

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-36472 от 3 июня 2009 г. Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК Министерства образования и науки РФ

## ОГЛАВЛЕНИЕ

### Главный редактор

**Чуваев И. В.**,  
канд. биол. наук  
e-mail: virclin@mail.ru

### Технический редактор

**Волхонская М. В.**  
e-mail: invetbio@yandex.ru

### Редакционный совет

**Алиев А. А.**,  
проф., докт. вет. наук

**Андреева Н. Л.**,  
проф., докт. биол. наук

**Белова Л. М.**,  
проф., докт. биол. наук

**Васильев Д. Б.**,  
докт. вет. наук

**Воронин В. Н.**,  
проф., докт. биол. наук

**Кудряшов А. А.**,  
проф., докт. вет. наук

**Панин А. Н.**,  
проф., докт. вет. наук,  
акад. РАСХН

**Прудников В. С.**,  
проф., докт. вет. наук,

**Сулейманов С. М.**,  
проф., докт. вет. наук,  
заслуж. деятель науки РФ

**Шустрова М. В.**,  
проф., докт. вет. наук

**Яшин А. В.**,  
проф., докт. вет. наук

По вопросам размещения  
рекламы обращайтесь  
к Марии Волхонской  
по тел. (812) 232-55-92,  
8 (921) 095-89-27,  
e-mail: invetbio@yandex.ru

Заявки на подписку (с любого  
месяца) направляйте в редакцию  
по факсу: (812) 232-55-92;  
e-mail: invetbio@yandex.ru.  
Телефон отдела подписки:  
(812) 232-55-92

Журнал основан в 2009 г.  
Учредитель и издатель:  
НОУ ДО «Институт  
Ветеринарной Биологии»

### НАШИ УЧИТЕЛЯ

**Белова Л. М.**

Ушла из жизни Маргарита Викторовна Шустрова

3

### ФИЗИОЛОГИЯ

**Завалишина С. Ю.**

Онтогенетическая динамика противосвертывания и фибринолиза  
у телят при смене способов питания

6

### БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

**Нагиев Э. Р., Дадашев М. Н., Чудинов А. Н., Нагиева С. Э.,  
Исмаилова Ф. Э., Сейфаддинова М. С.**

Обмен макроэргических фосфатов при критических состояниях  
организма

12

### ИММУНОЛОГИЯ

**Смоленцев С. Ю.**

Профилактика приобретенного иммунодефицита у телят  
применением лечебно-профилактического иммуноглобулина

19

### ВИРУСОЛОГИЯ

**Червякова О. В., Тайлакова Э. Т., Садикалиева С. О.,  
Зайцев В. Л., Сандыбаев Н. Т.**

Использование ионообменной хроматографии для очистки вируса  
гриппа NIBRG-121xp (H1N1)

23

**Ажибаев А. Ж., Кошметов Ж. К., Мамадалиев С. М.,  
Нурабаев С. Ш., Бурабаев А. А., Абдураимов Е. О., Жугунисов К. Д.**  
Приготовление культурального антигена вируса блютанга  
для непрямого варианта иммуноферментного анализа

28

**Пузанкова О. С., Гаврилова В. Л., Шевцов А. А.,  
Баборенко Е. П., Кондакова Ж. С.**

Выявление специфических антител к вирусу РРСС с помощью РМН

35

### СОБЫТИЯ

43

### ИНФОРМАЦИЯ

50

### Издательство Института Ветеринарной Биологии

Адрес редакции/издателя: Санкт-Петербург, ул. Чапаева, д. 16а. Тел. (812) 232-55-92, тел./факс (812) 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Сайт: www.invetbio.spb.ru  
Адрес для писем: 196657, Санкт-Петербург, Колпино-7, а/я 36. Подписано в печать 06.03.2011. Дата выхода: 20.03.2011. Отпечатано в типографии ООО «Агентство ИНФО ОЛ»: 197101, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, д. 1. Тираж 1000 экз. Свободная цена. Подписной индекс 33184 в ОАО «Агентство Роспечать».

Ответственность за достоверность представленных в статьях данных несут авторы. Все рекламируемые товары и услуги имеют соответствующие сертификаты.

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.

© Институт Ветеринарной Биологии, Санкт-Петербург, 2011

The journal is registered by Federal Service for Supervision in the Sphere of Communications, Information Technologies and Mass Communications. The certificate on registration of mass media ПИ № ФС77-36472 of June 3, 2009. The journal is included in the list of the leading peer-reviewed journals and publications of State Commission for Academic Degrees and Titles of the RF Ministry of Education and Science

## CONTENTS

### Editor-in-Chief

**Chuvaev I. V.,**  
Philosophy Doctor  
e-mail: virclin@mail.ru

### Technical Editor

**Volkhonskaya M. V.**  
e-mail: invetbio@yandex.ru

### Editorial Board

**Aliev A.A.,**  
Doctor of Science, Professor

**Andreeva N. L.,**  
Doctor of Science, Professor

**Belova L. M.,**  
Doctor of Science, Professor

**Kudryashov A.A.,**  
Doctor of Science, Professor

**Panin A.N.,**  
Doctor of Science, Professor,  
Member of RAAS

**Prudnikov V. S.,**  
Doctor of Science, Professor

**Shustrova M. V.,**  
Doctor of Science, Professor

**Suleymanov S. M.,**  
Doctor of Science, Professor  
Honoured Worker of Science  
of the Russian Federation

**Vasilyev D. B.,**  
Doctor of Science

**Voronin V. N.,**  
Doctor of Science, Professor

**Yashin A. V.,**  
Doctor of Science, Professor

On the matters of advertisement  
please contact  
Maria Volkhonskaya  
by tel. +7 (812) 232-55-92,  
e-mail: invetbio@yandex.ru

Subscription requests should be  
sent to the editorial office by fax  
+7 (812) 232-55-92 or e-mail:  
invetbio@yandex.ru.  
Information tel. +7 (812) 232-55-92

**The journal is based in 2009**  
Founder and Publisher: Institute of  
Veterinary Biology, Non-Commercial  
Educational Institution of Further  
Education

### OUR TEACHERS

**Belova L. M.**

Shustrova Margarita V. Passed Away

3

### PHYSIOLOGY

**Zavalishina S. Y.**

Ontogenetic Dynamics of Anticoagulation and Fibrinolysis at Calves  
When the Method of Feeding is Being Changed

6

### BIOLOGICAL CHEMISTRY

**Nagiev E. R., Dadashev M. N., Chudinov A. N., Nagieva S. E.,  
Ismailova F. E., Seyfaddinova M. S.**

Metabolism of High-Energy Phosphates Under Critical Conditions  
of Organism

12

### IMMUNOLOGY

**Smolentsev S. Y.**

Prevention of Secondary Immunodeficiency at Calves by Application  
of Therapeutic Immunoglobulin

19

### VIROLOGY

**Chervyakova O. V., Tailakova E. T., Sadikaliyeva S. O.,  
Zaitsev V. L., Sandybayev N. T.**

Using of Ion Exchange Chromatography for Influenza Virus NIBRG-121xp  
(H1N1) Purification

23

**Azhibayev A. Zh., Koshemetov Zh. K., Mamadaliyev S. M.,  
Nurabayev S. Sh., Burabayev A. A., Abduraimov E. O., Zhugunisov K. D.**  
Bluetongue Viral Cultural Antigen Preparation For Indirect Enzyme-Linked  
Immunosorbent Assay

28

**Puzankova O. S., Gavrilova V. L., Shevtsov A. A.,  
Baborenko Y. P., Kondakova Zh. S.**

Detection of Specific Antibodies against PRRS Virus Using  
Microneutralization Test

35

### EVENTS

43

### INFORMATION

50

### Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: St.-Petersburg, Chapaeva st., 16a. Phone: +7 (812) 232-55-92, phone/fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru  
Mail address: 196657, Saint-Petersburg, Kolpino-7, mailbox 36. Signed for press on 06.03.2011. Issue date: 20.03.2011. Printed at printing house "Agency INFO OL":  
197101, Saint-Petersburg, Rentgena st., 1. Circ. 1000 pc. Free price. The subscription index in Rospechat Agency catalogue: 33184.

The responsibility for reliability of the data presented in the articles is born by authors. Goods and services advertised in this magazine are properly certified.

Editorial staff is not responsible for the content of any advertisements.

© Institute of Veterinary Biology, Saint-Petersburg, 2011

Белова Л. М.

## УШЛА ИЗ ЖИЗНИ МАРГАРИТА ВИКТОРОВНА ШУСТРОВА *SHUSTROVA MARGARITA V. PASSED AWAY*

ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5

*Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine*

*Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya street, 5*

Белова Лариса Михайловна, д.б.н., проф. каф. паразитологии им. В. Л. Якимова

*Belova Larisa M., Doctor of Biology Science, Professor of the Dept. of Parasitology n.a. V. L. Yakimov*



14 августа 2010 года после тяжелой и продолжительной болезни ушла из жизни Маргарита Викторовна Шустрова – крупнейший паразитолог

России, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующая кафедрой паразитологии им. В. Л. Якимова ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины». Ушла из жизни на пике научно-педагогической и общественной деятельности, и нам, ее сотрудникам, ученикам, друзьям и соратникам до сих пор не верится, что Маргариты Викторовны с нами больше нет. Она только-только достигла всего, о чем мечтала, но смерть перечеркнула ее замыслы и стремления.

М. В. Шустрову отличали глубокая преданность науке, творческая энергия, завидная работоспособность. Она была Ученым милостью божьей. Ее учебники и статьи по различным паразитологическим проблемам вызывали и вызывают неиссякаемый интерес как у нас в стране, так и за рубежом.

Вся ее жизнь, яркая и насыщенная, была связана с кафедрой. После окончания школы в Ленинграде в 1974 году она поступила в Ленинградский ветеринарный институт лаборантом кафедры паразитологии и с этого времени не покидала ее до самого конца. Именно с этого времени сформировалась непреходящая любовь всей ее жизни – к ее кафедре. Она часто нам говорила, что кафедра – это ее дом. Я помню последний день пребывания на кафедре Маргариты Викторовны. Она ходила по кабинетам, нежно прикасалась рукой к стенам, показывая мне, что вот этот гвоздь она вбила сама, трогала корешки книг, нюхала специфический запах

кафедры, я видела слезы на ее глазах и понимала, что она прощается с «делом всей ее жизни» – кафедрой.

М. В. Шустрова окончила аспирантуру при Ленинградском ветеринарном институте и в 1990 защитила кандидатскую диссертацию на тему «Биологические особенности клещей *Otodectes cynotis* и меры борьбы с отодектозом пушных зверей». Через шесть лет была защищена докторская диссертация на тему: «Чесоточные болезни и демодекозы животных разных видов (эпизоотология, этиология, патогенез, разработка системы мероприятий по профилактике и ликвидации этих заболеваний в условиях Северо-Западного региона)» по двум специальностям: 16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология и иммунология и 03.00.19 – паразитология. Звание профессора получила в 2000 году. За 10 лет из молодого кандидата наук сформировался специалист высочайшего класса. Маргари-



Занятия со студентами

та Викторовна в эти годы совмещала работу ученого секретаря диссертационного совета и профессора кафедры, оказывала консультативную и диагностическую помощь ветеринарным специалистам животноводческих, звероводческих и птицеводческих хозяйств Ленинградской области и помогала внедрять в производство новые разработки сотрудников кафедры паразитологии.

С апреля 2000 года Маргарита Викторовна становится заведующей кафедрой паразитологии и лидером ветеринарной паразитологии в Северо-Западном регионе России. Ее профессиональные знания и доброжелательное отношение помогли наладить плодотворное сотрудничество с учеными ведущих вузов и НИИ страны: Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, Всероссийского института гельминтологии им. К. И. Скрябина (Москва), Всероссийского института экспериментальной ветеринарии, Всероссийского государственного центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Зоологического института РАН, Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства, Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Института цитологии РАН (Санкт-Петербург), Нижегородского научно-исследовательского ветеринарного института и государственной сельскохозяйственной



Помощь производству, 2000 год



С коллегами. Слева направо: Бацанов Н. П., Мамитова Д., Урбан В. П., Стекольников А. А., Шустрова М. В., Чапкевич О. Б.



