



На правах рукописи

Краснощекова Юлия Викторовна

**ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЖИВОТНЫХ
К МИКРОБНЫМ АНТИГЕНАМ ВОЗДУШНОЙ
СРЕДЫ ЗАКРЫТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных
16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ставрополь – 2009

Работа выполнена в ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет»

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

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Лапина Татьяна Ивановна

кандидат ветеринарных наук
Сурмило Алексей Петрович

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

Защита состоится «24» декабря 2009 г. в 12⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12, тел./факс: 8(8652) 28-67-38.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Автореферат размещен на официальном сайте ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» – <http://www.stgau.ru>
«20» ноября 2009 г.

Автореферат разослан «21» ноября 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Квочко А. Н.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Наряду с загрязнением окружающей среды промышленными предприятиями, сточными водами городов и населенных пунктов мощными источниками загрязнения биосферы стали крупные животноводческие фермы, комплексы и птицефабрики (Рыбаков Ю.А., 1997; Вершняк Т.В., Кузнецова С.В., Самуйленко С.А. и др., 2004; Дементьев Е.П., Казадаев В.А., 2004; Денисов А.А., 2005; Avram N., 1999; Hartung J., 1999; Hartung J., Wathes C.M., 2001; Ondrasovićová O., Ondrasovic M. et al., 2005).

Практика работы животноводческих ферм и птицеводческих предприятий свидетельствует о том, что при высокой степени загрязненности территорий и воздушной среды ферм биологическими и органическими отходами невозможно добиться полной реализации продуктивного и генетического потенциала сельскохозяйственных животных и птицы (Гущин В.Н. и др., 1999; Лопата Ф.Ф., 2007; Seedorf J., Hartung J., 2002).

Значительная концентрация поголовья на ограниченных площадях, отсутствие активного моциона и ультрафиолетового облучения, низкий уровень санитарной культуры, несвоевременная организация и проведение ветеринарно-санитарных, профилактических и противозпизоотических мероприятий в ряде случаев способствуют формированию в воздушной среде популяции микроорганизмов, которые в результате многочисленных пассажей изменяют свои биологические свойства. В результате этого повышается их болезнетворное действие на животных, что обуславливает возникновение болезней в первую очередь у животных с ослабленной резистентностью (Мозжерин В.И., 2004; Петров А.М., 2004; Медведев А.П., Вербицкий А.А., Грибанова М.В., 2006).

Большое значение при этом имеет иммунобиологическое состояние организма животного и совершенство его адаптивных механизмов, обеспечивающих необходимую функциональную перестройку и оптимальный режим функционирования. В этой связи микроорганизмы (в том числе и сапрофитные) и продукты их жизнедеятельности при значительной их концентрации в воздушной среде помещений представляют угрозу для животных и обслуживающего персонала, индуцируя возникновение сенсибилизации и повышенной чувствительности. Гиперчувствительность и реакции клеточного иммунитета могут обуславливать различные патологические процессы, которыми иногда сопровождаются микробные инфекции (Воронин Е.С., Петров А.М. и др., 2002; Хаитов Р.М., 2003; Воробьев А.А., 2004; Москалев А.В., Сбойчаков В.Б., 2006).

В связи с этим особую остроту и актуальность приобретает проблема количественной и качественной оценки микробного фона воздушной среды закрытых помещений и его влияние на иммунобиологическое состояние организма.

Недооценка важности диагностики и коррекции нарушений функций иммунной системы может приводить к развитию иммунодефицитных состояний и обострению течения патологического процесса. Это обусловлено тем, что иммунная система наиболее чувствительна к воздействию различных неблагоприятных факторов (Федоров Ю.Н., Верховский О.А. и др., 1999; Смирнов В.С., Фрейдлин И.С., 2000; Воронин Е.С., Петров А.М. и др., 2002; Золотарева Н.А., 2002; Хаитов Р.М., 2006).

Целью наших исследований явилась микробиологическая оценка воздушной среды закрытых помещений и определение чувствительности организма животного к микробным антигенам биологического аэрозоля.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить количественный и качественный состав биологического аэрозоля в животноводческих помещениях.
2. Разработать способ определения чувствительности животного к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности.
3. Провести оценку чувствительности лабораторных и сельскохозяйственных животных к воздушной микрофлоре, накапливающейся в помещении.

Научная новизна. Разработано устройство «Прибор для улавливания микроорганизмов» (Патент на полезную модель № 37097 РФ, МПК⁷ С 12 N 1/00) и способ определения чувствительности лошадей к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности (Решение Роспатента № 2008139718/15(051324) от 05.10.2009 о выдаче патента на изобретение по заявке от 06.10.2008). Впервые проведена оценка чувствительности лошадей к микробным антигенам воздушной среды помещения конюшни. Установлено, что микроорганизмы, независимо от их патогенности, а также продукты их жизнедеятельности, воздействуя на организм, вызывают иммунологическую перестройку с появлением особей, проявляющих гиперчувствительность к микробным антигенам.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработано, изготовлено и испытано устройство для улавливания микроорганизмов в воздушной среде. Устройство может использоваться для определения количественного и качественного состава микрофлоры воздушной среды помещений, а также при разработке санитарно-гигиенических требований и нормативов по бактериальной обсемененности воздуха помещений, в которых по условиям технологии требуется определенная степень чистоты, и при разработке мероприятий, направленных на своевременное обнаружение возбудителей болезней и оздоровление воздушной среды. Предложен способ определения чувствительности организма животного к микробным антигенам воздушной среды закрытых помещений, позволяющий выявлять особей с повышенной чувствительностью к антигенам микроорганизмов различных физиологических групп. Способ может использоваться для диагностики сенсibilизации при заболеваниях, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами.

Реализация результатов исследований. Основные результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» за 2004–2009 гг. Разработанный прибор для улавливания микроорганизмов экспонировался на IV Московском Международном салоне инноваций и инвестиций (2004), неделе высоких технологий (г. Санкт-Петербург, 2004), дне высоких технологий (г. Санкт-Петербург, 2005), Международной выставке-конгрессе «Высокие технологии. Инновации. Инвестиции» (г. Санкт-Петербург, 2007).

Материалы исследований внедрены в учебный процесс при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по курсам кафедры эпизоотологии и микробиологии ФГОУ ВПО «Ставропольский ГАУ»: «Ветеринарная микробиология и иммунология», «Санитарная микробиология», по дисциплине «Теоретические основы биотехнологии», в научно-исследовательской работе лаборатории визуальной диагностики и патологии молодняка ГНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт Российской академии сельскохозяйственных наук», в бактериологическом отделе ГУКК «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория», ГУРО «Ростовская областная ветеринарная лаборатория».

