

В.А. Чхенкели<sup>1</sup>, А.В. Анисимова<sup>1</sup>, Е.Д. Романова<sup>1</sup>, А.Е. Калинович, М.В. Промтов<sup>2</sup>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА ТРАМЕТИН ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САЛЬМОНЕЛЛЕЗЕ У ЛАБОРАТОРНЫХ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

<sup>1</sup> Иркутская государственная сельскохозяйственная академия (Иркутск)

<sup>2</sup> Иркутский областной клинический консультативно-диагностический центр (Иркутск)

Как при экспериментальном сальмонеллёзе у мышей, так и в производственных условиях у сельскохозяйственных животных (поросят) ветеринарный препарат траметин обладает высокой профилактической эффективностью, о чем свидетельствуют как клиническое наблюдение за животными, так и данные лабораторных исследований. При введении препарата в оптимальной дозе при моделировании темного стресса наблюдали увеличение привесов. Лабораторные исследования показали повышение содержания белка в сыворотке крови, повышение содержания фосфора и кальция, увеличение гемоглобина и эритроцитов. Фагоцитарная активность крови поросят в группе, которая получала траметин, увеличивалась на 25 % по отношению к контролю.

**Ключевые слова:** экспериментальный сальмонеллёз, траметин, моделирование, грибы-ксилотрофы

## EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE EFFICIENCY OF THE TRAMETIN AT EXPERIMENTAL SALMONELLOSIS OF LABORATORY AND AGRICULTURAL ANIMALS

V.A. Chkhenkeli<sup>1</sup>, A.V. Anisimova<sup>1</sup>, E.D. Romanova<sup>1</sup>, A.Ye. Kalinovich, M.V. Promtov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk State Agricultural Academy, Irkutsk

<sup>2</sup> Irkutsk Regional Clinical Consultative Diagnostic Centre, Irkutsk

Both clinical observation of animals and data of laboratory researches testify to the fact that veterinary medicine Trametin has high prophylactic efficacy at experimental salmonellosis in mice and in on-the-farm conditions in pigs. At the introduction of the medicine in an optimal dose while modelling dark stress we observed an increase in weight gains. The results of laboratory studies showed an increase in the protein content in blood serum, an increase in the content of phosphorus and calcium, an increase in hemoglobin and red blood cells. Phagocytic activity of piglets' blood in the group that received Trametin increased by 25 % in comparison with control values.

**Key words:** experimental salmonellosis, Trametin, modelling, xylotrophe fungi

В настоящее время во всех странах мира наблюдается активизация условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). Бактерии данной группы характеризуются выраженной неоднородностью, являясь, с одной стороны, представителями транзитной нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, а с другой – возбудителями инфекционных заболеваний. В связи с этим проблемой инфекций, обусловленных УПМ, особенно представителями семейства *Enterobacteriaceae*, уделяется пристальное внимание [1]. Эпидемиологическая ситуация в России за последние годы характеризуется сохранением высокого уровня заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) [1, 4]. Следует отметить, что в целом проблема инфекционной патологии выходит далеко за рамки только проблем здравоохранения. Она напрямую связана с загрязнением патогенными микроорганизмами окружающей среды [4], пищевых продуктов и здоровья продуктивных животных. Доля ОКИ, вызванных условно-патогенными энтеробактериями, у людей в общей структуре ОКИ установленной этиологии, по данным разных авторов, варьирует от 12,8–21,2 % до 34,1 % [1]. Одно из ведущих мест среди кишечных инфекций бактериальной этиологии занимает сальмонеллез. До сих пор сальмонеллез является мировой проблемой. Лидирующий зооноз по пищевым инфекциям у людей широко распространен во многих странах, особенно с развитым животновод-

