

СПОСОБ ЭКСПРЕСС КРИОКОНСЕРВАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТЕЙЛЕРИОЗА (*THEILERIA ANNULATA*) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА.

Гойибназаров К.Х.

докторант, Узбекский научно-исследовательский институт ветеринарии

Гафуров А.Г.

научный руководитель, доктор ветеринарных наук, профессор, Узбекский
научно-исследовательский институт ветеринарии

E-mail: nivi@vetgov.us

Аннотация: Разработан технологии способа экспресс-криоконсервации возбудителя тейлериоза крупного рогатого скота-*Theileria annulata*. При сравнительном изучении криогенизирующей способности экспресс-криоконсервации возбудителя тейлериоза крупного рогатого скота- *Theileria annulata* установлено, что криогенизирующей особенност иданного способа превосходит эффективности прототипа.

Ключевые слова. Криогенизация, кровь, тейлериоз, возбудитель, *Theileria annulata* , крупный рогатый скот, экспресс способ.

Annotation: Protozooses, vectors, fauna, theileriosis, pevenention, drugs, mites, piroplasmidoses, morphology and biology of pathogens-*Theileria annulata*. In a comparative study of the cryogenizing ability of express cryopreservation of the causative agent of theileriosis in cattle *Theileria annulata* it was foun the cryogenizing capacity of this method exceeds the efficiency of the prototype.

Keywords: Cryogenization, blood, theileriosis, pathogen, *Theileria annulata* cattle, express way.

Введение

Проблема длительного хранения возбудителя тейлериоза приобретает особое значение, так её решение позволяет иметь запас возбудителей болезни с определённой биологической характеристикой. Наиболее оптимальные условия для сохранения жизнеспособности возбудителей достигаются при их криоконсервации в жидком азоте (-196°C). Запас возбудителей используются для проведение экспериментальных исследований, создании коллекции штаммов, приготовление различных диагностических и вакцинных материалов.

Тейлериоз-протозойное кровепаразитарное заболевание крупного рогатого скота, буйвалов, зебу. Возбудители относится к семейству Theileridae наиболее распространённый вид передаются от больных или переболевших животных к здоровым пастбищными клещами. Возбудители Theileridae имеют овальную, грушевидную, круглую и др формы, локализуются внутри эритроцитов, размножаются путём деление ядер и почкованием. Тейлериоз наиболее опасное заболевание крупного рогатого скота. Она наносит большой

экономический ущерб животноводству нашей страны. Экономический ущерб исходит из того, до 90% больные животные погибают, а переболевшие животные теряют продуктивности.

Материал и методы исследований.

В настоящее проблема длительного хранения возбудителя тейлериоза-*Theileria annulata* приобретает особое значение, так как её решение позволяет иметь запас возбудителей болезни с определённой биологической характеристикой. Наиболее оптимальные условия для сохранения жизнеспособности возбудителей достигается при их криоконсервации в жидком азоте (-196°C)¹.

Известен способ криоконсервации *Piroplasma bigeminum*, в котором использовали 20% раствор глицерина в 50 мл крови, которую использовали для глубокого замораживания. Затем 50 мл инвазированной кровью смещали содержимое. Таким образом, получили смесь, содержащую 10% глицерина. Затем материал разливали в 5 мл ампулы и оставили при комнатной температуры на 30 минут для проникновения глицерина внутрь клеток.

Замораживания до температуры -70°C проводили медленно, используя смесь этилового спирта и сухого льда, в низкотемпературном холодильнике в течение 1 часа замораживая в среднем по одному градусу. После достижения указанной температуры материал перенесли в сосуд Дьюара, заполненный жидким азотом-196°C этот способ выбран в качестве наиболее близкого аналога, при котором была необходимо дорогостоящие реактивы и оборудования, присутствовало трудоёмкость, затраты времени и низкая эффективность.

Результаты исследования

Решаемой задачей являются повышение эффективности способа криоконсервации возбудителя тейлериоза-*Theileria annulata* путём криоконсервации, сокращение времени замораживания и удешевление способа путём не использования реактивов и дорогостоящего оборудования.

Решаемая задача достигалась тем, что способе экспресс криоконсервации возбудителя болезни крупного рогатого скота –*Theileria annulata* включающего смешивание в качестве протектора одного желтка куриного яйца с 50 мл инвазированной крови и 50 мл сывороткой крупного рогатого скота. Полученную смесь разливают в 20 мл флаконы выдерживают при температуре 20-25°C в течение 20 минут затем перемещают её на низкотемпературном холодильнике при температуре -70°C. При таких условиях биологическая активность возбудителя сохраняются в течении одного года (срок наблюдения).

Предлагаемый способ отличается от наиболее близкого аналога тем, что, во первых предлагаемом способе используют смесь состоящую из желтка куриного яйца, сыворотку крупного рогатого скота из неинвазированной крови полученной от клинически здорового животного, а затем равный объём инвазированной крови полученной от больного тейлериозом крупного рогатого скота –*Theileria annulata*.

