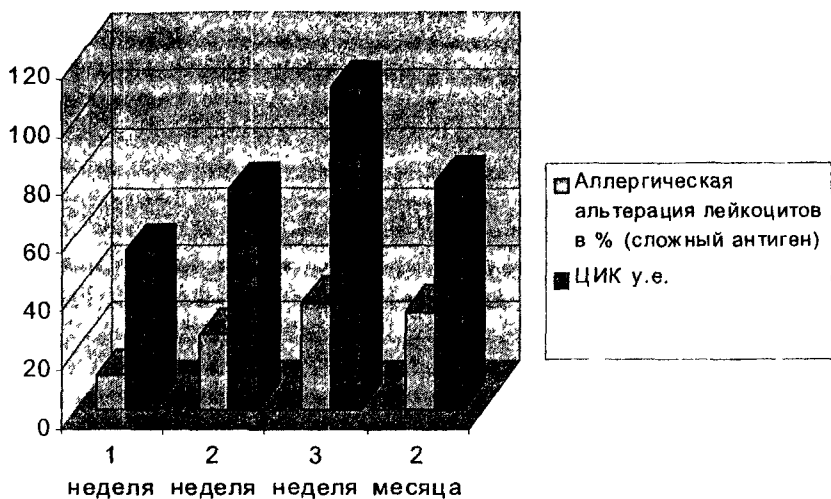


Рис. 6. Сравнительная динамика показателей аллергической альтерации лейкоцитов и уровня циркулирующих иммунных комплексов у крыс (телятник)

Количество эритроцитов в крови животных изменялось несущественно, однако данные по показателям аллергической альтерации лейкоцитов и скоростью оседания эритроцитов указывают на то, что имеет место высокая повреждаемость эритроцитов.

Содержание общего белка в сыворотке крови крыс (табл. 4) содержащихся в телятнике, по ходу опыта увеличивалось с $4,37 \pm 0,10$ до $4,94 \pm 0,13$ г% при ($P < 0,001$). У крыс, содержащихся в виварии, общий белок изменялся с $4,44 \pm 0,09$ до $6,03 \pm 0,49$ г%. Однако альбумин-глобулиновый коэффициент был различен.

Таблица 4
Динамика содержания белка и его фракций в сыворотке крови крыс в (г%)

Время исследования	Показатели			А/Г коэффициент
	Общий белок M±m	Альбумины M±m	Глобулины M±m	
1	2	3	4	5
Крысы, содержащиеся в телятнике (5 гол.)				
1 неделя	$4,37 \pm 0,10^*$	$0,59 \pm 0,08^*$	$3,83 \pm 0,12$	$0,17 \pm 0,02^*$
2 неделя	$4,34 \pm 0,07$	$0,66 \pm 0,09$	$3,74 \pm 0,09$	$0,18 \pm 0,02$

1	2	3	4	5
3 неделя	4,69±0,32	1,58±0,21	3,11±0,30	0,54±0,12
4 неделя	4,94±0,13*	2,59±0,89*	2,90±0,12	1,09±0,16*
Крысы, содержащиеся в виварии (5 гол.)				
1 неделя	4,44±0,09*	0,81±0,09*	3,71±0,09	0,22±0,03
2 неделя	4,86±0,09	0,55±0,03	4,31±0,13	0,92±0,03
3 неделя	4,75±0,25	2,06±0,72	2,87±0,27	0,73±0,26
4 неделя	6,03±0,49*	1,55±0,08*	4,13±0,13	0,58±0,02

Примечание: * $P < 0,001$

У крыс, содержащихся в телятнике, он изменялся с 0,17 до 1,09, в то время как в виварии альбумин-глобулиновый коэффициент изменялся с 0,22 до 0,58. Такие различия связаны с повышением чувствительности организма крысят на чрезмерное содержание микрофлоры в воздухе телятника и повышением уровня ЦИК.

Результаты исследования лизоцимной активности крыс, содержащихся в телятнике (табл. 5), свидетельствуют о том, что лизоцимная активность сыворотки крови повышается с первой (12,08%) по третью неделю измерений (15,08%), в последнюю неделю периода — идет снижение (9,7%).

Вероятно, это обусловлено особенностями реакции крыс на изменения условий внешней среды и общую обсемененность помещений, так как лизоцим является универсальным ферментом, обладающим выраженным действием на многие виды микроорганизмов.