С коллегами, 2000 год. Слева направо (нижний ряд): Урбан В. П., Шустрова М. В., Сочнев В. В.



Со студентами во двореке академии, 2002 год.  
Надпись на обороте: «Уважаемой и любимой Маргарите Викторовне на память от студентов 15 группы 5 курса».

академии, Воронежского государственного аграрного университета, Ставропольской государственной сельскохозяйственной академии, ВНИИВЭА (г. Тюмень), Академии аграрных наук (Белоруссия); ООО «Дезинфекционист» (Москва); Научно-внедренческого центра «Агроветзащита» (Москва) и многими другими.

Основные труды Маргариты Викторовны Шустровой – по морфофункциональной организации паразитических членистоногих. Ею теоретически обоснованы и внедрены в практику рациональные схемы лечебно-профилактических мероприятий против опаснейших возбудителей саркоптоидозов

сельскохозяйственных и домашних животных и птиц, а также предложены эффективные формы применения инсектоакарицидных препаратов против клещей и насекомых, паразитирующих на животных и человеке. Маргарита Викторовна Шустрова получила авторское свидетельство, патенты, свидетельство на модель и устройство для лечения и профилактики саркоптоидозов и демодекозов животных, свидетельство на полезную модель – противопаразитарный ошейник; она была автором разработки рецептуры препарата Марасасд, на который оформлена техническая документация. Шустрова М. В. участвовала в разработке и дальнейшем внедрении в производство шести наставлений, трех инструкций, двух технических условий по применению лекарственных препаратов при лечении животных, инвазированных различными эктопаразитами, опубликовала более 90 научных работ.

Большой вклад был сделан Маргаритой Викторовной в организацию науки и подготовку научных кадров. М. В. Шустровой создан отряд высококвалифицированных специалистов, подготовлено два доктора и семь кандидатов наук. Она была членом диссертационных советов в Санкт-Петербургской государственной академии и Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии и неоднократно участвовала в работе Государственной аттестационной комиссии в качестве председателя.

Ее успехи в профессиональной деятельности были высоко оценены Ассоциацией практикующих ветеринарных врачей – она стала лауреатом международной ветеринарной премии «Золотой скальпель», а долго-

летнее и преданное служение делу жизни послужило основанием для награждения медалью «300-летие Санкт-Петербурга».

Маргарита Викторовна была разносторонне одаренным человеком: прекрасно рисовала, сочиняла стихи, любила слушать музыку. Живо интересовалась политикой, была принципиальна и объективна в оценке реалий нашей жизни. Отличительными чертами Маргариты Викторовны были целеустремленность, демократичность, чуткость и внимательность к людям. Она пользовалась заслуженным авторитетом и большим уважением со стороны всех, кто ее знал, работал и общался с ней. Друзья любили ее и ценили ее человеческие качества: жизнерадостность, гостеприимность, умение очень вкусно готовить, ее неиссякаемый юмор...

Она оставила о себе добрую память. Смерть Маргариты стала тяжелой утратой для нашей паразитологической науки, для всех тех, кому посчастливилось знать ее лично, для тех, кто слушал ее замечательные лекции, читал ее многочисленные труды, и чьи надежды познакомиться с новыми результатами ее исследований оказались разрушенными. В памяти друзей, учеников, студентов и коллег – всех, кто имел честь ее знать, она останется сильным принципиальным человеком, неизменно внимательным к своим ученикам и коллегам, добрым и отзывчивым другом. Нет сомнения, что имя М. В. Шустровой останется в сердцах знавших ее людей, в памяти многочисленных студентов, учеников и на страницах журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии», в котором она была членом редакционного совета с момента его основания.

УДК [616-005.1-08:331.1]:615.22

Ключевые слова: фаза молозивного питания, фаза молочного питания, фаза молочно-растительного питания, противосвертывающая система крови, фибринолиз, телята, перекисное окисление липидов

*Key words: phase of a colostrum feed, phase of a dairy feed, phase of a dairy-vegetative feed, anticoagulative system of blood, fibrinolysis, calves, lipid peroxidation*

**Завалишина С. Ю.**

## **ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА ПРОТИВОСВЕРТЫВАНИЯ И ФИБРИНОЛИЗА У ТЕЛЯТ ПРИ СМЕНЕ СПОСОБОВ ПИТАНИЯ** *ONTOGENETIC DYNAMICS OF ANTICOAGULATION AND FIBRINOLYSIS AT CALVES WHEN THE METHOD OF FEEDING IS BEING CHANGED*

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ  
Адрес: 305029, г. Курск, ул. Карла Маркса, 53  
*Kursk Institute of Social Education (branch of) Russian State Social University  
Address: 305029, Kursk, Karla Marksa street, 53*

Завалишина Светлана Юрьевна, к.б.н., ст. преподаватель каф. медико-биологических дисциплин, адаптивной физической культуры и спорта  
*Zavalishina Svetlana Y., Ph.D. in Biology Science, Senior Teacher of the Dept. of Medical and Biologic Disciplines, Adaptive Physical Training and Sports*

**Аннотация.** У здоровых телят в раннем онтогенезе имеет место нарастание функциональной активности противосвертывания и фибринолиза. Это ведет к поддержанию на оптимальном уровне жидкостных свойств крови, ее реологических свойств, обеспечивая необходимый уровень доставки кислорода к тканям. Онтогенетическая динамика систем противосвертывания и фибринолиза крови при переходе с одного вида питания на другой позволяет теленку адаптироваться к существующим условиям существования на ранних этапах развития.

**Summary.** *The increase of functional activity of anticoagulation and fibrinolysis takes place at healthy calves in early ontogenesis. It conducts to maintenance of liquid properties of blood, its rheological properties at the optimum level, providing the necessary level of oxygen delivery to fabrics. Ontogenetic dynamics of blood anticoagulative system and fibrinolysis when the method of feeding is being changed allows calves to adapt to existence conditions at the early stages of development.*

### **Введение**

Закономерное онтогенетическое изменение активности противосвертывающей и фибринолитической систем плазмы крови на начальных этапах индивидуального развития телят является одним из важнейших физиологических элементов обеспечения гомеостаза в постнатальном периоде. Необходимый уровень функциональной активности противосвертывающей и фибринолитической систем во многом обеспечивает адаптацию к внешней среде всех систем организма, контролируя жидкостные свойства крови, поддерживая уровень ее текучести по сосудам, способствуя оптимальному разветвлению генетической программы развития теленка. При этом онтогенетическая динамика активности противосвертывающей и фибринолитической систем у здоровых телят при закономерной смене питания в течение раннего онтогенеза изучена недостаточно.

В этой связи сформулирована цель исследования: оценить онтогенетическую динамику физиологического состояния противосвертывающей и фибринолитической систем плазмы крови у здоровых телят в фазу новорожденности, молочного и молочно-растительного питания.

### **Материалы и методы**

В исследование включены 29 физиологически зрелых, здоровых новорожденных телят на 1–2 сутки жизни, 32 здоровых теленка молочного питания на 11-е сутки жизни, 36 здоровых телят молочно-растительного питания, взятые на 31-е сутки жизни, чернопестрой и сементальской породы с нормальными показателями лабораторных и инструментальных исследований и в последующем не имевших отклонений в состоянии здоровья. Комплекс обследований состоял из определения активности перекис-

ного окисления липидов плазмы (ПОЛ) по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) [3] и ТБК-активных продуктов набором фирмы ООО «Агат-Мед» с оценкой антиокислительной активности (АОА) жидкой части крови [2]. У каждого взятого под наблюдение теленка оценивалась активность противосвертывающей системы плазмы крови путем определения активности антитромбина III (АТ III) и протеина С в плазме [1].

Для выяснения активности фибринолитической способности плазмы крови у телят использован метод определения времени спонтанного эуглобулинового лизиса, уровня пламиногена,  $\alpha_2$ -антипламина и содержания продуктов деградации фибрина фенантролиновым методом [1].

Включенные в исследование телята осматривались и обследовались за фазу молозивного питания: на 1–2, 3–4, 5–6, 7–8 и 9–10 сутки. Наблюдаемые телята молочного питания обследовались: на 11, 15, 20, 25 и 30 сутки жизни. Учитываемые показатели у здоровых телят молочного-растительного питания определялись: на 31, 45, 60, 75 и 90 сутки жизни.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием t-критерия Стьюдента [4].

### Результаты исследования

В течение фазы новорожденности у здоровых телят обнаружено постоянство активности ПОЛ плазмы (табл. 1). При этом концентрация ТБК-активных продуктов и уровень АГП в плазме их крови не испытывали достоверной динамики в течение всей фазы новорожденности. Стабильность ПОЛ обеспечивалась постоянством у телят в течение фазы молозивного питания уровня антиоксидантной защиты организма – антиокислительный потенциал плазмы у них в среднем составлял за новорожденность  $33,7 \pm 0,14$  %. На протяжении фазы молочного питания у здоровых телят отмечалась стабильность уровня АОА плазмы (в среднем  $32,6 \pm 0,21$  %) и активности пероксидации липидов крови. Так, уровень первичных продуктов ПОЛ–АГП составлял с среднем  $1,48 \pm 0,02$   $D_{233}/мл$  при невысоком содержании вторичных продуктов сво-

боднорадикального окисления липидов – ТБК-активных соединений (в среднем  $3,29 \pm 0,02$   $мкмоль/л$ ), достоверно не отличаясь от исследования к исследованию в течение всей фазы молочного питания. В фазу молочно-растительного питания у здоровых телят к 45 суткам жизни регистрировалось ослабление уровня АОА плазмы до  $27,4 \pm 0,15$  % с последующим его повышением до  $33,9 \pm 0,24$  % к 90 суткам жизни. Это обусловило выявленную динамику уровня первичных продуктов ПОЛ–АГП: к 45 суткам был отмечен его пик ( $1,80 \pm 0,14$   $D_{233}/мл$ ) при последующем понижении ( $1,41 \pm 0,11$   $D_{233}/мл$ ) до значений ниже, чем в начале фазы. Это сопровождалось аналогичной динамикой содержания вторичных продуктов свободнорадикального окисления липидов – ТБК-активных соединений (на 45 сутки  $3,77 \pm 0,16$ , на 90 сутки  $3,45 \pm 0,19$   $мкмоль/л$ ), возвращаясь к значениям, характерным для ТБК-продуктов в начале фазы молочно-растительного питания.

Таким образом, у здоровых новорожденных телят отмечается стабильность антиоксидантного потенциала, что обеспечивает постоянство уровня ПОЛ в жидкой части крови, способствуя поддержанию у них гомеостаза, стабилизируя структуры сосудов, наружные мембраны форменных элементов крови, обеспечивая оптимальный уровень функционирования белков плазмы крови, в том числе участвующих в свертывании и фибринолизе.

В крови здоровых новорожденных телят установлена легкая тенденция к повышению уровня антитромбина III, составляющего в среднем  $99,3 \pm 0,16$  %. В то же время уровень протеина С достоверно нарастал у телят в течение первых 10 суток жизни с  $50,1 \pm 0,24$  до  $75,2 \pm 0,16$  % (табл. 2).

На протяжении фазы новорожденности у здоровых телят отмечена небольшая тенденция уровня пламиногена к повышению с достоверным снижением ингибитора его активной формы –  $\alpha_2$ -антипламина на  $27,5$  %, что обеспечивало тенденцию к замедлению времени спонтанного эуглобулинового лизиса, уровень продуктов деградации фибрина в течение фазы молозивного питания имел

Таблица 1.