Сущность заключается в том, что предлагаемый способ включает себе экспресс-криоконсервацию возбудителя тейлериоза-*Theileria annulata*. Для криоконсервации возбудителя-*Theileria annulata* берутся из расчета 50 мл крови

взятая от клинически здорового животного и смещиваются желтком от одного куриного яйца. В дальнейшем это масса смещивается с равным объёмом с инвазированной кровью взятой от больного бабезиозом животного. После чего в течении 20 минут для того, чтобы криозащитное вещество (желток куриное яйцо) проникло в клетки и наиболее прочно связало воду внутри и вне их. Механизм защитного действия криозащитного вещества основан главным образом на его способности создавать прочные связи с молекулами воды, более прочно чем связи молекул воды, что препятствуют формированию правильной кристаллической решётки льда и замедляет рост кристаллов.

Причинно-следственная связь между совокупностью признаков и достигаемым техническим результатом заключается в том, что способ включает экспресс криоконсервацию возбудителя тейлериоза *Theileria annulata*, при этом не используются дорогостоящие реактивы и оборудование, не тратится много времени и труда при получении высокого результата. Берутся сыворотка крупного рогатого скота от клинически здорового животного смещивается желтком куриного яйца из расчёта на 50 мл сыворотки один желток хорошо смещивали, затем добавляли равным объёмом инвазированной крови-*Theileria annulata*. Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре в течении 20 минут, для того, чтобы криозащитное вещество проникало в клетки и наиболее связывало внутри и вне их, препятствовало формированию правильной кристаллической решетки льда и замедляло рост кристаллов льда.

Кроме того, способ является дешёвым, безвредным, экологически чистым, при введении животным не токсичным, исключает рецидивы и осложнение.

Следовательно, брали смесь состоящую в качестве криопротектора сыворотки из неинвазированной крови крупного рогатого скота из расчёта 50 мл и одного желтка куриного яйца, смещивали тщательно, а затем полученную смесь смещивали с равным объёмом инвазированной возбудителям тейлериоза-*Theileria annulata* крови, выдерживали при температуре 20-25 °С в течении 20 минут. Разливали по флаконам и криогенизировали в низкотемпературном холодильнике при температуре -70 °С.

Для заражения крупного рогатого скота независимо от возраста и веса криогенный материал растворяли в водяной ванне при температуре 38-40 градусов и вводили подкожно в дозе 20 мл.

Экспериментальный опыт проводили в 2020 году в виварии научно-исследовательского института ветеринарии на клинически здоровых животных.

Взяли смесь, состоящую из криопротектора, в качестве которого использовали одного желтка куриного яйца на 50 мл сыворотки крови крупного рогатого скота полученной от клинически здорового животного затем полученную смесь смещали равным объёмом инвазированной кровью *Theileria annulata* и выдерживали при температуре 20 °С в течении 20 минут, после этого её разливали в пенициллиновые флаконы, затем сразу же криогенизировали их на низкотемпературном холодильнике при температуре -70 °С.

Через 12 месяцев после криоконсервации криогенный материал растворяли в водяной ванне при температуре 40 °С и опыты проводили на трёх группах под опытных животных, в каждой по 3 животных.

Первую группу животных заражали взятой кровью от остро больного бабезиозом при паразитарной реакции 5-6 % поражённости эритроцитов крови *Theileria annulata* в дозе по 20 мл., подкожно.

Вторую группу животных заразили криогенной кровью, приготовленной по прототипу, в дозе по 20 мл., подкожно.

Третью группу животных заразили криогенной кровью, приготовленной по нашему способу.

В результате клинических и микроскопических исследований установили, что животные 1-группы заболели через 15 дней, 2-группы через 17 дней, а 3-группы через 16 дней после заражения.

Результаты проведённых опытов по эффективности криогенного материала приведены в табл.-1.

Таблица-1

**Опыты по изучению экспресс-криоконсервации возбудителя тейлериоза-
*Theileria annulata***

Группа животных	Кол-во жив-х	Способ заражения	Клинические признаки болезни и паразитемия в крови	Инкубационный период, дни
1	3	Взятой кровью от больного бабезиозом животного	На 15 день после заражения появились клинические признаки бабезиоза и паразитемия в крови	15
2	3	Криогенным материалом, приготовленным по аналогу	На 17 день после заражения появились клинические признаки бабезиоза и паразитемия в крови.	17
3	3	Криогенным материалом, приготовленным по предложенному способу	На 16 день после заражения появились клинические признаки бабезиоза и паразитемия в крови	16

Следовательно, при заражении криогенным материалом, приготовленным по предлагаемому способу инкубационный период болезни был меньше на 2 дня, т.е. его инвазионные свойства хорошо сохранились при криоконсервации по предложенному способу, чем в прототипе.

Выводы

Эффективность известного способа (прототипа) была намного ниже, чем предлагаемом способе, тогда как при заражении подопытных животных криоматериалом приготовленным по способу прототипа инкубационный период болезни был на 1 день выше, чем в предлагаемом способе. Предлагаемый способ который производился на местном сырье оказался доступным, дешевым и высокоэффективным.

Список использованной литературы:

1. Заблоцкий В.Т. Опыты по криогенизации *Piroplasma bigeminum*
//Бюллетень Всесоюзного ордена Ленина института экспериментальной
ветеринарии. М.1974,-с.50-52.

2. Степанова Н.И., Заблоцкий В.Т., Мутузкина З.П.
/Иммунопрофилактика тейлериоза крупного рогатого скота
/ж.Ветеринарии1987-№3.-с.69-70.