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены, обсуждены, одобрены на научных конференциях: IV Международной научной конференции «Биотехнология – охране окружающей среды», посвященной 295-летию М.В. Ломоносова, (Москва, 2006); 71-й ежегодной научной конференции молодых ученых и студентов (Ставрополь, 2007); ежегодной Международной научно-практической конференции «Состояние, перспективы, стратегия развития и научного обеспечения овцеводства и козоводства РФ», (Ставрополь, 2007); IX Всероссийской научно-практической конференции «Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития», (Саратов, 2009); XVII Московском Международном Ветеринарном Конгрессе (Москва, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 2 из них в периодическом издании из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки РФ. Получен патент на полезную модель «Прибор для улавливания микроорганизмов», решение о выдаче патента на изобретение «Способ определения чувствительности лошадей к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности».

Положения, выносимые на защиту:

1. Количественная и качественная оценка состава биологического аэрозоля возможна при использовании разработанного нами устройства, позволяющего осуществлять осаждение микроорганизмов в улавливающую жидкость конической емкости прибора и на бактериальный фильтр при выходе воздушного потока.
2. Микрофлора воздушной среды закрытых помещений при значительной ее концентрации представляет определенную опасность для животных, поскольку она индуцирует повышенную чувствительность организма (гиперчувствительность) и обуславливает возникновение иммунопатологических состояний (полиаллергий).
3. Способ определения чувствительности лошадей к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности позволяет проводить тестирование животных через различные временные интервалы, дифференцированно выявлять особей с повышенной чувствительностью к нескольким антигенам.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 118 страницах, содержит введение, аналитический обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов, выводы, практические предложения, список литературы и приложения, иллюстрирована 14 таблицами и 13 рисунками. Список использованной литературы включает 224 источника, в том числе 37 иностранных.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Исследования по теме диссертационной работы выполнены в 2004–2009 гг. на кафедре эпизоотологии и микробиологии Ставропольского государственного аграрного университета, в лабораториях обмена веществ, биохимии и иммуногенетики СНИИЖК, в Ставропольской межобластной ветеринарной лаборатории.

Объектами исследования были микроорганизмы воздушной среды помещений конноспортивной школы университета и вивария кафедры, представленные различными физиологическими группами (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Escherichia*, *Proteus*, *Serratia*, *Bacillus*), в том числе микроскопические грибы (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*), лабораторные белые крысы линии «Wistar» в количестве 80 голов обоего пола, спортивные лошади тракеннинской, ахалтекинской, буденновской и кабардинской пород в количестве 14 голов. В опыте использовались здоровые животные.

В помещениях определяли общее количество микроорганизмов, содержащихся в 1 л воздуха (КОЕ) и качественный состав микрофлоры. Концентрацию микроорганизмов в воздухе закрытых помещений определяли с помощью разработанного нами прибора для улавливания микроорганизмов (RU 37097 U1, 10.04.04) и методических рекомендаций «Исследование микробной обсемененности воздуха животноводческих помещений» (Дмитриев А.Ф., Морозов В.Ю. Ставрополь: Агрус, 2005. 28 с.).

Взятие усредненной пробы воздуха осуществляли с помощью электроаспиратора в режиме 5 л/мин, по 3 мин в трех точках по диагонали и в двух точках по вертикали помещения. Утреннее взятие пробы воздуха осуществляли в 7 часов до раздачи корма и замены подстилки, вечернее – 17 часов при аналогичных условиях. Отбор проб проводили еженедельно в различные периоды года (зимний, весенний, летний и осенний) в течение двух лет. Пробы воздуха брали в одной повторности.

Микробиологические исследования проводили в соответствии с методическим пособием и рекомендациями (Скородумов Д.И., Субботин В.В. и др., 2005; Смирнова Л.И., Кондратьева М.А. и др., 2005). Идентификацию выделенных культур осуществляли в соответствии с требованиями, изложенными в «Кратком определителе бактерий Берджи» (1997).

Из наиболее представительных культур микроорганизмов воздушной среды по методам, изложенным в справочных руководствах Пастера Е.У., Овода В.В. и др. (1989), Воронина Е.С., Петрова А.М. и др. (2002), Ашуровой З.Д. (2005), нами были приготовлены корпускулярные (*Streptococcus*

faecalis, *Streptococcus faecium*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*) и водорастворимые (*Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) антигены, стандартизированные по стандартным образцам мутности ГНИИ-СиКМБП им. Л.А. Тарасевича с концентрацией 1–1,3 млрд. микробных клеток в 1 мл. Для сравнения использовали разведенные в 40 раз стандартные водорастворимые антигены (*Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*), полученные из Казанского НИИ эпидемиологии и микробиологии.

Лабораторные крысы при достижении физиологической и половой зрелости (4 месяца) с массой самок 180–220 г, самцов 230–280 г по принципу аналогов были разделены на 4 группы: первые три – опытные, четвертая – контрольная.

Для определения чувствительности лабораторных животных к антигенам микроорганизмов, накапливающихся в помещении, провели аэрозольное воздействие водорастворимыми антигенами воздушной среды вивария на опытные группы животных в настольном портативном боксе. Так, 1 группу животных (n=20) подвергли воздействию микст антигеном (*Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*), 2 группу (n=20) – *Staphylococcus aureus*, 3 группу (n=20) – *Streptococcus faecalis*, 4 группа (n=20); контрольная, воздействию не подвергалась. Распыление жидкого антигена в количестве 2 мл осуществляли при помощи металлического коаксиального распылителя, обеспечивавшего относительно равномерное дробление жидкости и перемещение аэрозоля в боксе. Размеры частиц создаваемого аэрозоля относились к среднедисперсным, не превышали 4–6 мкм. Экспозиция воздействия на животных опытных групп была равна 30 мин.

Состояние гиперчувствительности организма крыс к микробным антигенам воздушной среды вивария определяли до и на 30, 60 и 90-й дни после воздействия путем постановки реакции лейкоцитоллиза (Сохин А.А., Чернушенко Е.Ф., 1984) в нашей модификации.

Чувствительность организма лошадей к антигенам микрофлоры воздуха помещения конноспортивной школы проводили в период с марта по апрель двукратно с интервалом в 2 недели путем постановки реакции лейкоцитоллиза с использованием корпускулярных, водорастворимых и стандартных антигенов.

Состояние факторов неспецифической защиты и иммунного статуса лабораторных животных и лошадей оценивали по показателям: бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, содержанию белка и его фракций, морфологическому составу крови, фагоцитарной активности и интенсивности нейтрофилов, количеству Т- и В-лимфоцитов, концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), общего Ig E в сыворотке крови.

Морфологический анализ крови, лейкоцитарную формулу определяли общепринятыми методиками с использованием микроскопа и камеры Горяева. Концентрацию гемоглобина определяли гематиновым методом Сали с помощью гемометра ГС-3. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов проводили по Кост и Стенко (Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., 1974), в качестве объекта фагоцитоза использовали частицы латекса (D = 1,5

мкм). Лизоцимную активность сыворотки крови определяли фотонепелометрическим методом по Дорофейчуку В.Г. (1968) с использованием суточной агаровой культуры *Micrococcus lysodeicticus* штамм 2665. Бактерицидную активность сыворотки крови определяли фотонепелометрическим методом, описанным Смирновой О.В. и Кузьминой Т.А. (1966) в модификации Бухарина О.В. и Созыкина В.Л. (1979) с использованием суточной агаровой культуры *Escherichia coli* штамм О78.