Таблица 5

**Бактерицидная и лизоцимная активность
сыворотки крови крыс ($M \pm m$; в %)**

Время исследования	Показатели активности	
	бактерицидной	лизоцимной
1	2	3
Крысы, содержащиеся в телятнике (5 гол.)		
1 неделя	57,0±2,07*	12,08±1,07
2 неделя	62,3±2,63	24,37±3,45
3 неделя	66,18±2,36	15,08±1,48
4 неделя	23,0±0,80*	9,70±0,90

таты – жидкость бесцветная с содержанием обильного осадка эритроцитов. На 12-й день отмечается ясная задержка гемолиза эритроцитов – жидкость бесцветная с содержанием осадка эритроцитов. На 13-й и 14-й день наблюдается частичный гемолиз эритроцитов – жидкость имела слабое розовое помутнение. На 15-й день отмечали задержку гемолиза эритроцитов – жидкость имела розовый цвет и слабый осадок. На 16-й день отмечали слабые следы задержки гемолиза, т.е. сильный гемолиз и отсутствие осадка. На 17-й день – полный гемолиз – жидкость имела интенсивный розовый цвет и отсутствие осадка эритроцитов.

На основании полученных данных можно предположить, что иммунный ответ организма крыс на микрофлору воздуха наступает на 16–17 день.

Таблица 6

**Время проявления иммунной реакции у крысят к микрофлоре воздуха
(реакция гемолиза эритроцитов)**

Возраст крыс (в днях)	Степень гемолиза эритроцитов				
	Номера животных				
	1	2	3	4	5
10	–	–	–	–	–
11	–	–	–	–	–
12	±	±	±	±	±
13	+	+	+	+	+
14	+	+	+	+	+
15	++	++	++	++	++
16	+++	+++	+++	+++	+++
17	++++	++++	++++	++++	++++

Примечание: – – полная задержка гемолиза; ± ясная задержка гемолиза; + частная задержка гемолиза; ++ слабая задержка гемолиза; +++ следы задержки гемолиза; ++++ полный гемолиз.

ВЫВОДЫ

1. Новое устройство обеспечивает более качественное улавливание микроорганизмов из воздуха животноводческого помещения за счет наличия конусообразной емкости с крышкой, в верхней части которой установлен фильтр, а в средней части конусооб-

разной емкости выполнено отверстие малого диаметра под острым углом к вертикальной оси конусообразной емкости, при этом прибор снабжен съемной насадкой с крышкой и вспомогательным фильтром, последний выполнен с возможностью фиксации с помощью уплотнительного кольца и крышки.

2. Конструктивные особенности прибора обеспечивают возможность определения общего количества микроорганизмов, санитарно-показательных микроорганизмов. Сущность метода заключается в фильтрации улавливающей жидкости через фильтр, находящийся в улавливателе, и концентрировании микроорганизмов на поверхности фильтра, выращивании их при 37 °С на среде Эндо, дифференцировании выросших колоний и подсчете количества кишечных палочек в определенном объеме воздуха.
3. Показатели бактериальной обсемененности воздушной среды при использовании нашего прибора в 3—7 раз выше, чем при использовании известных седиментационных методов (по Коху).
4. Микробная контаминация воздуха исследуемых помещений изменялась по количественным и качественным показателям. Так, в телятнике общее количество микроорганизмов колебалось от $51,67 \pm 2,51$ мк.т./л до $131,0 \pm 3,60$ мк.т./л, коли-индекс составлял от $4,41 \pm 0,40$ мк.т./л до $12,03 \pm 0,60$ мк.т./л, содержание гемолитических кокков варьировало от $1,74 \pm 0,09$ мк.т./л до $4,70 \pm 0,20$ мк.т./л. В виварии общее количество микроорганизмов колебалось от $20,77 \pm 0,65$ мк.т./л до $42,67 \pm 3,05$ мк.т./л, коли-индекс — от $2,92 \pm 0,07$ мк.т./л до $8,83 \pm 0,25$ мк.т./л, гемолитические кокки — от $1,30 \pm 0,06$ мк.т./л до $4,49 \pm 0,07$ мк.т./л.
5. Аллергическая альтерация лейкоцитов у крыс, помещенных в телятник в течение опыта, на сложный антиген увеличилась в 2,98 раза. У крыс, содержащихся в виварии, повреждение лейкоцитов увеличилось в 2 раза. Антиген из гемолитических бактерий к концу опыта в телятнике вызывал увеличение повреждения в 2,8 раза, в то время как крысы, содержавшиеся в виварии реагировали на подобный антиген менее интенсивно; увеличение составило в 1,5 раза. Антиген из кишечной палочки вызывал наибольшую альтерацию лейкоцитов. У крысят из телятника повреждение увеличилось в 3,6 раза, а у сверстников из вивария — в 2,92 раза.
6. В процессе исследования имело место увеличение ЦИК на 59,4%; если в начале показатель был 54 у.е., то в конце исследования — 110 у.е.
7. У крыс, содержащихся в телятнике, наблюдалось достоверное снижение содержания лейкоцитов с $6,8 \pm 0,8 \times 10^9$ /л до $4,6 \pm 0,5 \times 10^9$ /л. Отмечено повышение количества эритроцитов с $5,85 \pm 0,3 \times 10^{12}$ /л до $6,7 \pm 0,4 \times 10^{12}$ /л. К концу опыта (4-я неделя)