Динамика показателей ПОЛ плазмы крови у здоровых телят при смене способов питания

Параметры	Фаза новорожденности, n=29, M±m									Фаза молочного питания, n=32, M±m									Фаза молочно-растительного питания, n=36, M±m												
	1-2 сут. жизни	3-4 сут. жизни	5-6 сут. жизни	7-8 сут. жизни	9-10 сут. жизни	11 сут. жизни	15 сут. жизни	20 сут. жизни	25 сут. жизни	30 сут. жизни	31 сут. жизни	45 сут. жизни	60 сут. жизни	75 сут. жизни	90 сут. жизни	1-2 сут. жизни	3-4 сут. жизни	5-6 сут. жизни	7-8 сут. жизни	9-10 сут. жизни	11 сут. жизни	15 сут. жизни	20 сут. жизни	25 сут. жизни	30 сут. жизни	31 сут. жизни	45 сут. жизни	60 сут. жизни	75 сут. жизни	90 сут. жизни	
АГП плазмы, Д <sub>233</sub> /1 мл	1,49±0,10	1,43±0,16	1,46±0,05	1,42±0,09	1,44±0,12	1,46±0,07	1,51±0,19	1,52±0,14	1,51±0,18	1,53±0,20	1,54±0,08	1,80±0,14, p < 0,01	1,66±0,12, p < 0,01	1,42±0,15, p < 0,01	1,41±0,11	3,49±0,11	3,40±0,17	3,49±0,14	3,45±0,08	3,47±0,11	3,51±0,14	3,56±0,19	3,50±0,22	3,52±0,14	3,55±0,16	3,59±0,22	3,77±0,16, p < 0,01	3,67±0,14, p < 0,01	3,51±0,23, p < 0,01	3,45±0,19	
ТБК-продукты, мкмоль/л	34,2±0,16	33,4±0,12	33,6±0,16	33,8±0,20	33,5±0,09	32,8±0,23	32,6±0,24	32,2±0,15	32,6±0,17	32,8±0,15	29,3±0,17	27,4±0,15, p < 0,05	30,6±0,14, p < 0,01	32,8±0,12, p < 0,01	33,9±0,24																
Антиоксидантный потенциал плазмы, %																															

Условные обозначения: p – достоверность динамики показателей от исследования к исследованию. В последующей таблице обозначения сходные.

Таблица 2.

Динамика антикоагуляционной и фибринолитической активности крови у здоровых телят при смене способов питания

Параметры	Фаза новорожденности, n=29, M±m									Фаза молочного питания, n=32, M±m									Фаза молочно-растительного питания, n=36, M±m										
	1-2 сут. жизни	3-4 сут. жизни	5-6 сут. жизни	7-8 сут. жизни	9-10 сут. жизни	11 сут. жизни	15 сут. жизни	20 сут. жизни	25 сут. жизни	30 сут. жизни	31 сут. жизни	45 сут. жизни	60 сут. жизни	75 сут. жизни	90 сут. жизни	1-2 сут. жизни	3-4 сут. жизни	5-6 сут. жизни	7-8 сут. жизни	9-10 сут. жизни	11 сут. жизни	15 сут. жизни	20 сут. жизни	25 сут. жизни	30 сут. жизни	31 сут. жизни	45 сут. жизни	60 сут. жизни	75 сут. жизни
Активность АТ-III в плазме, %	96,2±0,11	98,9±0,22	99,6±0,16	99,9±0,15	102,1±0,19	101,7±0,07	103,6±0,14, p < 0,05	105,4±0,12, p < 0,05	106,9±0,10, p < 0,05	108,2±0,16, p < 0,05	109,1±0,04	122,7±0,20, p < 0,01	114,6±0,06, p < 0,01	116,8±0,08, p < 0,05	119,9±0,10, p < 0,05														
Протеин С, %	50,1±0,24	58,7±0,28, p < 0,01	66,3±0,22, p < 0,01	71,3±0,21, p < 0,01	75,2±0,16, p < 0,01	76,0±0,10	78,2±0,76, p < 0,05	79,4±0,04, p < 0,05	81,6±0,06, p < 0,05	83,5±0,08, p < 0,05	84,0±0,12	98,0±0,10, p < 0,01	87,3±0,16, p < 0,01	89,5±0,04, p < 0,05	93,6±0,03, p < 0,05														
Время спонтанного эулобулинового лизиса, мин.	186,3±0,52	183,6±0,38	181,6±0,49	179,6±0,46	178,9±0,42	178,2±0,34	175,4±0,15, p < 0,05	173,0±0,22, p < 0,05	172,0±0,18	170,3±0,15, p < 0,05	170,0±0,26	152,3±0,10, p < 0,01	167,7±0,14, p < 0,01	165,0±0,13, p < 0,05	162,1±0,09, p < 0,05														
Плазминоген, %	115,2±0,17	116,2±0,36	116,3±0,34	118,3±0,24	120,1±0,45	122,0±0,05	123,8±0,08, p < 0,05	124,6±0,06, p < 0,05	126,0±0,05, p < 0,05	128,6±0,10, p < 0,05	128,9±0,02	138,8±0,07, p < 0,01	130,2±0,09, p < 0,01	132,6±0,08, p < 0,05	134,5±0,08, p < 0,05														
α <sub>2</sub> -антиплазмин, %	130,4±0,32	117,4±0,30, p < 0,01	112,1±0,20, p < 0,05	109,0±0,36, p < 0,05	102,3±0,28, p < 0,05	101,3±0,19	100,0±0,14	98,7±0,06, p < 0,05	97,3±0,05, p < 0,05	96,4±0,09, p < 0,05	96,1±0,15	80,4±0,17, p < 0,01	93,6±0,05, p < 0,01	90,4±0,08, p < 0,05	89,0±0,03, p < 0,05														
Продукты деградации фибрина, мкг/мл	33,9±0,21	36,3±0,17	38,5±0,18	38,6±0,29	39,5±0,34	40,2±0,25	41,3±0,19	41,9±0,20	42,2±0,09	42,8±0,16	42,9±0,16	55,8±0,25, p < 0,01	44,8±0,29, p < 0,01	43,1±0,18	44,0±0,12														



тенденцию к нарастанию и являлся маркером оптимальной адаптации организма к внешней среде за счет поддержания активности фибринолиза на необходимом уровне.

В крови здоровых телят молочного питания установлено небольшое, но достоверное повышение уровня антитромбина III, составляющего в среднем  $105,2 \pm 0,13$  %. Одновременно с этим отмечалось достоверное нарастание в течение фазы молочного питания уровня протеина С у телят между 11 и 30 сутками жизни с  $76,0 \pm 0,10$  до  $83,5 \pm 0,08$  %. В течение фазы молочного питания у здоровых телят отмечено достоверное повышение уровня пламиногена при достоверном снижении ингибитора его активной формы –  $\alpha_2$ -антиплазмина на 5,1 %. Это обеспечивало небольшое, но неуклонное замедление времени спонтанного эуглобулинового лизиса при постоянстве уровня продуктов деградации фибрина в течение фазы молочного питания.

У обследованных здоровых телят молочного-растительного питания установлено достоверное повышение в крови уровня антитромбина III к 45 суткам жизни до  $122,7 \pm 0,20$  %. Одновременно с этим отмечался пик активности уровня протеина С –  $98,0 \pm 0,08$  %. К 60 суткам жизни активность антикоагулянтов снижалась, испытывая в последующем небольшое достоверное нарастание.

На протяжении фазы молочного-растительного питания у здоровых телят отмечена аналогичная динамика уровня пламиногена при выраженном снижении ингибитора его активной формы –  $\alpha_2$ -антиплазмина на 5,1 % к 45 суткам жизни с последующим их восстановлением и плавной динамикой их активности. Это обеспечивало резкое ускорение в первые 45 суток жизни с последующим возвращением к значениям, близким к исходным, и пик в этом возрасте, а в последующем – постоянный уровень продуктов деградации фибрина в течение фазы молочного-растительного питания.

Таким образом, в ходе смены способов питания в раннем онтогенезе у телят отмечается закономерная динамика, связанная с постепенным достоверным повышением в плазме уровня АТ III пламини-

ногена, активности протеина С и снижении  $\alpha_2$ -антиплазмина со скачком их активности к 45 суткам с последующим восстановлением на уровне, близком к значениям в начале фазы молочного-растительного питания, что, несомненно, является важным элементом адаптации животных к новым условиям питания, способствуя переходу их гемостаза на уровень, требующийся для дальнейшего роста и развития организма.

### Обсуждение

В исследовании установлено, что в течение фазы новорожденности у здоровых телят активность антиоксидантного потенциала плазмы и уровни первичных продуктов ПОЛ–АГП и вторичных – ТБК-активных соединений стабильны, что, видимо, необходимо у данного вида продуктивных животных для становления антистрессорных механизмов его гомеостаза на данном этапе развития. Невысокий уровень ПОЛ плазмы обуславливает слабую альтерацию эндотелиоцитов и компонентов жидкой части крови, способствуя слабой стимуляции плазменного гемостаза.

Весьма значимыми в антикоагуляционном потенциале у здоровых новорожденных телят являются активность АТ III, пламиногена и протеина С, обеспечивающие равновесие антикоагулянтов и прокоагулянтов. Подтверждением этого может служить отсутствие у здорового новорожденного признаков тромбозов и геморрагий, во многом благодаря активному фибринолизу и достаточно высокой активности противосвертывания, которые позволяют организму теленка адекватно реагировать на неблагоприятные факторы внешней среды, имеющие, как правило, прокоагулянтное действие на гемостаз.

У телят в фазу молочного питания отмечено отсутствие достоверных колебаний уровня ПОЛ и антиоксидантной защиты плазмы крови при определенной динамике активности противосвертывания и фибринолиза, что, несомненно, позволяет адаптироваться организму теленка к условиям внеутробного существования, обеспечивая нормальное реологическое состояние крови и тем самым адекватный приток питательных веществ

и кислорода к развивающимся тканям организма животного. Это является важным элементом защиты телят против возможных неблагоприятных факторов внешней среды, влияющих на их организм в фазу молочного питания. В течение фазы молочного питания достоверно меняется активность ингибиторов коагуляции и уровень фибринолитиков: возрастает АТ-III, протеин С и плазминоген и понижается активность ингибитора фибринолиза –  $\alpha_2$ -антиплазмина. Очевидно, это является физиологической реакцией приспособления организма, нуждающегося по завершению фазы новорожденности в повышении активности фибринолиза. Ввиду того что общий ингибитор контактной активации плазменных протеаз плазминоген постепенно нарастает при сохранении в крови уровня продуктов деградации фибрина, можно думать об оптимальности функционирования механизмов адаптации гемостаза в данных условиях без признаков гипокоагуляционной направленности гемостаза в эти сроки, обеспечивая оптимальные условия микроциркуляции при гемодинамической адаптации в фазу молочного питания.

Достоверное усиление уровня ПОЛ с ослаблением антиоксидантной защиты плазмы крови в начале фазы молочно-растительного питания при выраженном повышении активности противосвертывания и фибринолиза позволяет адаптироваться организму теленка к новым условиям питания, обеспечивая нормальное реологическое состояние крови и тем самым адекватный приток питательных веществ и кислорода к растущим тканям организма животного. Несомненно, это является важным элементом реакции организма телят при начале питания растительными кормами, что можно рассматривать как сильный раздражитель внешней среды, влияющий на их организм в начале фазы молочно-растительного питания и к которому быстро развивается адаптация у теленка, что, видимо, эволюционно выработано. Динамика системы противосвертывания, контролирующей агрегатное состояние крови и системы фибринолиза, растворяющей излишки фибрина, во многом обеспечивается динамикой ПОЛ, обеспечивая их адекватную готовность

к реагированию на факторы внешней среды. Так, в течение фазы молочно-растительного питания достоверно меняется активность ингибиторов коагуляции и уровень фибринолитиков: возрастает АТ-III, протеин С и плазминоген и понижается активность ингибитора фибринолиза –  $\alpha_2$ -антиплазмина с резким скачком к 45 суткам и последующим плавным изменением. Очевидно, это является физиологической реакцией приспособления организма при переходе на растительное питание при повышении активности противосвертывания и фибринолиза. Ввиду того, что небольшое нарастание общего ингибитора контактной активации плазменных протеаз плазминогена к концу фазы сопровождается сохранением стабильного уровня в крови продуктов деградации фибрина, можно думать о стабильной адаптации в эти сроки функционирования механизмов адаптации гемостаза в данных условиях без признаков гипокоагуляционной направленности гемостаза, обеспечивая оптимальные условия микроциркуляции при гемодинамической адаптации при окончании питания теленка молоком.