Определение общего белка в сыворотке крови животных осуществляли рефрактометрическим методом в рефрактометре RL 140 (Poland), белковых фракций – нефелометрическим (турбидиметрическим) методом (Методические указания по применению унифицированных биохимических методов исследования крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. М., 1981. 84 с.).

Определение Т-лимфоцитов осуществляли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана (Е-РОК). Определение соотношения лимфоцитов с хелперной и супрессорной функциями проводили в теофиллиновом тесте. Определение В-лимфоцитов проводили методом розеткообразования с эритроцитами мыши в системе ЕАС (Фримель Х.М., 1987). Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови проводили методом преципитации полиэтиленгликолем молекулярной массой 6000 (ПЭГ₆₀₀₀) (Digeon M. et al., 1977). Определение концентрации общего Ig Е в сыворотке крови проводили с помощью твердофазного ИФА («сэндвич») с использованием моноклональных сывороток к Ig Е фирмы «Вектор Бест».

Статистическую обработку данных проводили с использованием алгоритмов статистического анализа, реализованных в Microsoft Excel 2007, программе Primer of Biostatistics (Version 4.03) с учетом рекомендаций по статистической обработке результатов биологических и медицинских исследований (Лебедева В.Л., 1997; Гланц С., 1998).

Графический материал результатов (графики, диаграммы) был получен с использованием программы Microsoft Excel 2007.

2.2. Результаты исследований

2.2.1. Бактериальная обсемененность воздушной среды закрытых помещений

Микробиологический анализ биологического аэрозоля помещения конноспортивной школы и вивария кафедры показал, что количественный и видовой состав микроорганизмов в воздухе этих помещений подвержен изменчивости (табл. 1, 2).

Качественный состав микрофлоры воздуха помещения конноспортивной школы характеризовался наличием *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, в том числе микроскопических грибов – *Penicillium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Asp. fumigatus*, *Asp. niger*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Cladosporium sp.*

Бактериальный фон биологического азрозоля вивария представлен условно-патогенными микроорганизмами *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, в том числе микроскопическими грибами *Penicillium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Asp. fumigatus*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Cladosporium sp.*

Таблица 1

Общая бактериальная обсемененность воздуха закрытых помещений (КОЕ/л, М±m)

Время года Время суток	Весна	Лето	Осень	Зима
Конноспортивная школа				
Утро	923,03±49,81	3693,00±164,03	2733,75±189,34	4575,00±177,03
Вечер	478,13±32,43	2673,00±178,80	2193,75±160,48	2753,75±112,61
Виварий				
Утро	6193,75±482,04	10100,00±889,42	7375,00±574,38	9068,75±433,93
Вечер	3665,00±417,42	7300,00±314,53	3615,00±564,94	6550,00±492,44

Изменение общей бактериальной обсемененности воздушной среды помещения конноспортивной школы (табл. 1) характеризовалось максимальным количеством микроорганизмов в зимнее время года (в утренние часы 4575,00±177,03 КОЕ/л, вечерние – 2753,75±112,61 КОЕ/л), минимальным – весеннее (в утренние часы 923,03±49,81 КОЕ/л, вечерние – 478,13±32,43 КОЕ/л). Общее количество микроскопических грибов также имело тенденцию к увеличению в зимний период и составило в весенний период 18,51±1,09 КОЕ/л, летний – 27,77±0,74 КОЕ/л, осенний – 32,31±1,10 КОЕ/л, и зимний – 39,09±0,98 КОЕ/л. Достоверные различия общей бактериальной обсемененности воздуха помещения конноспортивной школы установлены между периодами года: весна – лето, весна – осень, весна – зима ($p \leq 0,001$), лето – осень, лето – зима ($p \leq 0,01$), осень – зима ($p \leq 0,001$).

Общая бактериальная обсемененность воздуха помещения вивария в течение года за наблюдаемый период колебалась от 3615,00±564,94 (осень) до 10100,00±889,42 (лето) КОЕ/л воздуха. Максимальное количество микроорганизмов наблюдалось в летний период (в утренние часы 10100,00±889,42 КОЕ/л и вечерние – 7300,00±314,53 КОЕ/л). Достоверные различия общей бактериальной обсемененности воздуха помещения вивария установлены между периодами года: весна – лето, весна – зима, лето – осень ($p \leq 0,01$), осень – зима ($p \leq 0,05$).

В утреннее время в обоих помещениях наблюдалось увеличение количества микроорганизмов по сравнению с вечерним в 1,2–2 раза.

Таблица 2

**Количество микроорганизмов различных физиологических групп
в воздухе закрытых помещений (КОЕ/л, М±m)**

Время года Род м/о	Весна	Лето	Осень	Зима
Конноспортивная школа				
<i>Streptococcus</i>	185,15±15,67	916,05±99,71	756,63±71,56	1058,11±44,46
<i>Staphylococcus</i>	160,21±12,10	795,75±89,91	612,00±47,36	874,81±54,12
<i>Bacillus</i>	86,91±8,10	539,28±32,43	432,25±76,65	549,31±36,82
БГКП	45,85±2,66	421,43±26,82	342,02±41,08	271,51±17,63
Виварий				
БГКП	916,33±104,35	1825,00±78,63	903,75±141,23	1637,50±123,11
<i>Staphylococcus</i>	289,25±47,47	614,13±63,27	309,38±53,07	595,38±76,24
<i>Streptococcus</i>	260,04±32,54	509,96±26,06	238,50±36,21	433,63±32,30
<i>Bacillus</i>	183,13±20,80	375,13±21,58	188,25±33,31	336,63±28,06

При анализе количественного состава микроорганизмов различных физиологических групп (табл. 2) установлено, что для микрофлоры воздуха помещения конноспортивной школы характерно преобладание бактерий родов *Streptococcus* и *Staphylococcus* в течение всего года. Максимальное их количество наблюдалось в зимнее время (1058,11±44,46 КОЕ/л и 874,81±54,12 КОЕ/л соответственно), а бактерий группы кишечной палочки (БГКП) – в летнее (421,43±26,82 КОЕ/л). Минимальное количество микроорганизмов всех физиологических групп отмечено в весеннее время года.

В микрофлоре воздуха вивария преобладали бактерии группы кишечной палочки, наибольшее количество которых было зарегистрировано в летний период года (1825,00±78,63 КОЕ/л). В весеннее и осеннее время количество микроорганизмов различных физиологических групп в воздушной среде вивария имело минимальное значение.

Преобладание в воздухе помещения конноспортивной школы кокковых форм микроорганизмов, а в виварии – бактерий группы кишечной палочки свидетельствовало об особенностях микрофлоры воздушной среды помещений для разных видов животных с различным поголовьем, условиями содержания и кормления.