ством [8]. Всего известно более 2300 серовариантов [8, 9], из которых более 700 выделено от человека [9]. Большинство сальмонелл патогенны как для человека, так и для животных и птиц, но в эпидемиологическом отношении наиболее значимы для человека лишь несколько серотипов, которые обуславливают 85,0–91,0 % сальмонеллезов во всем мире. Клетки сальмонелл способны длительно сохранять жизнеспособность во внешней среде: воде, почве, мясе, молоке, кефире, тушках птиц, сливочном масле, сыре. Источником возбудителя инфекции, попадающего во внешнюю среду, являются сальмонеллоносители – больные и переболевшие животные. Источником инфекции могут быть и люди – больные и бактерионосители. Однако их роль в распространении сальмонеллеза меньше, чем роль сельскохозяйственных животных и птиц [8]. По данным лабораторного мониторинга за 2008–2013 гг., наиболее распространенными видами сальмонелл в Иркутской области, выделенными от патологического материала животных, являются *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium* [3, 11]. При ветеринарно-санитарном исследовании пищевых продуктов из говядины, свинины, мяса птицы, мясopодуlктов различной категории, выделены следующие виды сальмонелл: *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium*, а также встречались *S. lagos*, *S. mendoza*, *S. paratyphi*, *S. bradford* и другие [2].

Зачастую нерациональное использование антибактериальных средств способствует выработке резистентности к ним возбудителей и изменению антигенных свойств бактерий [1, 10]. При этом массовое распространение антибиотикорезистентных штаммов в популяциях условно-патогенных микроорганизмов стало важной проблемой в связи с их более высокими адаптационными возможностями, по сравнению с возбудителями классических инфекций [1].

В Иркутском филиале Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии был разработан комплексный препарат траметин, получаемый на основе гриба-ксилотрофа рода *Trametes*, применяемый для лечения и профилактики желудочно-кишечных болезней сельскохозяйственных животных и включающий в себя компоненты, способные оказывать не только антимикробное действие на возбудителей семейства *Enterobacteriaceae*, но и иммуностимулирующий эффект. В более ранних работах показано, что препарат содержит биологически активные вещества (БАВ) различной природы. Так, тритерпены подавляют биосинтез пептидогликанов клеточной стенки бактерий, а хинолоны ингибируют биосинтез белка и РНК [12]. Установлено, что гриб *T. pubescens* оказывает антимикробное действие на бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, полностью подавляя рост референтных и клинических штаммов родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter* [5].

**Цель работы:** изучение профилактической эффективности препарата траметин при экспериментальном сальмонеллёзе у лабораторных животных и в производственных условиях у поросят.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований является новый ветеринарный препарат траметин, получаемый на основе гриба *Trametespubescens* (Shumach.: Fr.) Pilat., штамм 0663 методом жидкофазной ферментации с последующей лиофилизацией [5].

Экспериментальные исследования выполнялись в лаборатории биотехнологии и болезней молодняка ИФ ГНУ ИЭВС и ДВ Россельхозакадемии.

Антимикробную активность траметина *in vivo* изучали на белых нелинейных мышах из вивария НИИ медицины труда и экологии человека Ангарского филиала Восточно-Сибирского научного центра экологии человека при моделировании сальмонеллезной инфекции на базе вивария кафедры анатомии, физиологии и микробиологии Иркутской государственной сельскохозяйственной академии. Экспериментальный сальмонеллез моделировали на 48 белых нелинейных мышах. При заражении вводили внутривентриально 0,5 мл бактериальной суспензии патогенного штамма *Salmonella enteritidis* ТИ, выделенного и идентифицированного в бак. отделе ФГБУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория» (ИМВЛ) в дозе 1 млрд микробных тел на голову. Траметин задавали мышам через 3 сут. после заражения. Препарат вводили перорально в дозах 150, 250, 300 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали тримеразин в дозе 300 мг/кг, согласно

инструкции по применению. 1 г тримеразина содержит 0,1 г сульфамеразина и 0,02 г триметоприма.

При моделировании экспериментального сальмонеллеза мыши были разделены на 6 групп по 8 особей: 1-я группа – контрольная, интактная; 2-я группа – контрольная, зараженная; 3-я группа – введение траметина в дозе 150 мг/кг в течение 7 сут.; 4-я группа – введение траметина в дозе 250 мг/кг в течение 7 сут.; 5-я группа – введение траметина в дозе 300 мг/кг в течение 7 сут.; 6-я группа – введение препарата тримеразин в дозе 300 мг/кг в течение 7 сут. За животными вели наблюдение, отмечали клиническую картину и фиксировали число погибших животных через 2 и 7 сут. после начала введения препаратов.