Таким образом, у телят при смене питания отмечается достоверное повышение активности противосвертывания и фибринолиза, что, вероятно, является элементом общего адаптационного процесса организма на протяжении раннего онтогенеза.

## Заключение

Сочетание динамики активности противосвертывания и фибринолиза обеспечивает на протяжении раннего онтогенеза необходимый уровень жидкостных свойств крови и оптимальную степень перфузии внутренних органов, что в значительной степени способствует протеканию метаболизма в тканях теленка, способствуя его дальнейшему росту и развитию, являясь необходимым элементом окончательного функционального созревания организма в условиях подготовки к потреблению только растительной пищи.

## Список литературы

1. Баркаган, З. С. Основы диагностики нарушенный гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. – М. : Ньюдиамед-АО, 1999. – 218 с.

2. Волчегорский, И. А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И. А. Волчегорский, И. И. Долгушин, О. Л. Колесников, В. Э. Цейликман. – Челябинск, 2000. – 167 с.

3. Гаврилов, В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липи-

дов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33–36.

4. Углова, М. В. Применение методов морфометрии и статического анализа в морфологических исследованиях / М. В. Углова, Б. А. Углов, В. В. Архипов и др. – Куйбышев, 1982. – 46 с.

НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии» выпускает в свет книгу

**УЗИ В ВЕТЕРИНАРИИ. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА  
БОЛЕЗНЕЙ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ.  
ПРАКТИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО  
С ГРАФИЧЕСКИМИ СХЕМАМИ И СОНОГРАММАМИ**

Автор Бушарова Е. В. (под ред. канд. биол. наук Чуваева И. В.)

В книге представлены различные методические подходы к проведению ультразвуковой диагностики заболеваний собак и кошек. Доступным языком изложены основы физики ультразвука, систематизирована терминология. Даны характеристики нормы и патологии внутренних органов, акцентировано внимание на дифференциальной диагностике заболеваний, диагностируемых с помощью ультразвукового исследования, проведен подробный анализ и классификация артефактов и помех, возникающих при проведении ультразвукового сканирования.

Иллюстрационный материал, представленный в книге, получен в результате многолетней работы автора и коллектива Института Ветеринарной Биологии в области ультразвуковой диагностики болезней мелких домашних животных. Оригинальные сонограммы получены с помощью сканеров УЗИ «Раскан» ООО «НПП «РАТЕКС».

Для облегчения восприятия теоретический и практический материал (сонограммы) иллюстрированы оригинальными схемами и подробными комментариями.

При написании книги использованы материалы и учтен многолетний опыт проведения обучающих семинаров по применению УЗИ в ветеринарии для ветеринарных специалистов России и ближнего зарубежья (НОУ ДО УЗИ «Институт Ветеринарной Биологии» совместно с НПП «Ратекс»).

Издание рассчитано на практикующих ветеринарных врачей, специализирующихся в области ультразвуковой диагностики собак и кошек.

Объем книги – 280 стр., формат А4, полноцветная, цена – 1500 рублей.

**Книгу можно заказать по тел.: (812) 927-55-92; по e-mail: virclin@mail.ru  
или по адресу: 196657, Санкт-Петербург, Колпино-7, а/я 36, Чуваеву И. В.**



УДК 504.3.054

Ключевые слова: креатинфосфат, неорганический фосфат, аутотрансплантат, костная ткань

*Key words: phosphocreatine, inorganic phosphate, autotransplant, bone tissue*

Нагиев Э. Р., Дадашев М. Н., Чудинов А. Н., Нагиева С. Э., Исмаилова Ф. Э., Сейфадинова М. С.

## ОБМЕН МАКРОЭРГИЧЕСКИХ ФОСФАТОВ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА *METABOLISM OF HIGH-ENERGY PHOSPHATES UNDER CRITICAL CONDITIONS OF ORGANISM*

<sup>1</sup>Дагестанская государственная медицинская академия. Адрес: 367012, г. Махачкала, пл. Ленина, 1

<sup>1</sup>*Dagestan State Medical Academy. Address: 367012, Makhachkala, Lenin street, 1*

<sup>2</sup>ФГУП «Биотехнический завод». Адрес: Московская область, пгт Успенский

<sup>2</sup>*FSUI Biotechnical Plant. Address: Moscow region, Uspensky*

Нагиев Эйзудин Рамазанович д.м.н., проф., академик РАЕН, Заслуж. работник ВШ РФ, зав. каф. биохимии<sup>1</sup>  
*Nagiev Eizudin R., Doctor of Medicine, Professor; Member of the Academy of Natural Sciences,*

*Honorary Figure of Russian Higher Education, Head of Biochemistry Dept.<sup>1</sup>*

Дадашев Мирали Нуралиевич, д.т.н., проф., нач. научно-исслед. лаборатории<sup>2</sup>  
*Dadashev Mirali N., Doctor of Engineering, Professor, Head of Scientific-Research Laboratory<sup>2</sup>*

Чудинов Александр Николаевич, к.б.н., доцент каф. биохимии<sup>1</sup>

*Chudinov Alexander N., Ph.D. in Biology Science, Associate Professor of Biochemistry Dept.<sup>1</sup>*

Нагиева Саида Эйзудиновна, ст. лаборант каф. стоматологии<sup>1</sup>

*Nagieva Saida E., Senior Laboratory Assistant of Stomatology Dept.<sup>1</sup>*

Исмаилова Фариза Эдуардовна, аспирант каф. биохимии<sup>1</sup>

*Ismailova Fariza E., Postgraduate of Biochemistry Dept.<sup>1</sup>*

Сейфадинова Мария Сейфадиновна, к.б.н., ассистент каф. биохимии<sup>1</sup>

*Seyfaddinova Maria S., Ph.D. in Biology Science, Assistant of Biochemistry Dept.<sup>1</sup>*

**Аннотация.** В трансплантатах костей при замещении дефектов нижней челюсти исследовано содержание макроэргических фосфатов – аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и креатинфосфата (КФ), характеризующих биоэнергетику и жизнеспособность трансплантатов. Параллельно проведенные рентгенологические и морфологические исследования подтверждают важность энергоснабжения костей при критических ситуациях для их минерализации и приживления при пересадках. Установлено, что в костной ткани функцию хранения и универсального поставщика энергии выполняет не столько АТФ, сколько креатинфосфат. Разработан комплекс показателей, который может служить обоснованным критерием для использования трансплантатов из губчатой костной ткани при дефектах костей на практике.

**Summary.** *The content of adenosine-5/-triphosphate (ATP) and creatine phosphate possessing a high-energy which characterize bioenergetics and viability of transplantants is researched in ones of bones under correction of defects of lower jaw. Conducted morphological and X-ray researches prove the importance of providing bones with the energy under critical conditions for the mineralization and engraftment in transplantations. It has been determined that the creatine phosphate accumulates and provides bone tissues with energy more than ATP. The complex of indexes which can be the criterion for using cancellous bone tissues transplantants in defects of bones has been developed in practice.*

### Введение

Энергия, освобождающаяся на промежуточных этапах окисления органических веществ, аккумулируется в макроэргических связях молекул аденозинтрифосфорной кислоты и некоторых других соединений и при посредстве адениловой системы переключается на нужды пластического и функционального обменов. Превращение энергии передачи электронов в химическую энергию

АТФ – это основной путь использования энергии, освобождающейся в дыхательной цепи [1, 2].

Макроэргические фосфорные соединения, такие как АТФ и креатинфосфат, играют огромную роль и в жизнедеятельности костной ткани. Так, минерализация кости может наблюдаться только в присутствии АТФ, который непосредственно включается в процесс минерализации, фиксируя лабильный

фосфор посредством реакции трансфосфорилирования на полярные группы белковой матрицы [3, 4].

Функция креатинфосфата отличается специфическими особенностями. Он выполняет роль вторичного запаса энергии в клетке, являясь донором макроэргического фосфата для АТФ в креатинкиназной реакции. Креатинфосфат представляет собой фосфоамидное производное креатина с макроэргической связью; молекулярный вес его ниже АТФ, а следовательно, в меньшем объеме и количестве вещества заложено больше энергии [5, 6].

Трансплантация органов и тканей наиболее актуальна в современной медицине. Интерес к этой проблеме еще более возрастает в связи со сложившимися в новейшей истории событиями на Северном Кавказе, и в частности в Республике Дагестан. Любая травма нижней челюсти может сопровождаться функциональными нарушениями и эстетическим дефектом, а дефекты нижней челюсти различной этиологии приводят не только к деформации и обезображиванию лица, но и к значительным нарушениям жевательной функции, что требует вмешательств с использованием костной пластики.

В связи с изложенным целью настоящей работы было изучение биохимических, рентгенологических и морфологических особенностей перестройки трансплантатов компактной и губчатой костной ткани при замещении дефектов нижней челюсти и разработка практических рекомендаций по применению наиболее рациональных методов костной пластики.

## Материалы и методы

Исследования проведены на 74 половозрелых беспородных собаках в возрасте 5–6 лет, массой 10–15 кг. В искусственно созданный дефект в области тела нижней челюсти пересаживался ауто трансплантат из компактной или губчатой костной ткани. В качестве трансплантата компактной кости использовали кортикальную пластинку тела нижней челюсти, взятую во время создания искусственного дефекта, а в качестве губчатого трансплантата – гребень подвздошной кости.

Экспериментальные животные были разделены на 3 группы. 1 группа – контроль (10 интактных животных); 2 группа – ауто трансплантация губчатой костной ткани при замещении образованного дефекта тела нижней челюсти (32 животных); 3 группа – ауто трансплантация компактной костной ткани при замещении образованного дефекта тела нижней челюсти (32 животных). Исследования проводились с соблюдением норм гуманного обращения с животными и выбором адекватного метода анестезии [7, 8]. В области тела нижней челюсти, параллельно нижнечелюстному краю, отступя от него на 0,5 см книзу, проводили разрез кожи длиной 6–7 см. При помощи бормашин и долота на наружной части тела нижней челюсти создавали дефект кости до половины ее толщины размером: высотой 1 см и длиной 4 см, в который помещали различный костнопластический материал. В послеоперационном периоде всем животным в течение 5–7 дней вводили антибиотики внутримышечно. Для изучения биохимических показателей участок челюсти, содержащий трансплантат, после забоя животного тотчас погружался в сосуд с жидким азотом. Фиксация ткани в жидком азоте полностью останавливает ферментативные процессы и позволяет исследовать биологические субстраты весьма близко к прижизненному состоянию. Содержание АТФ определяли методом ионообменной хроматографии [9], креатинфосфат и неорганический фосфат определяли по нарастанию фосфора и выражали в мкмоль на 1 г ткани [10].

Для морфологических исследований часть фрагмента нижней челюсти, содержащей трансплантат, фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, декальцинировали трилоном Б и заливали в целлоидин, готовили срезы толщиной 10–15 мкм, которые подвергали гистологическим исследованиям. Рентгенографию производили на отечественном дентальном аппарате «Уран-70» с фокусным расстоянием от объектива 30 см при экспозиции 1–1,5 сек. Применяли рентгеновскую пленку марки РМ-1 с чувствительностью 3,0. Проявляли и фиксировали рентгеновские снимки по общепринятой

методике. Контролем во всех исследованиях служила здоровая костная ткань, взятая из тех же участков кости, что и трансплантат.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по t-критерию Стьюдента [11] с использованием компьютерной программы «Statistika V.5.5A».

## Результаты и обсуждение

Биохимические исследования касались биоэнергетики и процессов минерализации в условиях трансплантации костей.

Содержание АТФ определяли методом ионообменной хроматографии как в интактной костной ткани, так и в различные сроки после ее пересадки в образованный дефект тела нижней челюсти. Однако ни в одном из этих случаев нам не удалось обнаружить с достаточной степенью достоверности ни АТФ, ни ее аналогов. Кроме того, для уточнения этого факта были проведены дополнительные контрольные исследования. В гомогенат костной ткани добавляли стандартные препараты АТФ, АДФ и АМФ фирмы «Реанал» из расчета 2–3 мг на 100 г ткани и затем проводили биохимические исследования. Во всех случаях использованными методами в костных гомогенатах были обнаружены АТФ и другие адениннуклеотиды в соответствующих стандартах количествах.