2.2.2. Чувствительность животных к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности

Результаты исследований, приведенные в таблице 3, свидетельствуют, что показатели лейкоцитоллиза на корпускулярные антигены у высокочувствительных животных находились в пределах 40,40–47,20%, а у низкочувствительных – 8,95–14,65%. На водорастворимые стандартные антигены значения показателей лейкоцитоллиза у животных находились в тех же пределах. При определении чувствительности лошадей с использованием антигенов, приготовленных разными методами, достоверных различий показателей лейкоцитоллиза не установлено.

Таблица 3

**Показатели лейкоцитоллиза и чувствительность лошадей
к микробным антигенам (% , $M \pm m$, $n=14$)**

Животные Антиген	Высоко- чувствительные	Средне- чувствительные	Низко- чувствительные
Корпускулярные антигены микрофлоры воздуха			
<i>Streptococcus faecium</i>	44,50±2,41	27,20±2,05	14,58±1,64
<i>Streptococcus faecalis</i>	47,20±3,46	26,43±1,03	14,65±0,75
<i>Micrococcus luteus</i>	—	26,35±3,02	9,03±2,48
<i>Serratia marcescens</i>	40,40	27,58±2,77	8,95±3,27
Водорастворимые антигены микрофлоры воздуха			
<i>Streptococcus faecalis</i>	50,97±1,57	29,48±1,89	18,25±0,85
<i>Staphylococcus aureus</i>	45,48±1,62	30,24±1,86	18,10±0,00
<i>Escherichia coli</i>	41,30	28,78±3,31	13,83±1,78
Водорастворимые стандартные антигены			
<i>Streptococcus faecalis</i>	44,80±1,74	27,92±2,34	12,60±0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	46,56±2,23	36,43±2,53	14,10±1,50
<i>Candida albicans</i>	48,00±2,80	33,20±1,82	5,35±3,65

В связи с этим мы объединили значения показателей лейкоцитоллиза у лошадей на антигены, приготовленные разными методами (табл. 4), в результате чего установлено, что наибольшее количество животных проявляло высокую чувствительность к антигену *Staphylococcus aureus*, а наименьшее количество животных – к антигенам *Escherichia coli* и *Serratia marcescens*. Это объясняется тем, что в воздухе помещения конноспортивной школы имело место преобладание кокковых форм микроорганизмов, что и послужило естественным стимулом сенсбилизации организма животных. По отношению к антигену *Staphylococcus aureus* показатель лейкоцитоллиза у высокочувствительных животных составил 46,02±1,31%, а у низкочувствительных – 15,43±1,59% ($p \leq 0,001$).

Таблица 4

**Показатель лейкоцитоллиза и количество животных разной
чувствительности к микробным антигенам (% , $M \pm m$, $n=14$)**

Животные Антиген	Высоко- чувствительные	Количество животных	Низко- чувствительные	Количество животных
<i>Streptococcus faecium</i>	44,50±2,41	3	14,58±1,64	4
<i>Streptococcus faecalis</i>	47,66±1,50	3	13,07±2,78	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	46,02±1,31	7	15,43±1,59	2
<i>Micrococcus luteus</i>	—	0	9,03±2,48	7
<i>Escherichia coli</i>	41,30	1	13,83±1,78	4
<i>Serratia marcescens</i>	40,40	1	8,95±3,27	4
<i>Candida albicans</i>	48,00±2,80	2	5,35±3,65	2
$M \pm m$	44,65±1,31	—	11,46±1,41	—

Установлены достоверные различия показателя лейкоцитолита у высокочувствительных ($44,65 \pm 1,31\%$) и низкочувствительных ($11,46 \pm 1,41\%$) животных ($p \leq 0,001$).

Высокую чувствительность к одному антигену (*Staphylococcus aureus*, табл. 5) проявляли 3 животных (21%), к двум антигенам одновременно (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) – 1 (7%), к трем и более из испытанных антигенов (*Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*) – 4 (29%). Низкую чувствительность ко всем антигенам проявляли 6 животных (43%).

Таблица 5

Специфика реагирования лошадей на антигены микроорганизмов различной таксономической принадлежности и концентрация общего Ig E (M±m, ME/мл)

Животные	Распределение животных по характеру реагирования на антигены (количество)						Показатель лейкоцитолита по группе, % (M±m)
	один	Ig E	два	Ig E	три	Ig E	
Гиперчувствительные	3	378,80±64,40	1	586,52	4	507,79±32,15*	45,93±0,84**
Низкочувствительные	6	294,66±41,12	6	294,66±41,12	6	294,66±41,12	13,50±0,97

Примечание: * $p \leq 0,01$, ** $p \leq 0,001$ по сравнению с низкочувствительными животными

Результаты определения чувствительности спортивных лошадей к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности с использованием реакции лейкоцитолита совпадают с данными по содержанию в сыворотке крови иммуноглобулина E, который является маркером сенсибилизации. Так, концентрация Ig E у животных, гиперчувствительных к трем и более антигенам, составила $507,79 \pm 32,15$ ME/мл, а у низкочувствительных животных – $294,66 \pm 41,12$ ME/мл ($p \leq 0,01$), в то же время показатель лейкоцитолита у животных, гиперчувствительных к трем и более антигенам, составил $46,18 \pm 0,95\%$, а у низкочувствительных животных – $13,84 \pm 1,10\%$ ($p \leq 0,001$).

Максимальное значение показателя лейкоцитолита у лабораторных крыс (табл. 6) всех опытных групп по отношению к контрольной установлено на 30-й день после воздействия. Показатель лейкоцитолита на микст антиген у животных первой группы увеличился в 3,1 раза ($p \leq 0,001$), на антиген *Staphylococcus aureus* у животных второй группы в 2,7 раза ($p \leq 0,001$) и на антиген *Streptococcus faecalis* у животных третьей группы – 1,9 раз по отношению к контролю. Однако у животных первой группы, подвергшихся воздействию микст антигеном, отмечался более высокий процент цитолиза лейкоцитов на этот антиген в течение всего времени наблюдения по сравнению с животными, на которых воздействовали этими же антигенами, но по отдельности.

Таблица 6

Показатель лейкоцитоза у лабораторных животных (%), $M \pm m$

Время исследования, дни	Группа животных (n=5)	Показатель лейкоцитоза, %
До воздействия	1	10,21±1,28
	2	16,82±1,69
	3	14,86±1,61
	4	14,70±2,75
30	1	57,08±5,03***
	2	49,49±6,12**
	3	34,68±6,92
	4	18,49±3,77
60	1	38,99±1,20**
	2	33,89±4,09
	3	25,81±4,89
	4	21,78±3,78
90	1	22,66±7,78
	2	18,84±7,88
	3	19,38±4,47
	4	15,42±0,99

Примечание: 1 группа – крысы, сенсibilизированные микст антигеном

(*Staphylococcus aureus* и *Streptococcus faecalis*);

2 группа – крысы, сенсibilизированные антигеном *Staphylococcus aureus*;

3 группа – крысы, сенсibilизированные антигеном *Streptococcus faecalis*;

4 группа – контроль;

** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ в сравнении с контрольной группой.

При определении чувствительности организма к микробным антигенам интактных животных (контрольная группа) статистически значимых различий по показателю лейкоцитоза в процессе наблюдения не выявлено.