наблюдали повышение скорости оседания эритроцитов с $4,9 \pm 0,27$ до $7,8 \pm 0,5$ мм/час.

8. Общий белок увеличивался независимо от способа содержания крыс. Наблюдали увеличение альбуминов и снижение глобулинов в сыворотке крови исследуемых животных, содержащихся в телятнике, и увеличение глобулинов у животных, содержащихся в виварии. По бактерицидной и лизоцимной активности существенных различий между группами не установлено.
9. Иммунные реакции организма крыс на микрофлору окружающего воздуха начинают проявляться на 12-й день и становятся выраженными на 17-й день после рождения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Прибор для улавливания микроорганизмов (Пат. №2250257, МПК7 С 12 М 1/00, С 12 N 1/00. / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов, С.В. Труфанов; Пат. №37097, МПК7 С12N 1/00 / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов, Ю.В. Краснощекова).
2. Методические рекомендации «Исследование микробной обсемененности воздуха животноводческих помещений» одобрены и утверждены научно-техническим советом МСХ Ставропольского края.
3. Разработанные нами устройства и методика для индикации и количественной оценки популяций могут использоваться при разработке санитарно-гигиенических требований и нормативов по бактериальной обсемененности животноводческих помещений.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Дмитриев, А.Ф., Морозов, В.Ю. Чувствительность организма телят к антигенам микрофлоры воздуха / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов: Материалы II Международной научно-практической конференции. – Ставрополь, 2003. – С. 306–309.
2. Дмитриев, А.Ф., Морозов, В.Ю. Новая методика определения микробной обсемененности воздуха животноводческих помещений / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов: Материалы V Межрегиональной научной конференции «Студенческая наука – экономике России». – Ставрополь, 2005. – С. 198–199.
3. Дмитриев, А.Ф., Морозов В.Ю. Исследование микробной обсемененности воздуха животноводческих помещений: Методические рекомендации / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов – Ставрополь: Изд-во «АГРУС», 2005. – 28 с.
4. Морозов, В.Ю. Совершенствование устройства для микробиологического анализа воздуха / В.Ю. Морозов // Актуальные про-

блемы современной науки: Сб. науч. тр. / СтГАУ. – Ставрополь, 2004. – С. 99–103.

5. Пат. №2250257 Российская Федерация, МПК7 С 12 М 1/00, С 12 N 1/00. Прибор для улавливания микроорганизмов / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов, С.В. Труфанов; заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет. – №2003124273/13; заявл. 04.08.2003 г.; опубл. 20.04.2005, Бюл. №11 – 5 с.
6. Пат. №37097 Российская Федерация, МПК7 С12N 1/00. Прибор для улавливания микроорганизмов / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов, Ю.В. Краснощекова; заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет. – №2003134772/20; заявл. 01.12.2003; опубл. 10.04.2004, Бюл. №10 (IVч). – 1 с.
7. Дмитриев, А.Ф., Морозов, В.Ю., Краснощекова, Ю.В. Прибор для улавливания микроорганизмов: Информ. листок №63-026-04 / ЦНТИ. – Ставрополь, 2004. – 3 с.

№ 16499

РНБ Русский фонд

2006-4
15140

Подписано в печать 30.08.2005
Формат 60x84¹/₁₆ Бумага офсетная Гарнитура «Times». Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,4. Тираж 120 экз. Заказ №490.

Налоговая льгота — Общероссийский классификатор продукции ОК 005-93-953000.

Издательство Ставропольского государственного
аграрного университета «АГРУС»,
г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.
Тел./факс (8652) 35-06-94. E-mail: agrus@stgau.ru; <http://www.agrus.stgau.ru>
Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса
СтГАУ «АГРУС», г. Ставрополь, ул. Мира, 302.