В связи с этим мы пришли к выводу, что в костной ткани, в отличие от других тканей организма, функцию хранения и универсального поставщика энергии выполняет

не столько АТФ, сколько креатинфосфат. Тем более, как это вытекает из полученных нами данных и данных литературы, содержание креатинфосфата в костной ткани (и компактной, и губчатой) существенно превышает его содержание в других органах и тканях [12, 13, 14].

Как показали проведенные исследования (см. табл.), в процессе перестройки трансплантатов содержание креатинфосфата претерпевает существенные изменения. Достоверное снижение количества креатинфосфата до 61 % от контроля в губчатой костной ткани происходит через 30 суток после трансплантации. В последующие сроки исследования количество креатинфосфата повышается по сравнению с предыдущим сроком, а спустя 60 суток полностью нормализуется и практически не отличается от показателей контрольной группы животных.

Изменения содержания креатинфосфата в трансплантате компактной кости имеют аналогичную тенденцию, однако более выражены по сравнению с трансплантатами из губчатой костной ткани. Так, спустя 30 суток после трансплантации содержание КФ значительно снижается и составляет около 54 % от контроля. В дальнейшем снижение количества КФ прекращается и через 45 суток после трансплантации повышается до 70 % от контроля. Через 60 суток содержание креатинфосфата продолжает повышаться, однако остается низкой по отношению к контролю.

Таблица.

### Содержание креатинфосфата (КФ) и неорганического фосфата (НФ) в аутогоспонтантах костной ткани (мкмоль/г; $M \pm m$ ; $n = 10$ ; $*p < 0,05$ )

Условия опыта		КФ	НФ
Губчатая кость	Контроль	31,08±1,30	2626±55,79
	30 сут.	18,93±0,57*	1991±34,54*
	45 сут.	27,95±0,85	2442±48,71*
	60 сут.	30,73±0,66	2607±45,06
Компакт. кость	Контроль	23,83±0,85	3192±51,93
	30 сут.	12,01±0,66*	21659±46,13*
	45 сут.	19,02±0,70*	2575±58,34*
	60 сут.	22,71±0,71	2909±50,00

Примечание: М – средняя арифметическая опытов; m – ошибка средней арифметической; n – число опытов; p – достоверность.

Следует отметить, что наблюдающееся снижение содержания креатинфосфата в трансплантатах костей в начальный период после операции пересадки свидетельствует о нарушении биоэнергетики трансплантатов и их жизнеспособности. Причем в период нарушения энергообеспечения трансплантатов имеет место и сопряженное угнетение процессов минерализации костей, о чем мы судили по содержанию в них неорганического фосфата.

Как следует из представленных в таблице данных, содержание неорганического фосфата в трансплантате из губчатой кости через 30 суток после пересадки снижается до 76 % от контроля. В дальнейшем, спустя 45 и особенно 60 суток после трансплантации, с нормализацией биоэнергетики костной ткани повышается и количество неорганического фосфата в трансплантатах костей, свидетельствуя об усилении процессов минерализации и повышении жизнеспособности трансплантатов.

Изменения содержания неорганического фосфата в трансплантатах из компактной кости в динамике хотя и однотипные, как в губчатой костной ткани, но более резко выражены. Кроме того, к завершению экспериментов (через 60 суток) количество неорганического фосфата в трансплантатах из компактной костной ткани, в отличие губчатой, остается заметно низкой по отношению к контрольным показателям.

Таким образом, проведенные биохимические исследования свидетельствуют о существенном снижении энергетических ресурсов в трансплантатах костей, нарушении их минерализации и, следовательно, снижении их жизнеспособности, особенно в начальный период после операции пересадки. К завершению экспериментов (через 60 суток) в трансплантатах из губчатой кости, в отличие от компактной, происходит нормализация и биоэнергетики, и процессов минерализации костной ткани.

В связи с этим, на наш взгляд, было важно выяснить, как биохимические изменения коррелируют с рентгенологическими и морфологическими изменениями трансплантатов костной ткани, что весьма важно для практики.

Рентгенологические исследования показали, что при аутотрансплантации губчатой костной ткани первичное приживление трансплантата наступает через 7 суток после операции и выражается в появлении облакоподобной тени на стыке трансплантата и костного ложа реципиента. В дальнейшие сроки наблюдения, в частности спустя 30 суток после трансплантации, определяется более совершенная структура перестройки трансплантата и образование костной ткани в области пересадки (рис. 1).

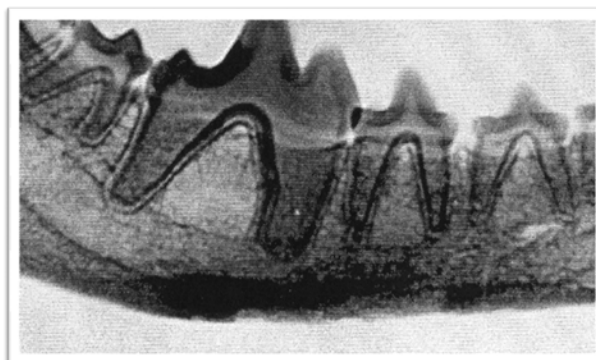


Рис. 1. Рентгенограмма нижней челюсти собаки через 30 суток после аутотрансплантации губчатой костной ткани.

Что касается трансплантатов из компактной костной ткани, то первые признаки начала перестройки трансплантата и образования первичной мозоли определяются к концу второй недели. Спустя 30 суток после операции пересадки (рис. 2) перестройка трансплантата усиливается, однако в области пересадки наблюдаются явления остеопороза. Отчетливо выявляется резорбция трансплантата и замещение его вновь образованной костной тканью. Линия просветления, разделяющая трансплантат и костное ложе, в верхних

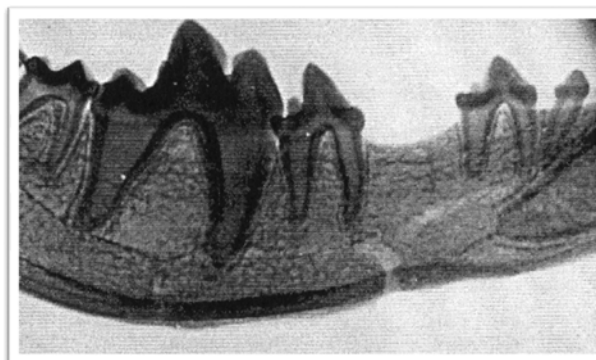


Рис. 2. Рентгенограмма нижней челюсти собаки через 30 суток после аутотрансплантации компактной костной ткани.

отделах не прослеживается. В боковых отделах трансплантата определяется образование костной мозоли.

Через 45 суток после операции пересадки рентгенологически определяются отчетливые процессы резорбции трансплантата и замещение его вновь образованной костной тканью. Контуры трансплантата и послеоперационного дефекта определяются с трудом, выявляется образование костной мозоли.

Спустя 60 суток после трансплантации губчатой костной ткани (рис. 3) рентгенологически определяется полное замещение трансплантата совершенной костной структурой.

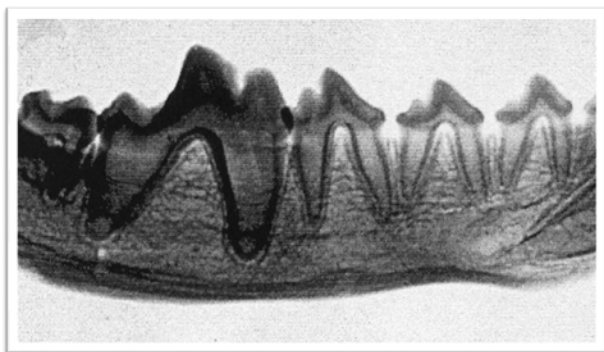


Рис. 3. Рентгенограмма нижней челюсти собаки через 60 суток после аутотрансплантации губчатой костной ткани.

Что касается трансплантата из компактной костной ткани (рис. 4), то спустя 60 суток после операции пересадки границы между трансплантатом и ложем реципиента различаются с трудом. В области пересадки отмечается плотность костной ткани, характерная для компактного строения. Имеет место полная перестройка трансплантата и замещение его вновь образованной костной тканью. Однако в области трансплан-

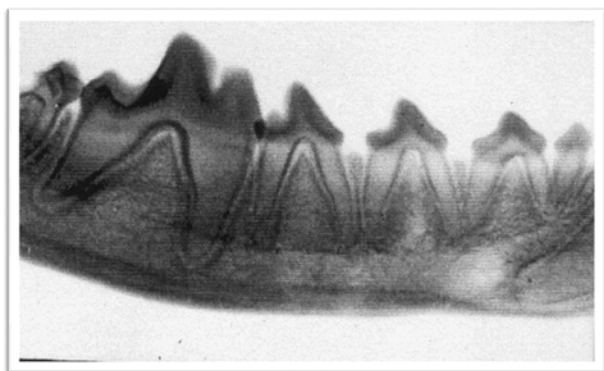


Рис. 4. Рентгенограмма нижней челюсти собаки через 60 суток после аутотрансплантации компактной костной ткани.

тации отмечается небольшая перестройка кости по типу остеопороза, что указывает на незавершенность процесса замещения ауто-трансплантата компактной костной ткани к указанному сроку наблюдений.

Таким образом, рентгенологические исследования показали, что быстрее и совершеннее перестройка и замещение трансплантата происходит при аутопластике губчатой костной ткани. При трансплантации компактной кости сроки перестройки и замещения вновь образованной костной тканью увеличены по сравнению с другими сериями опытов.

Что касается морфологической картины, то во всех сериях опытов можно выявить как ряд общих изменений, так и некоторые отличия, связанные с видом трансплантата и его структурой. Так, при аутопластике губчатой костной ткани начало репаративных процессов определяется спустя трое суток после операции и характеризуется умеренной пролиферацией клеток остеобластов на фоне слабой лимфоидной инфильтрации. В дальнейшем процессы регенерации активируются, и через 30 суток после операции пересадки (рис. 5) происходит образование незрелой костной мозоли. В трансплантате просматриваются остециты, наблюдается усиленная пролиферация остеобластов, в костном ложе реципиента отмечаются следы значительной перестройки костной ткани.

В компактной кости начальные признаки репаративной регенерации проявляются поз-

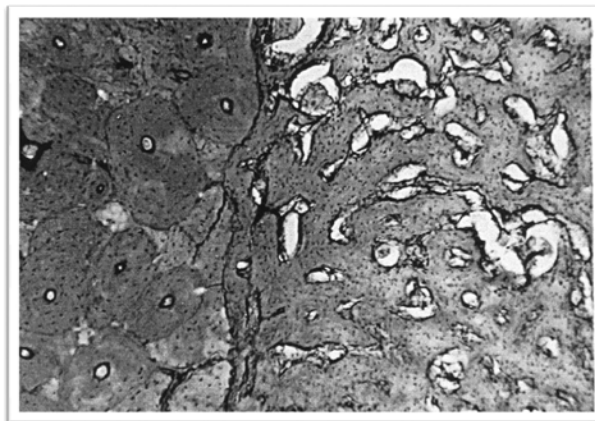


Рис. 5. Морфологические изменения нижней челюсти собаки через 30 суток после аутотрансплантации губчатой костной ткани.



же по сравнению с губчатой костной тканью и определяются спустя 7 суток после трансплантации. В дальнейшем, спустя 30 суток после операции пересадки (рис. 6), происходит сращение трансплантата с костным ложем посредством образования костной мозоли и активное замещение трансплантата вновь образованной костью. Причем на границе замещения вновь образованной костью отмечается участок сохранившегося трансплантата.



Рис. 6. Морфологические изменения нижней челюсти собаки через 30 суток после аутотрансплантации компактной костной ткани.

Спустя 45 суток после операции пересадки трансплантата происходит его сращение с костным ложем реципиента посредством обильно васкуляризованной вновь образованной костной ткани примитивного строения. Новообразованная кость плотно спаяна с поверхностью трансплантата. Линия соединения неровная с наличием впадин и изгибов. В трансплантате клетки костной ткани остециты сохранены.

Через 60 суток после пересадки (рис. 7) границы трансплантата из губчатой костной ткани определить невозможно вследствие замещения ткани трансплантата вновь образованной костью.