2.2.3. Зависимость между гиперчувствительностью и естественной резистентностью организма

Сенсibilизация организма микробными антигенами воздушной среды отражается и на показателях естественной резистентности животных.

Результаты исследований (рис. 1) свидетельствуют о том, что к 30-му дню после сенсibilизации у всех опытных групп лабораторных крыс в 2 раза увеличена бактерицидная активность сыворотки крови ($p \leq 0,001$) по сравнению с контрольным значением. К 90-му дню только у животных первой группы различия по бактерицидной активности сыворотки крови были статистически достоверны ($p \leq 0,05$). Бактерицидная активность сыворотки крови животных контрольной группы в течение всего периода исследования также характеризовалась повышением, к 30-му дню наблюдения она составила $35,50 \pm 2,66\%$, а к 60 и 90-му дням увеличение по сравнению с фоновым значением составило на $12,0\%$ ($p \leq 0,001$).

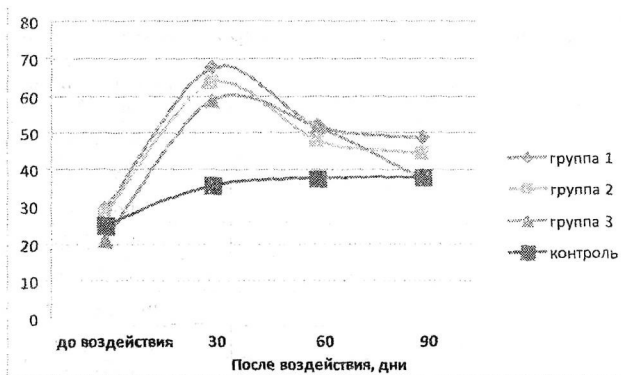


Рис. 1. Динамика изменения бактерицидной активности сыворотки крови лабораторных животных (%)

Лизоцимная активность сыворотки крови крыс опытных и контрольной групп характеризовалась колебанием значения, к 30-му дню отмечено минимальное значение показателя у всех опытных групп, тогда как к 60-му дню – максимальное для первой ($28,44 \pm 3,90\%$) и третьей ($31,92 \pm 4,09\%$) опытных и контрольной ($24,49 \pm 4,66\%$) групп. Различия значений между группами статистически недостоверно.

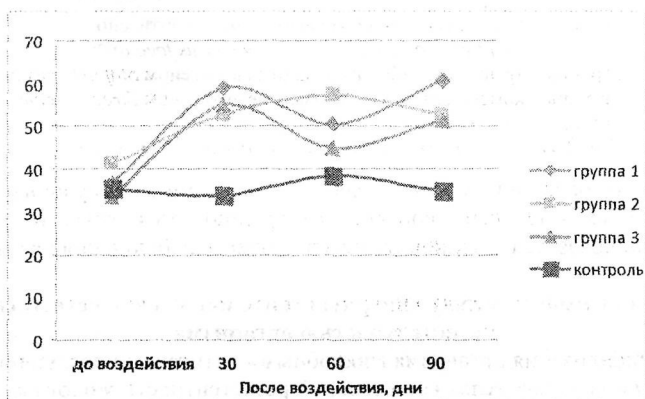


Рис. 2. Динамика изменения фагоцитарной активности нейтрофилов крови лабораторных животных (%)

Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов крови (рис. 2) у лабораторных крыс в течение времени исследования носило волнообразный характер, причем у всех групп. Достоверность различия значений опытных групп по отношению к контрольной установлена во всех периодах исследования.

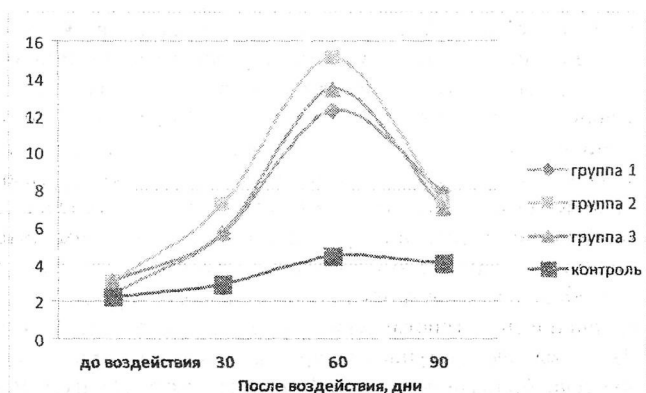


Рис. 3. Динамика изменения циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови лабораторных животных (у. е.)

Согласно полученным данным (рис. 3), средние значения концентрации ЦИК в сыворотке крови лабораторных животных всех опытных групп в течение всего времени наблюдения после антигенного воздействия имели достоверное увеличение по сравнению с контролем, а к 60-му дню отмечено максимальное их значение и превышение уровня контрольной группы животных в 2,8–3,4 раза ($p \leq 0,001$). Поскольку формирование ЦИК является обязательным компонентом нормального иммунного ответа, то данное обстоятельство, как можно предположить, с одной стороны, является свидетельством повышенной антигенной нагрузки на иммунную систему животных опытных групп, подвергшихся сенсibilизации микробными антигенами, а с другой – говорит об активации иммунокомпетентной системы.

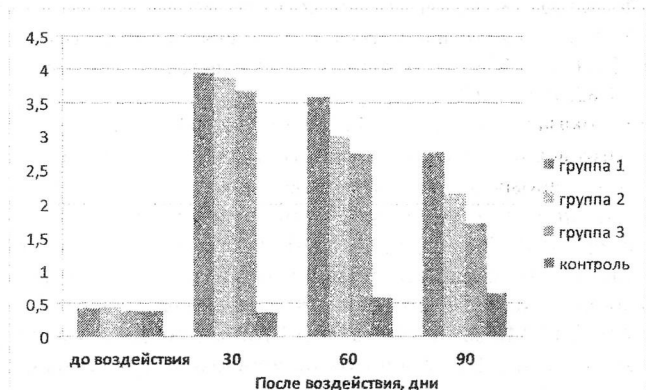


Рис. 4. Динамика изменения концентрации общего Ig E в сыворотке крови лабораторных животных (МЕ/мл)

Концентрация общего Ig E (рис. 4) в сыворотке крови крыс опытных групп на 30-й день после воздействия характеризовалась максимальным значением, так у первой группы животных она увеличилась в 11,2 раза ($p \leq 0,001$), второй – 11,1 раза ($p \leq 0,001$), третьей – 10,5 раз ($p \leq 0,001$) и в последующие дни наблюдения она имела тенденцию к снижению. Достоверность различия концентрации у опытных групп животных по сравнению с контрольной отмечалась на протяжении всего периода исследования, что свидетельствовало об активации гуморальной системы иммунитета, поскольку иммуноглобулины этого изотипа участвуют в сенсибилизации клеток слизистых оболочек, в частности носовой полости, бронхов и конъюнктивы при проникновении генетически чужеродных субстанций, в качестве которых в нашем случае выступали микробные антигены при аэрогенно индуцированной сенсибилизации (Хайтов Р.М. и др., 1995; Новиков Д.К., 2005; Воробьев А.А. и др., 2006).