Изучение микрофлоры кишечника мышей проводили с использованием стандартных микробиологических методов выделения и учета микроорганизмов и микробиологических сред российского производства (НИЦФ, Санкт-Петербург, Махачкала, Оболонск).

Профилактическую эффективность препарата в сравнительном аспекте с препаратом иммунофлор в производственных условиях проводили на сельскохозяйственных животных на базе свинофермы п. Оек ООО «Академия».

У 2-месячных поросят помеси ландраса с крупной белой моделировали темновой стресс (10 % уровня производственной освещенности). На группу в течение эксперимента (10 дней) давали по 18 г траметина и по 10 г иммунофлора.

Поросят делили на 3 группы по принципу аналогов по 10 особей в каждой: 1-я группа – интактные животные; 2-я группа – животные, в качестве сравнения получавшие перорально иммунофлор; 3-я группа – животные, получавшие в течение всего подопытного периода траметин. Перед и после окончания опыта животных взвешивали, забирали кровь для определения биохимических, иммунологических и гематологических показателей.

Кровь забирали из ушной вены. Биохимические показатели исследовали на базе лаборатории ИМВЛ. Для исследований использовали общепринятые методы исследования [6]. Гематологические показатели исследовали на базе лаборатории Иркутской городской ветеринарной поликлиники с использованием ветеринарного автоматического гематологического анализатора VetAbc (Франция). Иммунологические показатели крови исследовали на базе ОГАУЗ «Иркутский областной клинический консультативно-диагностический центр» в соответствии с общепринятыми рекомендациями [7].

Статистическую обработку результатов экспериментов и оценку достоверности проводили по критерию Стьюдента для уровня вероятности не менее 95 % с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При моделировании экспериментального сальмонеллеза в ходе проведения эксперимента отмечали падеж животных во второй группе: на 3-й день после заражения пало 4 мыши, на 4-й день – еще 2 мыши.

При вскрытии животных обнаружили воспаление кишечника, множественные внутренние кровоизлияния, дистрофию печени, увеличение селезенки. У мышей 3-й и 6-й групп при вскрытии отмечали увеличение печени и селезенки.

Анализ динамики кишечного микробиоценоза при использовании траметина и тримеразина свидетельствует о том, что при использовании траметина в дозах от 150 до 300 мг/кг (от 2 до 7 сут.) грубых изменений нормальной микрофлоры (молочнокислых бактерий, бифидобактерий, *B. subtilis*) не происходит, количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП) сокращается на 11,5–22,5 %, сальмонелл – на 98,5–100,0 %.

При использовании тримеразина в дозе 3 г/кг (от 2 до 7 сут.) количественно изменяется вся микрофлора: сокращается как количество нормальной микрофлоры, так и патогенных бактерий, возрастает количество дрожжей и грибов.

При профилактическом использовании препаратов траметин и иммунофлор на свиньях наблюдали повышение привесов, по сравнению с группой контроля. Так, после применения препаратов в течение 10 дней в контрольной группе привесы составили в среднем 350–400 г в сутки, в группе с препаратом траметин – 600–650 г (на 17,6 % выше контроля) в сутки, в группе с препаратом иммунофлор – 550–600 г в сутки (на 15,4 % выше контроля). Сохранность поголовья поросят при этом составила в группах 2 и 3 – 100,0 %, в группе 1 – 80,0 %.

Наблюдали изменение биохимических, гематологических, иммунологических показателей крови поросят. Так, по результатам биохимических исследований сыворотки крови содержание белка увеличилось на 16,0 % у животных в группе 3, в группе 2 изменение белка не превышало контроль, содержание фосфора в сыворотке крови в опытных группах превышало содержание элементов на 32,0 и 28,0 % соответственно, содержание кальция увеличилось на 20,0 % в обеих подопытных группах. По результатам гематологических исследований наблюдали незначительное уменьшение содержания лейкоцитов, при этом содержание эритроцитов увеличилось на 6,6 % в группе 3, содержание гемоглобина увеличилось на 9,4 и 7,7 % в группах 3 и 2 соответственно. При иммунологических исследованиях крови были получены следующие результаты: фагоцитарная активность крови поросят в группе 3 увеличилась на 20,5 %, в группе 2 – на 20,7 % по отношению к контролю. Наблюдали повышение фагоцитарного индекса на 28,0 и 22,0 %, фагоцитарного числа на – 43,0 и 39,0 % соответственно.