Что касается трансплантации компактной кости, то через 60 суток (рис. 8) происходит замещение трансплантата вновь образованной костной тканью с некоторыми признаками ее незрелости в виде наличия широких костномозговых пространств, заполненных кровеносными сосудами. Среди вновь образованной костной ткани отмечается участок сохранившейся кости трансплантата, свиде-

тельствующий о том, что через 60 суток после пересадки замещение трансплантата из компактной кости вновь образованной костной тканью не завершается, в отличие от губчатой кости.



Рис. 7. Морфологические изменения нижней челюсти собаки через 60 суток после аутотрансплантации губчатой костной ткани.

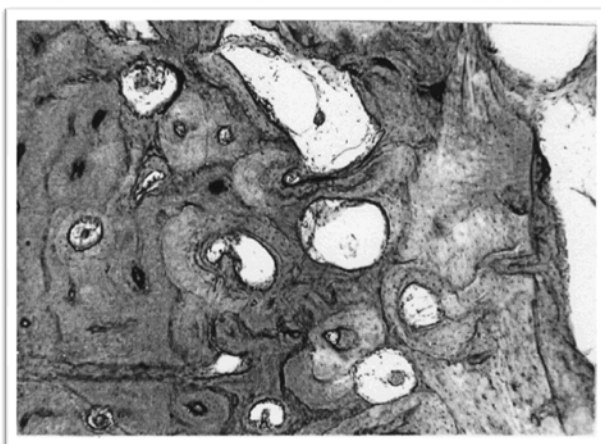


Рис. 8. Морфологические изменения нижней челюсти собаки через 60 суток после аутотрансплантации компактной костной ткани.

## Заключение

Проведенные морфологические исследования показали, что конечным результатом пересадок различных по виду и характеру трансплантатов при замещении дефектов нижней челюсти является резорбция и замещение пересаженной костной ткани. Однако при пересадках компактной кости срок первичного приживления увеличен, а перестройка и замещение вновь образованной костью завершается значительно позднее по сравнению с аналогичными пересадками из губчатой костной ткани.

Весь комплекс полученных данных свидетельствует о полной корреляции биохими-

ческих, рентгенологических и морфологических показателей и о явных преимуществах трансплантатов губчатой костной ткани при замещении дефектов нижней челюсти. В случаях же использования трансплантации компактной кости приживление и перестройка трансплантатов протекает значительно хуже, с низкими показателями жизнеспособности.

Все вышеизложенное диктует необходимость дифференцированного подхода при подборе костнопластического материала при различных критических состояниях организма на практике, и в частности дефектах челюстей различной этиологии.

## Список литературы

1. Алейникова, Т. Л. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова – М. : Высшая школа, 2002. – 238 с.
2. Исмаилова, Ф. Э. Исследование содержания адениловых нуклеотидов в тканях животных при аллотрансплантации и воздействии вредных экологических факторов / Ф. Э. Исмаилова, С. Э. Нагиева // Вестник Российского государственного медицинского университета. – М., 2010. – С. 48–49.
3. Касавина, Б. С. Жизнь костной ткани / Б. С. Касавина, В. П. Торбенко. М. : Наука, 2004. – 217 с.
4. Кокунин, В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // Укр. биохим. журн. – 1975. – Т. 47. – № 6. – с. 776–790.
5. Нагиев, Э. Р. Биохимия тканей полости рта : учебник для студентов медицинских вузов России / Э. Р. Нагиев, С. Э. Нагиева. – М., 2005. – ИПЦ ДГМА, Махачкала, 2007. – 148 с.

6. Нагиев, Э. Р. Пиримидиновый нуклеотидный фонд при действии облучения и физической нагрузки и пути его коррекции. / Э. Р. Нагиев // Мед. радиология и радиационная безопасность. – 1996. – Т. 3. – № 1. – С. 39–41.

7. Нагиев, Э. Р. Способ замещения дефектов нижней челюсти / Э. Р. Нагиев, А. Н.

Чудинов // Каталог Российских разработок. – Российско-Китайский Технопарк Дружба. – КНР, Шеньчжень, 2008. – С. 77–81.

8. Северин, С. Е. Биохимия / С. Е. Северин. – М. : ГЕОТАР-МЕД, 2003. – 784 с.

9. Скулачев, В. П. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии / В. П. Скулачев. – М. : Высшая школа, 1999. – 271 с.

10. Торбенко, В. П. Функциональная биохимия костной ткани / В. П. Торбенко, Б. С. Касавина. – М. : Медицина, 2002. – 137 с.

11. Чудинов, А. Н. Особенности углеводно-энергетического обмена костных аутоаллотрансплантатов при замещении дефектов нижней челюсти в эксперименте : автореф. дис. ... канд. биол. Наук / А. Н. Чудинов. – Махачкала, 2006. – 22 с.

12. Han, B. F. ATP – sensitive potassium channels and endogenous adenosine are involved in spinous antinociception produced by locus coeruleus stimulation / Bao Fen. Han, Ce Zhang, Jin-Shun Qi // Acts phisiol. sin. – 2002. – V. 54. – № 2. – P. 139–144.

13. Kerr, S. E. Studies on phosphorus compounds of brain phosphocreatine / S. E. Kerr // J. Biol. Chem. – 1985, 153. – P. 625–635.

14. Laver, D. R. Regulation of the calcium release channel rabbit skeletal muscle by nucleotides ATP, AMP, IMP and adenosine / Drek R. Laver, K. E. Lenz Gerlinde, D. Lamb Graham // J. Phisiol. – 2001. – V. 537. – № 3. – P. 763–778.



## Ветеринарная клиника

Журнал «Ветеринарная клиника» — ежемесячное научно-практическое издание, в котором освещаются вопросы ветеринарной медицины мелких домашних и экзотических животных.

На страницах журнала публикуются:

- ✓ интервью с ведущими ветеринарными специалистами (рубрика «**ВЕТ-персона**»);
- ✓ статьи, освещающие вопросы лечения и профилактики заболеваний мелких домашних животных (рубрики «**Терапия**», «**Онкология**», «**Хирургия**», «**Стоматология**»);
- ✓ информация о новейших препаратах (рубрика «**Фармакология**»);
- ✓ информация о современных методиках диагностики заболеваний (рубрика «**Диагностика**»).

**Приглашаем к сотрудничеству авторов и рекламодателей.**

По всем вопросам обращайтесь в редакцию по телефонам: (343) 214-76-30, 8-908-633-94-39.

Главный редактор Мария Фабрикова.

Адрес редакции: 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а.

E-mail: [vetklinika@uralbiovet.ru](mailto:vetklinika@uralbiovet.ru).

## Уверенность в знаниях!



УДК 636.2.033

Ключевые слова: телята, иммуноглобулин, Т-лимфоциты

Key words: calves, immunoglobulin, T-lymphocytes

Смоленцев С. Ю.

**ПРОФИЛАКТИКА ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНОДЕФИЦИТА У ТЕЛЯТ  
ПРИМЕНЕНИЕМ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА**  
*PREVENTION OF SECONDARY IMMUNODEFICIENCY AT CALVES  
BY APPLICATION OF THERAPEUTIC IMMUNOGLOBULIN*

ГОУ ВПО «Марийский государственный университет»

Адрес: 424002, г. Йошкар-Ола, ул. Красноармейская 71

*Mari State University. Address: 424002, Ioshkar Ola, Krasnoarmeyskaya street, 71*

Смоленцев Сергей Юрьевич, к.в.н., зав. ветеринарной клиникой

*Smolentsev Sergey Y., Ph.D. in Veterinary Science, Veterinary Clinic Chief*

**Аннотация.** В статье представлены результаты сравнительной эффективности применения иммуностимуляторов для повышения специфической и неспецифической резистентности у телят. При этом установлено, что наиболее существенное повышение показателей иммунитета отмечалось при применении лечебно-профилактического иммуноглобулина в дозе 10 мл двукратно с интервалом 48 часов.

**Summary.** The results of comparative effectiveness of application of immunostimulators for enhanced specific and nonspecific resistance at calves are presented in the article. It is established that the most essential increase of indicators of immunity was marked when therapeutic immunoglobulin was applied in a dose of 10 ml, two times 48 hours apart.

### Ведение

Проблема получения и выращивания здорового молодняка в условиях промышленного ведения животноводства с каждым годом не только обостряется, но и усложняется вследствие концентрации большого поголовья на сравнительно малых площадях, использования в рационах коров большого количества концентратов и кормов плохого качества, накопления в кормах и воде различных химических веществ. Большой проблемой современного животноводства является сохранение молодняка в ранний постнатальный период, поскольку новорожденные животные обладают слабой устойчивостью к большинству заболеваний или не имеют ее совсем. Это связано с тем, что при рождении у телят отсутствуют в крови иммуноглобулины – основной фактор защиты в постнатальный период, а состояние иммунологической неполноценности изменяется только после потребления первых порций молозива, содержащего высокий уровень иммуноглобулинов и иммунокомпетентных клеток. Поэтому для получения жизнеспособного и здорового молодняка и выращивания животных с высокой продуктивностью должны быть созданы условия, которые обеспе-

чат биологические функции коров-матерей в период эмбрионального развития плода, нормальное физиологическое течение родового процесса и постнатальную пассивную иммунизацию приплода молозивом матерей, содержащим высокий уровень иммуноглобулинов, витаминов и микроэлементов.

На качество молозива отрицательное влияние оказывает как недостаточное по питательности кормление, так и короткий сухой период, болезни вымени, доение перед отелом и другие факторы. Иммунологическая ценность молозива обусловлена концентрацией специфических веществ – иммуноглобулинов, концентрация которых в молозиве первого удоя должна быть не менее 60 г/л, при этом содержание IgG должно составлять не менее 75 %.

Цель работы – изучить влияние лечебно-профилактического иммуноглобулина на показатели специфической и неспецифической резистентности телят.

### Материалы и методы исследований

Научно-производственный опыт проведен в условиях СХА «Искра» Куженерского района Республики Марий Эл, где по принципу аналогов были сформированы четыре групп-

пы новорожденных телят по пять животных в каждой. Телятам первой группы внутримышечно вводили препарат «Риботан» в дозе 5 мл на животное однократно. Второй группе вводили внутримышечно препарат «Иммуноферон» в дозе 5 мл двукратно с интервалом 24 часа. Третьей группе препарат «Лечебно-профилактический иммуноглобулин» в дозе 10 мл двукратно с интервалом 48 часов. Телята четвертой группы служили контролем.

В крови телят определяли содержание иммуноглобулинов А, М, G на анализаторе «Униплан». Количество Т-лимфоцитов в крови определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана, В-лимфоцитов – методом комплементарного розеткообразования с использованием стандартного кроличьего гемолизина и в качестве комплемента – свежей сыворотки коров.

Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) определяли по О. В. Смирновой и Т. А. Кузминой, лизоцимную (ЛАСК) – по К. А. Каграмановой и З. В. Ермольевой, фагоцитарный индекс и число (ФЧ и ФИ) – по В. С. Гостеву.

## Результаты исследований

Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови телят, полученных от опытных

и контрольных коров, представлено в таблице 1. Из таблицы видно, что на 8–10 день концентрация иммуноглобулинов А была выше ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой на 65,2; 72,3 и 66,1 % соответственно в первой, второй и третьей группах. На 15–17 день исследований уровень иммуноглобулинов А составил в первой группе –  $1,90 \pm 0,01$  мг/мл ( $p < 0,01$ ), во второй –  $1,96 \pm 0,02$  мг/мл ( $p < 0,01$ ), в третьей –  $1,88 \pm 0,04$  мг/мл ( $p < 0,01$ ), а в контроле –  $1,03 \pm 0,02$  мг/мл. На 30–32 сутки концентрация иммуноглобулинов А была достоверно выше ( $p < 0,01$ ) в первой группе на 85,3 %, во второй – 91,1 %, в третьей – 90 % по сравнению с контрольной группой.