Обращает на себя внимание некоторое повышение концентрации общего Ig E в сыворотке крови крыс контрольной группы в течение исследования (фоновое значение составило $0,40 \pm 0,06$ МЕ/мл, к концу наблюдения – $0,65 \pm 0,17$ МЕ/мл). Это позволяет полагать, что Ig E-ответ является постоянно функционирующей системой организма, которая активизируется в ходе индивидуального развития (Воробьев А.А. и др., 2006; Хайтов Р.М., 2006).

Значения количества эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов у лошадей, проявляющих гиперчувствительность к одному, одновременно трем микробным антигенам, и у низкочувствительных особей находились на одном уровне. Картина крови у животных с высокой чувствительностью к антигенам характеризовалась увеличением абсолютного количества базофилов, эозинофилов, юных и палочкоядерных форм нейтрофилов, лимфоцитов по сравнению с животными, показатель лейкоцитоза которых не превышал 20%. Достоверное увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов ($p \leq 0,05$) отмечено у лошадей, имеющих гиперчувствительность к одному антигену ($3,36 \pm 0,44 \times 10^9/\text{л}$) по отношению к животным с низкой чувствительностью ($1,82 \pm 0,42 \times 10^9/\text{л}$).

Анализ показателей иммунной системы лошадей (табл. 7) свидетельствовал о том, что абсолютное количество В-лимфоцитов у животных, гиперчувствительных одновременно к нескольким антигенам, больше по сравнению с животными, имеющими низкую иммунологическую реакцию на микробные антигены ($0,76 \pm 0,26 \times 10^9/\text{л}$ и $0,54 \pm 0,11 \times 10^9/\text{л}$ соответственно), в то же время функциональная оценка В-лимфоцитов (табл. 5) выявила достоверное различие в концентрации общего Ig E сыворотки крови между этими животными ($507,79 \pm 32,15$ МЕ/мл и $294,66 \pm 41,12$ МЕ/мл соответственно, $p \leq 0,01$). Количественная оценка Т-лимфоцитов не установила существенных различий между животными.

Показатели состояния иммунной системы лошадей ($M \pm m$)

Чувствительность к антигенам	В-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Т-хелперы, $\times 10^9/\text{л}$	Т-супрессоры, $\times 10^9/\text{л}$	ЦИК, у.е.
Высокая к одному	0,63 \pm 0,33	0,51 \pm 0,06	0,11 \pm 0,03	0,04 \pm 0,03	18,67 \pm 6,43
Высокая к трем	0,76 \pm 0,26	0,57 \pm 0,05	0,09 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	19,25 \pm 6,26
Низкая	0,54 \pm 0,11	0,48 \pm 0,08	0,07 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	29,78 \pm 7,70

При проведении корреляционного анализа между уровнем специфического Ig E, показателем лейкоцитоза и различными показателями естественной резистентности, белковой и лейкоцитарной картины крови, иммунного статуса лабораторных крыс и спортивных лошадей установлена различная степень корреляции.

У лабораторных крыс опытных групп наиболее тесные прямые и обратные коррелятивные связи (от выраженной до функциональной) уровня специфического Ig E и показателя лейкоцитоза установлены на 30-й день после воздействия с показателями неспецифической защиты, белковой и лейкоцитарной картины крови, иммунного статуса. Так, показатель лейкоцитоза имел положительную корреляционную связь с концентрацией Ig E ($r = + 0,909$, $p \leq 0,01$), уровнем циркулирующих иммунных комплексов ($r = + 0,795$, $p \leq 0,01$), фагоцитарной активностью нейтрофилов ($r = + 0,877$, $p \leq 0,05$), фагоцитарной интенсивностью ($r = + 0,938$, $p \leq 0,01$), фагоцитарным числом ($r = + 0,971$, $p \leq 0,01$), бактерицидной активностью сыворотки крови ($r = + 0,946$, $p \leq 0,05$), абсолютным количеством эозинофилов ($r = + 0,549$, $p \leq 0,01$) и палочкоядерных нейтрофилов крови ($r = + 0,836$, $p \leq 0,01$). Отрицательная корреляционная связь показателя лейкоцитоза установлена с количеством лейкоцитов крови ($r = - 0,946$, $p \leq 0,001$), общим белком сыворотки крови ($r = - 0,524$, $p \leq 0,05$), лизоцимной активностью сыворотки крови ($r = - 0,817$, $p \leq 0,05$), абсолютным количеством сегментоядерных нейтрофилов ($r = - 0,795$, $p \leq 0,05$), лимфоцитов ($r = - 0,873$, $p \leq 0,01$), моноцитов ($r = - 0,755$, $p \leq 0,01$), Т-лимфоцитов ($r = - 0,956$, $p \leq 0,01$), включая субпопуляцию Т-супрессоров ($r = - 0,786$, $p \leq 0,01$).

Аналогичная связь показателя лейкоцитоза установлена и у лошадей.

В то же время концентрация общего Ig E в сыворотке крови крыс опытных групп имела положительную корреляционную связь с уровнем циркулирующих иммунных комплексов ($r = + 0,917$, $p \leq 0,01$), фагоцитарной активностью нейтрофилов ($r = + 0,975$, $p \leq 0,001$), фагоцитарной интенсивностью ($r = + 0,993$, $p \leq 0,01$), фагоцитарным числом ($r = + 0,896$, $p \leq 0,01$), бактерицидной активностью сыворотки крови ($r = + 0,994$, $p \leq 0,05$), абсолютным количеством эозинофилов ($r = + 0,843$, $p \leq 0,01$) и палочкоядерных нейтрофилов крови ($r = + 0,962$, $p \leq 0,01$). Отрицательная корреляционная связь концентрации общего Ig E установлена с количеством лейкоцитов крови ($r = - 0,773$, $p \leq 0,001$), лизоцимной активностью сыворотки крови ($r = - 0,860$,

$p \leq 0,05$), абсолютным количеством сегментоядерных нейтрофилов ($r = -0,974$, $p \leq 0,01$), лимфоцитов ($r = -0,605$, $p \leq 0,05$), моноцитов ($r = -0,950$, $p \leq 0,01$), Т-лимфоцитов ($r = -0,758$, $p \leq 0,01$), включая субпопуляцию Т-супрессоров ($r = -0,786$, $p \leq 0,01$).

Аналогичная связь специфического Ig E в сыворотке крови лошадей установлена с показателями морфологического состава крови, естественной резистентности и иммунного статуса.