Установлено, что как при экспериментальном сальмонеллёзе у мышей, так и в производственных условиях у сельскохозяйственных животных (поросят) ветеринарный препарат траметин обладает высокой профилактической эффективностью, о чем свидетельствуют как клинические наблюдения за животными, так и результаты гематологических, биохимических, иммунологических и бактериологических исследований. В производственных условиях при введении препарат в оптимальной дозе (18 г на

10 животных) при моделировании темного стресса наблюдали увеличение привесов на 600–650 г выше контроля. По результатам лабораторных исследований отмечали повышение содержание белка на 16,0 % в сыворотке крови, повышение содержание фосфора и кальция на 32,0 и 20,0 % соответственно, увеличение гемоглобина на 9,4 %, эритроцитов – на 6,6 %. Фагоцитарная активность крови поросят в группе поросят, которая получала траметин, увеличивалась на 25,0 % по отношению к контролю.

#### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Аганова Е.В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Иркутск, 2012. – 46 с.

Anganova E.V. Opportunistic enterobacteria: dominant populations, biological properties, medico-ecological significance: abstract of dissertation of Doctor of Biological Sciences. – Irkutsk, 2012. – 46 p. (in Russian)

2. Анисимова А.В., Чхенкели В.А., Дзюба Н.Ф. К вопросу мониторинга ветеринарно-санитарных исследований пищевых продуктов на сальмонеллез // Матер. междунаrod. Науч.-практ. конф. «Климат, экология, сельское хозяйство Евразии», 28–30 мая 2013. – Иркутск, 2013. – С. 339–341.

Anisimova A.V., Chkhenkeli V.A., Dzyuba N.F. To the problem of monitoring of veterinary-sanitary salmonellosis examination of nutrition products // Mater. mezh-dunarod. Nauch.-prakt. konf. «Klimat, jekologija, sel'skoe hozjajstvo Evrazii» (28–30 May 2013). – Irkutsk, 2013. – P. 339–341. (in Russian)

3. Анисимова А.В., Чхенкели В.А., Дзюба Н.Ф. Эпизоотологический мониторинг по сальмонеллезу крупного рогатого скота и птицы в Иркутской области // Журнал инфекционной патологии – 2014. – Т. 21, № 1-2. – С. 20–22.

Anisimova A.V., Chkhenkeli V.A., Dzyuba N.F. Epizootic monitoring of salmonellosis in cattle and fowl in Irkutsk Region // Zhurnal infekcionnoj patologii – 2014. – Vol. 21, N 1–2. – P. 20–22. (in Russian)

4. Астафьев В.А. Заболеваемость острыми кишечными инфекциями и биологическое загрязнение окружающей среды в Сибири: автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Иркутск, 2007. – 39 с.

Astafjev V.A. Acute enteric infection morbidity and biological pollution in Siberia: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Irkutsk, 2007. – 39 p. (in Russian)

5. Калинович А.Е. Эколого-биологическое обоснование применения лечебно-профилактического ветеринарного препарата на основе гриба-ксилотрофа *Trametes pubescens* (Shumach.:Fr.) Pilat в отношении энтерогеморрагической кишечной палочки: дис. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 2013. – 161 с.

Kalinovich A.E. Ecological-biological grounding of using medical and preventive veterinary drug associated with xylotrrophe fungi *Trametes pubescens* (Shumach.: Fr.) Pilat against enterohemorrhagic *Escherichia coli*: dissertation of Candidate of Biological Sciences. – Irkutsk, 2013. – 161 p. (in Russian)

6. Методические указания по применению унифицированных и биохимических методов исследования крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. – М.: МСХ СССР, 1981. – 42 с.

Guidelines on the using unitized and biochemical methods of blood, urine and milk analysis in veterinary laboratories. – Moscow, 1981. – 42 p. (in Russian)

7. Петров Р.В., Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. и др. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях // Иммунология. – 1992. – № 6. – С. 51–56.