Уровень иммуноглобулинов М также был выше у телят, полученных от опытных коров, в ходе всего исследования. На 30–32 сутки данный показатель составил в первой группе  $2,15 \pm 0,01$  мг/мл ( $p < 0,001$ ), во второй –  $2,19 \pm 0,03$  мг/мл ( $p < 0,001$ ), а в третьей –  $2,26 \pm 0,05$  мг/мл ( $p < 0,001$ ), что в свою очередь выше показателя контрольной группы за этот же период соответственно на 67,9; 71,1 и 76,5 %.

На 8–10 день концентрация иммуноглобулинов G составила в первой группе  $12,08 \pm 0,54$  мг/мл ( $p < 0,001$ ), во второй –  $11,58 \pm 0,33$

Таблица 1.

### Динамика содержания иммуноглобулинов в крови телят, n = 5

Группа	Сроки исследования, возраст телят в днях		
	8–10	15–17	30–32
Иммуноглобулины А, мг/мл			
Первая	$1,85 \pm 0,02^{++}$	$1,90 \pm 0,01^{++}$	$1,89 \pm 0,03^{++}$
Вторая	$1,93 \pm 0,04^{++}$	$1,96 \pm 0,02^{++}$	$1,97 \pm 0,04^{++}$
Третья	$1,86 \pm 0,02^{++}$	$1,88 \pm 0,04^{++}$	$1,95 \pm 0,05^{++}$
Контрольная	$1,12 \pm 0,03$	$1,03 \pm 0,02$	$1,02 \pm 0,04$
Иммуноглобулины М, мг/мл			
Первая	$2,13 \pm 0,03^*$	$2,17 \pm 0,02^*$	$2,15 \pm 0,01^*$
Вторая	$2,16 \pm 0,02^*$	$2,14 \pm 0,04^*$	$2,19 \pm 0,03^*$
Третья	$2,24 \pm 0,05^*$	$2,20 \pm 0,06^*$	$2,26 \pm 0,05^*$
Контрольная	$1,32 \pm 0,03$	$1,24 \pm 0,03$	$1,28 \pm 0,04$
Иммуноглобулины G, мг/мл			
Первая	$12,08 \pm 0,54^*$	$13,11 \pm 0,45^*$	$13,22 \pm 0,63^*$
Вторая	$11,58 \pm 0,33^*$	$12,26 \pm 0,27^*$	$12,31 \pm 0,40^*$
Третья	$16,31 \pm 0,18^*$	$17,06 \pm 0,39^*$	$17,43 \pm 0,45^*$
Контрольная	$7,27 \pm 0,26$	$7,92 \pm 0,21$	$7,21 \pm 0,24$

Примечание: + –  $p < 0,05$ ; ++ –  $p < 0,01$ ; \* –  $p < 0,001$  уровень значимости критерия достоверности по сравнению с контрольной группой (аналогично для последующих таблиц).

0,33 мг/мл ( $p < 0,001$ ), третьей –  $16,31 \pm 0,18$  мг/мл ( $p < 0,001$ ), а в контрольной группе  $7,27 \pm 0,26$  мг/мл. На 15–17 день данный показатель был достоверно выше ( $p < 0,001$ ) контрольной группы на 65,5; 54,8 и 112,4 % соответственно в первой, второй и третьей группах. Аналогичная картина была отмечена и при анализе содержания иммуноглобулинов G в сыворотке крови телят на 30–32 сутки.

Динамика изменения бактерицидной активности сыворотки крови, лизоцимной активности сыворотки крови, фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса в крови телят представлена в таблице 2.

Из данной таблицы видно, что БАСК на 8–10 день была достоверно выше ( $p < 0,01$ ) показателя контрольной группы в 1,27; 1,20 и 1,25 раза соответственно в первой, второй и третьей группах. На 15–17 день БАСК составила в первой группе  $59,1 \pm 3,95$  % ( $p < 0,01$ ), во второй –  $57,5 \pm 2,64$  % ( $p < 0,01$ ), а в третьей  $61,2 \pm 2,06$  % ( $p < 0,01$ ). На 30–32 сутки данный показатель составил в первой группе  $59,9 \pm 1,88$  % ( $p < 0,01$ ), во второй –  $58,2 \pm 2,35$  % ( $p < 0,01$ ), в третьей –  $62,8 \pm$

$3,44$  % ( $p < 0,01$ ), а в контроле –  $43,2 \pm 2,85$  %. ЛАСК опытных телят также была выше по сравнению с контрольной группой. Так, на 30–32 сутки ЛАСК была выше ( $p < 0,01$ ) в первой группе в 1,42 раза, во второй – 1,33 раза, в третьей – 1,60 раза по сравнению с показателем контрольной группы.

В первой группе на 8–10 день ФЧ и ФИ составили  $6,22 \pm 0,45$  ( $p < 0,001$ ) и  $2,65 \pm 0,03$  ( $p < 0,01$ ). Во второй, соответственно,  $6,38 \pm 0,50$  ( $p < 0,001$ ) и  $2,80 \pm 0,06$  ( $p < 0,01$ ), в третьей –  $6,75 \pm 0,39$  ( $p < 0,001$ ) и  $3,11 \pm 0,02$  ( $p < 0,01$ ). На 15–17 день исследований данные показатели были выше по сравнению с контрольной группой в первой группе, соответственно, в 1,82 ( $p < 0,001$ ) и 1,48 раза ( $p < 0,01$ ), во второй – 1,72 ( $p < 0,001$ ) и 1,55 раза ( $p < 0,01$ ), в третьей – 2,01 ( $p < 0,001$ ) и 1,90 раза ( $p < 0,01$ ). А в контрольной группе ФЧ и ФИ составили на 30–32 сутки  $3,97 \pm 0,27$  и  $1,87 \pm 0,02$ .

Относительный уровень Т-лимфоцитов на 30–32 сутки был достоверно выше ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данным показателем контрольной группы в 1,43; 1,37 и 1,47

Таблица 2.

**Динамика изменения бактерицидной активности сыворотки крови, лизоцимной активности сыворотки крови, фагоцитарного числа и индекса в крови телят, n = 5**

Группа	Сроки исследования, возраст телят в днях		
	8–10	15–17	30–32
Бактерицидная активность сыворотки крови, %			
Первая	$57,5 \pm 3,09^{++}$	$59,1 \pm 3,95^{++}$	$59,9 \pm 1,88^{++}$
Вторая	$54,3 \pm 2,43^{++}$	$57,5 \pm 2,64^{++}$	$58,2 \pm 2,35^{++}$
Третья	$56,2 \pm 2,00^{++}$	$61,2 \pm 2,06^{++}$	$62,8 \pm 3,44^{++}$
Контрольная	$45,0 \pm 3,14$	$43,9 \pm 3,03$	$43,2 \pm 2,85$
Лизоцимная активность сыворотки крови, %			
Первая	$28,1 \pm 1,97^+$	$32,5 \pm 2,75^{++}$	$30,6 \pm 2,14^{++}$
Вторая	$27,9 \pm 2,01^+$	$30,4 \pm 1,42^{++}$	$28,7 \pm 2,42^{++}$
Третья	$34,2 \pm 1,61^{++}$	$33,5 \pm 1,93^{++}$	$34,5 \pm 1,83^{++}$
Контрольная	$21,5 \pm 2,05$	$20,8 \pm 1,09$	$21,6 \pm 2,11$
Фагоцитарное число			
Первая	$6,22 \pm 0,45^*$	$7,08 \pm 0,38^*$	$6,85 \pm 0,20^*$
Вторая	$6,38 \pm 0,50^*$	$6,66 \pm 0,40^*$	$6,75 \pm 0,33^*$
Третья	$6,75 \pm 0,39^*$	$7,82 \pm 0,26^*$	$7,63 \pm 0,36^*$
Контрольная	$4,06 \pm 0,63$	$3,88 \pm 0,21$	$3,97 \pm 0,27$
Фагоцитарный индекс			
Первая	$2,65 \pm 0,03^{++}$	$2,95 \pm 0,05^{++}$	$2,99 \pm 0,03^{++}$
Вторая	$2,80 \pm 0,06^{++}$	$3,08 \pm 0,03^{++}$	$3,00 \pm 0,05^{++}$
Третья	$3,11 \pm 0,02^{++}$	$3,75 \pm 0,04^{++}$	$3,95 \pm 0,06^{++}$
Контрольная	$1,80 \pm 0,04$	$1,98 \pm 0,06$	$1,87 \pm 0,02$

раза соответственно в первой, второй и третьей группе, соответственно.

Абсолютный уровень Т-лимфоцитов составил на 30–32 сутки в первой группе  $2,94 \pm 0,01 \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,001$ ), во второй –  $2,90 \pm 0,03 \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,001$ ) и в третьей –  $3,14 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,001$ ), а в контроле –  $2,41 \pm 0,01 \cdot 10^9/\text{л}$ .

Относительный и абсолютный уровни В-лимфоцитов на 30–32 сутки были выше ( $p < 0,05$ ) контрольной группы соответственно в 1,22 и 1,27 раза в первой группе; 1,22 и 1,23 раза во второй группе и 1,41 и 1,48 раза в третьей группе.

Относительные уровни Т-хелперов и Т-супрессоров в крови телят на 30–32 сутки также были достоверно выше по сравнению с контрольной группой и составили в первой группе  $52,0 \pm 1,06\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $35,6 \pm 1,11\%$  ( $p < 0,05$ ), во второй –  $48,1 \pm 2,00\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $33,3 \pm 0,68\%$  ( $p < 0,05$ ), а в третьей –  $50,3 \pm 1,43\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $36,0 \pm 0,61\%$  ( $p < 0,05$ ).

А в контроле данные показатели составили соответственно  $40,0 \pm 1,96\%$  и  $27,8 \pm 0,77\%$ .

## Заключение

Таким образом, результаты исследований показали, что применение телятам препарата «Лечебно-профилактический иммуноглобулин» способствует повышению специфической и не специфической резистентности организма.

## Список литературы

1. Островский, М. Иммуитет телят / М. Островский // Животноводство России. – 2007. – № 2. – С. 49–50.
2. Погодаев, В. А. Использование комплексного иммуномодулятора в скотоводстве / В. А. Погодаев, Б. А. Айсанова // Зоотехния. – 2008. – № 7. – С. 6–7.
3. Морякина, С. В. Патология репродуктивной функции у молочных коров / С. В. Морякина // Зоотехния. – 2008. – № 2. – С. 16.
4. Яранцева, С. Б. Общее состояние и показатели естественной резистентности / С. Б. Яранцева // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 6. – С. 91–95.