2.2.4. Совершенствование методики определения гиперчувствительности организма

Способ определения чувствительности животных к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности включает проведение реакции лейкоцитоллиза крови с использованием антигена, подсчет количества лейкоцитов в камере Горяева до и после инкубации и последующее определение чувствительности организма по показателю лейкоцитоллиза. При этом при постановке реакции вначале в пробы вносят раствор ацидин-пепсина, подсчет количества лейкоцитов до инкубации проводят только в контрольной пробе, а показатель лейкоцитоллиза (ПЛЦ) определяют после инкубации опытной и контрольной проб по формуле: $ПЛЦ = \frac{Л_{\text{контроль}} - Л_{\text{опыт}}}{Л_{\text{контроль}}} \times 100\%$ с последующим

вычетом процента спонтанного лейкоцитоллиза (СЛЦ) в контрольной пробе $СЛЦ = \frac{Л_{\text{к. до инкубации}} - Л_{\text{к. после инкубации}}}{Л_{\text{к. до инкубации}}} \times 100\%$, при итоговом значении

ПЛЦ до 20% чувствительности организма считают низкой, 20-40% – средней, 40% и более – высокой.

Предлагаемый способ по сравнению с прототипом и другими известными способами имеет следующие преимущества: повышена достоверность анализа за счет внесения в инкубационную среду раствора ацидин-пепсина, избирательное действие которого на поврежденные лейкоциты обеспечивает разницу при их подсчете, и учета процента спонтанного лизиса лейкоцитов в контрольной пробе индивидуально у каждого животного; позволяет повторно проводить тестирование чувствительности организма через различные интервалы времени и дифференцированно определять чувствительность животного сразу к нескольким микробным антигенам, что невозможно при постановке внутрикожной пробы; прост в исполнении, нетрудоемок, позволяет сократить время анализа по сравнению с известными; безвреден для животных и исполнителей; экономит дорогостоящие реактивы и препараты.

3. ВЫВОДЫ

1. Принцип индикации микрофлоры воздуха основан на улавливании биологического аэрозоля в емкость с улавливающей жидкостью, отделении аэрозольных частиц от газовой фазы и последующей концентрации их в улавливающей жидкости, либо на поверхности фильтра. Конструктивные особенности прибора позволяют проводить: определение общей микроб-

ной обсемененности воздушной среды путем высева улавливающей жидкости на питательную среду; концентрации микроорганизмов на фильтре и определения Коли-индекса воздуха; путем прямого счета микроорганизмов на поверхности фильтра под микроскопом.

2. Микрофлора воздушной среды закрытых помещений характеризуется выраженной изменчивостью количественного и качественного состава. Так, общая бактериальная обсемененность воздуха помещения конноспортивной школы имела максимальные показатели в зимнее время года (в утренние часы $4575,00 \pm 177,03$ КОЕ/л, вечерние – $2753,75 \pm 112,61$ КОЕ/л) и минимальные показатели в весеннее время (в утренние часы $923,03 \pm 49,81$ КОЕ/л, вечерние – $478,13 \pm 32,43$ КОЕ/л). Максимальное количество микроорганизмов в воздухе вивария отмечалось в летний период (в утренние часы $10100,00 \pm 889,42$ КОЕ/л, вечерние – $7300,00 \pm 314,53$ КОЕ/л), минимальное – в весенний (в утренние часы $6193,75 \pm 482,04$ КОЕ/л, вечерние – $3665,00 \pm 417,42$ КОЕ/л).
3. Бактериальная обсемененность воздушной среды помещений конноспортивной школы и вивария характеризовалась широким распространением и постоянной циркуляцией в воздухе условно-патогенной микрофлоры (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*), в том числе микроскопических грибов (*Penicillium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Asp. fumigatus*, *Asp. niger*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Cladosporium sp.*).
4. Для микрофлоры воздуха помещения конноспортивной школы характерно преобладание кокковых форм микроорганизмов. Так, среднегодовая доля микроорганизмов рода *Streptococcus* составила 36,5% ($728,98 \pm 67,25$ КОЕ/л), *Staphylococcus* – 31,0% ($610,69 \pm 56,84$ КОЕ/л), *Bacillus* – 20,0% ($401,94 \pm 40,08$ КОЕ/л), БГКП – 12,5% ($270,26 \pm 28,04$ КОЕ/л), микроскопических грибов рода *Penicillium* – 32,0% ($9,83 \pm 0,54$ КОЕ/л), *Aspergillus* – 28,0% ($8,47 \pm 0,58$ КОЕ/л), *Mucor* – 18,0% ($5,13 \pm 0,31$ КОЕ/л), *Rhizopus* – 12,0% ($3,26 \pm 0,24$ КОЕ/л) и *Cladosporium* – 10,0% ($2,73 \pm 0,26$ КОЕ/л). А для микрофлоры воздуха вивария характерно преобладание бактерий группы кишечной палочки, среднегодовая доля которых составила 55,0% ($1320,65 \pm 92,34$ КОЕ/л), микроорганизмов рода *Staphylococcus* – 19,0% ($452,03 \pm 39,95$ КОЕ/л), *Streptococcus* – 15,0% ($360,53 \pm 25,61$ КОЕ/л), *Bacillus* – 11,0% ($270,78 \pm 19,94$ КОЕ/л), микроскопических грибов рода *Penicillium* – 26,0% ($3,61 \pm 0,16$ КОЕ/л), *Aspergillus* – 19,0% ($2,65 \pm 0,33$ КОЕ/л), *Mucor* – 34,0% ($4,76 \pm 0,36$ КОЕ/л), *Rhizopus* – 11,0% ($1,49 \pm 0,12$ КОЕ/л) и *Cladosporium* – 10,0% ($1,40 \pm 0,15$ КОЕ/л).
5. Микрофлора воздуха, накапливающаяся в закрытом помещении, обуславливает иммунобиологическую перестройку организма животного с появлением особей, проявляющих повышенную чувствительность к антигенам микроорганизмов различных физиологических групп. Выявлены особи, проявляющие гиперчувствительность к антигенам нескольких ви-

дов микроорганизмов. Из общего числа обследованных лошадей высокую чувствительность к одному антигену (*Staphylococcus aureus*) проявляли 3 особи (21%), к двум антигенам одновременно (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) – 1 (7%), к трем и более из испытанных антигенов (*Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*) – 4 (29%). Низкую чувствительность ко всем антигенам проявляли 6 животных (43%). Среднее значение показателя лейкоцитолита у лошадей, гиперчувствительных к одному антигену, составило $44,10 \pm 3,38\%$, к двум антигенам одновременно – $45,95 \pm 0,75\%$, к трем антигенам – $46,18 \pm 0,95\%$. У животных с низкой чувствительностью ко всем антигенам показатель лейкоцитолита составил $13,50 \pm 0,97\%$.