Petrov R.V., Khaitov R.M., Pinegin B.V. et al. Assessment of human immune status at screening programs // Immunologija. – 1992. – N 6. – P. 51–56. (in Russian)

8. Свириденко Г.М. Основной критерий безопасности молока-сырья – здоровье животных (сальмонеллез) // Молочная промышленность. – 2009. – № 2. – С. 44–46.

Sviridenko G.M. Basic criterion of safety of raw milk is animals' health (salmonellosis) // Molochnaja promyshlennost'. – 2009. – N 2. – P. 44–46. (in Russian)

9. Хурай Р.Я., Марченко Т.В., Глотова Е.В. Сальмонеллез // Ветеринария Кубани. – 2012. – Вып. 3. – С. 23–24.

Khurai R.Ya., Marchenko T.V., Glotova E.V. Salmonellosis // Veterinarija Kubani. – 2012. – Vol. 3. – P. 23–24. (in Russian)

10. Чхенкели В.А. Препараты последнего поколения на основе грибов-ксилотрофов рода *Trametes*:

обнаруженные эффекты, механизмы действия и применение: Монография. – М.: Перо, 2014. – 255 с.

Chkhenkeli V.A. Latest-generation preparations based on the *Trametes xylostroma* fungi: found effects, mechanisms of action and using. – Moscow: Pero, 2014. – 255 p. (in Russian)

11. Чхенкели В.А., Анисимова А.В., Мельцов И.В. Ретроспективный анализ по желудочно-кишечным заболеваниям сельскохозяйственных животных в Иркутской области // Матер. III международной науч.-практ. конф. «Климат, экология, сельское хозяйство Евразии», посв. 80-летию образования ИРГСХА, 27–29 мая 2014. – Иркутск, 2014. – Ч. 2. – С. 218–226.

Chkhenkeli V.A., Anisimova A.V., Meltsov I.V. Retrospective analysis on the gastrointestinal diseases of farm animals in Irkutsk region // Mater. III mezhdunarodnoj nauch.-prakt. konf. «Klimat, jekologija, sel'skoe hozjajstvo Evrazii», posv. 80-letiju obrazovanija IrGSHA (27–29 May 2014). – Irkutsk, 2014. – Part 2. – P. 218–226. (in Russian)

12. Chkhenkeli V.A., Likhoshvay E.V., Malova T.N., Kalinovich A.E. et al. On the question of studying of the mechanism of antimicrobial action of veterinary preparation Trametin // VII International Research-to-Practice Conference «European Science and Technology» (23–24 April 2014). – Munich, Germany, 2014. – Vol. 1. – P. 19–27.

#### Сведения об авторах

**Чхенкели Вера Александровна** – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии, физиологии и микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины Иркутской государственной сельскохозяйственной академии (664007, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 59; e-mail: chkhenkeli@rambler.ru)

**Анисимова Анна Валерьевна** – аспирант кафедры анатомии, физиологии и микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины Иркутской государственной сельскохозяйственной академии (e-mail: azuka87@mail.ru)

**Романова Екатерина Дмитриевна** – аспирант кафедры анатомии, физиологии и микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины Иркутской государственной сельскохозяйственной академии (e-mail: ekaterina\_from\_siberia@mail.ru)

**Калинович Арсений Евгеньевич** – кандидат биологических наук (e-mail: allever@mail.ru)

**Промтов Максим Владимирович** – заведующий лабораторией иммунологии, врачебной клинической лабораторной диагностики Иркутского областного клинического консультативно-диагностического центра (e-mail: promtov@dc.baikal.ru)

#### Information about the authors

**Chkhenkeli Vera Aleksandrovna** – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of the Faculty of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (664007, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 59; e-mail: chkhenkeli@rambler.ru)

**Anisimova Anna Valerjevna** – Postgraduate of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of the Faculty of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (e-mail: azuka87@mail.ru)

**Romanova Ekaterina Dmitrijevna** – Postgraduate of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of the Faculty of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (e-mail: ekaterina\_from\_siberia@mail.ru)

**Kalinovich Arseniy Yevgenyevich** – Candidate of Biological Sciences (e-mail: allever@mail.ru)

**Promtov Maksim Vladimirovich** – Head of the Laboratory of Immunology, Medical Clinical Laboratory Diagnostics of Irkutsk Regional Clinical Consultative Diagnostic Centre (e-mail: promtov@dc.baikal.ru)