6. Индуцированное воздействие на лабораторных крыс антигенами, полученными из основных представителей флоры воздушной среды вивария, обуславливало у них сенсibilизацию и повышенную чувствительность. Феномен повышенной чувствительности проявлялся усилением реакции лейкоцитолита, увеличением уровня общего Ig E и циркулирующих иммунных комплексов.
7. У крыс, сенсibilизированных антигенами микроорганизмов различной таксономической принадлежности, и лошадей установлена высокая положительная корреляционная связь показателя лейкоцитолита с концентрацией Ig E, причем коррелятивные связи показателя лейкоцитолита и специфического Ig E с показателями естественной резистентности, белковой и лейкоцитарной картины крови, иммунного статуса идентичны, что подтверждает отрицательную роль сенсibilизации микробными антигенами воздушной среды на иммунобиологический статус организма животных и возможность использования реакции лейкоцитолита для диагностики повышенной иммунологической реактивности организма (гиперчувствительности).
8. Способ определения чувствительности животных к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности включает постановку реакции лейкоцитолита крови с использованием антигена, подсчет количества лейкоцитов в камере Горяева до и после инкубации и последующее определение чувствительности организма по показателю лейкоцитолита, причем при постановке реакции вначале в пробы вносят раствор ацидин-пепсина, подсчет количества лейкоцитов до инкубации проводят только в контрольной пробе, а показатель лейкоцитолита (ПЛЦ) определяют после инкубации опытной и контрольной проб по формуле:
$$\text{ПЛЦ} = \frac{\text{Л}_{\text{контроль}} - \text{Л}_{\text{опыт}}}{\text{Л}_{\text{контроль}}} \times 100\%$$
 с последующим вычетом процента спонтанного лейкоцитолита (СЛЦ) в контрольной пробе
$$\text{СЛЦ} = \frac{\text{Л}_{\text{к. до инкубации}} - \text{Л}_{\text{к. после инкубации}}}{\text{Л}_{\text{к. до инкубации}}} \times 100\%$$
, при итоговом значении ПЛЦ до 20% чувствительность организма считают низкой, 20-40% – средней, 40% и более – высокой.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Прибор для улавливания микроорганизмов (Пат. 37097 РФ, МПК⁷ С 12 N 1/00 / А.Ф. Дмитриев, В.Ю. Морозов, Ю.В. Краснощекова).
2. Способ определения чувствительности лошадей к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности (Решение Роспатента № 2008139718/15(051324) от 05.10.2009 о выдаче патента на изобретение по заявке от 06.10.2008 / А.Ф. Дмитриев, Ю.В. Краснощекова, В.Ю. Морозов).
3. Разработанные нами прибор для улавливания микроорганизмов и способ определения чувствительности животных к микробным антигенам могут использоваться при изучении бактериальной обсемененности воздушной среды животноводческих помещений и определении чувствительности животных к антигенам микроорганизмов различных физиологических групп.

5. СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Дмитриев, А. Ф. Прибор для улавливания микроорганизмов: информ. листок № 63-026-04 / А. Ф. Дмитриев, В. Ю. Морозов, Ю. В. Краснощекова / ЦНТИ. – Ставрополь, 2004. – 3 с.
2. Краснощекова, Ю. В. Совершенствование методики определения микробной обсемененности воздуха в животноводческих помещениях // Ю. В. Краснощекова, А. Ф. Дмитриев // Доклады Московского общества испытателей природы : материалы IV Междунар. науч. конф. «Биотехнология – охране окружающей среды», посвящ. 295-летию М. В. Ломоносова (Москва, 18–20 ноября 2006 г.) / МГУ. – М.: Графикон, 2006. – Т. 39. – С. 227–228.
3. Дмитриев, А. Ф. Контроль бактериальной обсемененности воздуха животноводческих помещений / А. Ф. Дмитриев, В. Ю. Морозов, Ю. В. Краснощекова // Био. – 2006. – № 11. – С. 15–16.
4. Краснощекова, Ю. В. Способы определения чувствительности организма к антигенам / Ю. В. Краснощекова // Состояние, перспективы, стратегия развития и научного обеспечения овцеводства и козоводства Российской Федерации : материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Ставрополь, 23–25 мая 2007 г.) / РАСХН ГНУ СНИИЖК. – Ставрополь, 2007. – Ч. 3. – С. 72–76.
5. Краснощекова, Ю. В. Определение повышенной чувствительности организма к антигенам биологического аэрозоля / Ю. В. Краснощекова, А. Ф. Дмитриев // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных : материалы 71-й науч. конф. (Ставрополь, 17–19 апреля 2007 г.) / СтГАУ. – Ставрополь : Агрус, 2007. – С. 37–40.
6. Краснощекова, Ю. В. Бактериальная обсемененность воздушной среды помещения конноспортивной школы / Ю. В. Краснощекова, А. Ф. Дмитриев // Ветеринария Кубани. – 2008. – № 6. – С. 26–28.
7. Краснощекова, Ю. В. Методика определения чувствительности организма животного к микробным антигенам / Ю. В. Краснощекова, А. Ф. Дмитриев // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития : материалы IX Всерос. науч.-практ. конф. (Саратов, 12 марта 2009 г.) / СГАУ. – Саратов : ИЦ Наука, 2009. – С. 235–239.

8. Краснощекова, Ю. В. Гиперчувствительность спортивных лошадей к микробным антигенам воздушной среды / Ю. В. Краснощекова // Тр. XVII Московского Международного Ветеринарного Конгресса (Москва, 25–27 апреля 2009 г.). – М, 2009. – С. 355–358.
9. Краснощекова, Ю. В. Чувствительность животных к микробным антигенам / Ю. В. Краснощекова, А. Ф. Дмитриев // Вет. медицина. – 2009. – № 1–2. – С. 29–30.
10. Краснощекова, Ю. В. Функциональная значимость биологического аэрозоля в индукции гиперчувствительности организма животных / Ю. В. Краснощекова, А. Ф. Дмитриев // Вет. медицина. – 2009. – № 3. – С. 24–27.
11. Пат. 37097 Российская Федерация, МПК⁷ С 12 N 1/00. Прибор для улавливания микроорганизмов / А. Ф. Дмитриев, В. Ю. Морозов, Ю. В. Краснощекова; заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО Ставропольский гос. аграр. ун-т. – № 2003134772/20; заявл. 01.12.03; опубл. 10.04.04, Бюл. № 10 (IV ч). – С. 690.
12. Решение Роспатента № 2008139718/15(051324) от 05.10.2009 о выдаче патента на изобретение «Способ определения чувствительности лошадей к антигенам микроорганизмов различной таксономической принадлежности» по заявке от 06.10.2008 / А. Ф. Дмитриев, Ю. В. Краснощекова, В. Ю. Морозов.

Формат 60x84 1/16
Бумага офсетная

Подписано в печать 18.11.2009
Усл.печ.л. 1,34
Тираж 120 экз.

Уч.-изд.л. 1,32
Заказ 389

Отпечатано в Издательско-полиграфическом комплексе
Ставропольского государственного университета.
355009, Ставрополь, ул.Пушкина, 1.