# Сканеры УЗИ “РАСКАН”

*Достоверность, доступность и простота ультразвуковых исследований в ветеринарии*

Все виды исследований у крупных, средних и мелких животных. УЗИ домашних и экзотических животных и птиц. Контроль стельности в животноводстве и продуктивности в птицеводстве

Полностью цифровая обработка. Высокая плотность лучей. Динамическая фокусировка. Доплер. Пунктирование. Кинопетля. Помощь. Персональные настройки. Все виды измерений. Вычисления. Заключение. Распечатка эхограмм. Архив. Ветеринарные расчеты и пиктограммы

Конвексные, линейные, полостные мультислотные датчики высокой плотности  
Рабочие частоты От 2,5 до 10 МГц

Переносные приборы с возможностями стационарных  
Легкие, компактные с автономным питанием. Кейс

Секторные датчики двухчастотные анулярные  
Рабочие частоты от 2,5 до 7,5 МГц

Организованы курсы ветеринарные УЗИ

НПП “РАТЕКС” 18 лет на рынке УЗИ

199178, С.-Петербург, Ул. Донская, д. 19, пом.1Н  
Тел./факс: (812)321-89-74, 321-57-71, (950)030-30-41  
E-mail: rateks@mail.ru http://rateks.aanet.ru

УДК 619:616.98:578.823.1

Ключевые слова: вирус гриппа, ионообменная хроматография, адсорбция, ДЕАЕ-целлюлоза

*Key words: influenza virus, ion exchange chromatography, adsorption, DEAE-cellulose*

Червякова О. В., Тайлакова Э. Т., Садикалиева С. О., Зайцев В. Л., Сандыбаев Н. Т.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИОНООБМЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ  
ДЛЯ ОЧИСТКИ ВИРУСА ГРИППА NIBRG-121XP (H1N1)  
USING ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY  
FOR INFLUENZA VIRUS NIBRG-121XP (H1N1) PURIFICATION**

РГП Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности КН МОН

Адрес: 080409, Республика Казахстан, Жамбылская область, пгт Гвардейский

*RSE Research Institute for Biological Safety Problems, the Science Committee of the Ministry of Education and Science**Address: 080409, Republic of Kazakhstan, Zhambylskaya oblast, Gvardeiskiy*

Червякова Ольга Викторовна, к.б.н., ст. научный сотрудник

*Chervyakova Olga V., Ph.D. in Biology Science, Senior Researcher*Тайлакова Эльмира Талгатовна, научный сотрудник / *Tailakova Elmira T., Acting Researcher*Садикалиева Сандугаш Оразбековна, мл. научный сотрудник / *Sadikaliyeva Sandugash O., Junior Researcher*

Зайцев Валентин Лукьянович, к.б.н., вед. научный сотрудник

*Zaitsev Valentin L., Ph.D. in Biology Science, Leading Researcher*

Сандыбаев Нурлан Тамамбаевич, к.б.н., зам. директора

*Sandybayev Nurlan T., Ph.D. in Biology Science, Deputy Director*

**Аннотация.** Подобраны оптимальные условия получения очищенных суспензий вируса гриппа NIBRG-121xp (H1N1) методом ионообменной хроматографии, пригодных для изготовления вакцинных препаратов. Оптимальными параметрами хроматографического процесса являются адсорбция вируса при pH 6,0, элюция – pH 8,0 + 0,5M NaCl. Очистка вируса гриппа, штамм NIBRG-121xp, методом ионообменной хроматографии дает 130-кратную очистку вируса, выход вируса по гемагглютинирующей активности составляет 95–100 %.

**Summary.** *Optimal conditions for preparation of purified influenza virus NIBRG-121xp (H1N1) suspension, appropriate for vaccine production, by the method of ion exchange chromatography are defined. Optimal parameters for chromatographic process are adsorption of virus at pH 6.0, elution – pH 8.0 + 0.5 M NaCl. Influenza virus purification of the strain NIBRG-121xp by the method of ion exchange chromatography gives 130-fold virus purification, virus yield of HA activity is 95–100 %.*

### Введение

Ежегодно свыше 10 % населения планеты заболевают гриппом, что составляет более 500 миллионов человек [3]. Возбудителем инфекции является представитель семейства Orthomyxoviridae РНК-содержащий вирус. Наиболее эффективным методом борьбы с вирусными инфекциями является предупредительная вакцинация. На сегодняшний день существуют различные виды вакцин: живые, инактивированные, цельновирионные, расщепленные, субъединичные и др. Однако для всех типов вакцин предъявляются высокие требования безопасности, что вызывает необходимость усовершенствования процессов производства и очистки вирусных препаратов. Общепринятым способом наработки вируса гриппа является его культивирование в куриных эмбрионах. Однако в последнее время производители противо-

гриппозных вакцин пытаются найти альтернативу куриным эмбрионам, используя для накопления вирусной массы культуры клеток MDCK [12], Vero [6] или PER.C6 [10]. В пределах процедуры очистки наблюдается тенденция отказа от традиционных методов центрифугирования в градиенте плотности сахарозы [11] и все большее использование ультрафильтрации и хроматографии [9, 4].

Целью настоящей работы явилось определение параметров ионообменной хроматографии для получения очищенных препаратов вируса гриппа NIBRG-121xp.

### Материалы и методы

Вирус. В работе использовали рекомбинантный штамм вируса гриппа типа А NIBRG-121xp (H1N1), сконструированный методом обратной генетики. Штамм получен из NIBSC (United Kingdom). Вирус нара-

батывали в аллантаической полости 11-суточных куриных эмбрионов. Эмбрионы инкубировали в течение 48 часов при 33 °С, после чего отбирали аллантаическую жидкость, объединяли и осветляли центрифугированием при 2500 g в течение 30 минут при температуре 4 °С.

Ионообменная хроматография. В качестве носителя использовали волокнистую ДЕАЕ-целлюлозу (Sigma). Подготовку ионообменника проводили по протоколу производителя. Уравновешивали колонку с ионообменником 50мМ натрий-фосфатным буфером.

Содержание белка определяли по методу Lowry [8]. Гемагглютинирующую активность вируса определяли микрометодом [1]. Целостность вирионов определяли методом негативного контрастирования с помощью электронного микроскопа JEM-100 CX JEOL (Япония) при ускоряющем напряжении 20–80 кВ и увеличении 20000–40000. Чистоту полученных препаратов проверяли методом электрофореза в градиентном (10–20 %) ДСН-полиакриламидном геле [5].

## Результаты исследований

На первом этапе было подобрано оптимальное содержание ионов водорода в среде для полной адсорбции вируса на ионообменнике. Колонки (1 мл), упакованные ДЕАЕ-целлюлозой уравновешивали натрий-фосфатным буфером с различным значением рН. Вирусосодержащую аллантаическую жидкость (10 мл) соединяли с фосфатным буфером в соотношении 1 : 1 и пропускали через ионообменник. Активность вируса в исходной и элюируемой суспензии определяли в реакции гемагглютинации. Результаты представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, при рН 5,0 вирус не адсорбируется на ионообменнике. Отмечено, что при данном значении рН значительно снижается гемагглютинирующая активность вируса. При рН 6,0 и 7,0 вирус практически полностью адсорбировался на ионообменнике.

Следующим этапом наших исследований был подбор элюирующего буфера. В таблице 2 представлены элюенты, которые были апробированы для десорбции вируса с ионо-

обменника. Повышение рН и ионной силы буферного раствора в различной степени приводило к десорбции вируса. Вирус хорошо элюировался при использовании фосфатного буфера с рН 8,0, содержащего 0,5 и 1 М хлорида натрия.

На основании полученных результатов по особенностям взаимодействия вируса гриппа штамма NIBRG-121хр с ДЕАЕ-целлюлозой проведена серия экспериментов по получению очищенных препаратов вируса гриппа из аллантаической жидкости. В таблице 3 приведены результаты типичного опыта.

Из данных таблицы 3 видно, что выход очищенного вируса по гемагглютинирующей активности составил >100 %. Электронно-микроскопический и электрофоретический анализ (рис. 1, 2) очищенных препаратов вируса показал, что данный способ очистки позволяет получать цельновирионную суспензию, не содержащую белков аллантаической жидкости. Если за степень очистки принять отношение «удельной» гемагглютинирующей активности (титр гемагглютининов, отнесенный к 1 мг суммарного белка препарата) в очищенном препарате к аналогичной характеристике исходного препарата, то на основании приведенных в таблице 3 данных, степень очистки вируса гриппа NIBRG-121хр составляет 130.

## Обсуждение результатов

Хроматографические методы являются эффективными при разделении молекул и ионов. Учитывая сложную организацию вирусов, включающих тысячи молекул белков, нуклеиновых кислот и липидов, хроматографический процесс очистки требует рационального выбора сорбента и буферных растворов, обеспечивающих сохранение целостности и биологической активности вирионов.

Проведенные эксперименты показали, что адсорбция вируса гриппа, штамм NIBRG-121хр, зависит от концентрации ионов водорода в среде. Оптимально для адсорбции исследуемого штамма вируса на ДЕАЕ-целлюлозе использовать буферные системы с рН 6,0. Также установлено, что закисление среды приводит к снижению гемагглютини-



рующей активности (табл. 1), что негативно сказывается на адсорбционной способности вируса на ионообменнике. Однако как по-

казали наши ранние исследования, при рН близком к 5 возрастает инфекционная активность вируса [2]. Деградация гемагглютини-

**Таблица 1.**  
**Адсорбция вируса на ДЕАЕ-целлюлозе при различных значениях рН**

рН	Общая ГАА*		Адсорбция, %
	исходная	на выходе	
5,0	64	64	0
6,0	512	0	100
7,0	512	16	95
8,0	512	256	50

Примечание: \* – приведены обратные значения титров.

**Таблица 2.**  
**Элюирование вируса с ионообменника с использованием буферов с различными содержанием ионов водорода**

Элюент	Общая ГАА*		Адсорбция, %	ГАА в элюате*	Выход, %
	исходная	на выходе			
50мМ натрий фосфатный буфер рН 6,0 рН 7,0 рН 8,0	512	0	100	0	0
	512	0	100	16	3,1
	512	0	100	155	30,3
50мМ натрий фосфатный буфер – 0,5 М NaCl рН 6,0 рН 7,0 рН 8,0	1024	0	100	38	3,75
	1024	0	100	410	40,2
	1024	0	100	1200	>100
50мМ натрий фосфатный буфер – 1,0 М NaCl рН 6,0 рН 7,0 рН 8,0	256	0	100	20	7,5
	256	0	100	155	60,0
	256	0	100	300	>100

Примечание: 1. В данной серии опытов адсорбцию вируса вели при рН 6,0. 2. \* – приведены обратные значения титров.

**Таблица 3.**  
**Характеристика препаратов вируса гриппа штамма NIBRG-121xp на разных этапах очистки методом ионообменной хроматографии**

Этап	Объем, мл	Титр в РГА*	Концентрация белка, мг/мл	Суммарная ГАА, % от исходной
Вирусодержащая аллантоисная жидкость	400	1024	1,30	100
Вирусодержащая аллантоисная жидкость после адсорбции вируса	450	0	0,69	0
Промывающий буфер (0,15 М NaCl в 0,05 М фосфатном буфере рН 6,0)	1200	0	0,14	0
Элюирующий буфер (0,5 М NaCl в 0,05 М фосфатном буфере рН 8,0)	450	1024	0,01	>100

Примечание: \* – приведены обратные значения титров.

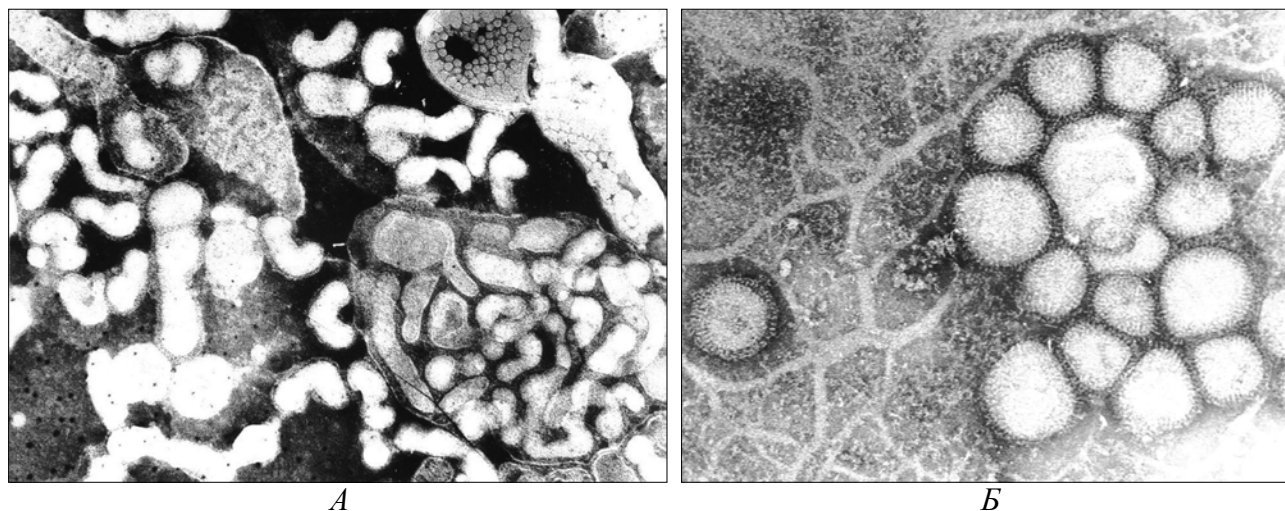


Рис. 1. Электронная микроскопия препаратов вируса гриппа Nibrg-121 хр до (А) и после (Б) очистки. Ув. 50000х.

на в данном диапазоне рН определяется молекулярными механизмами инфекционного процесса, связанного с низким значением рН в эндосомах [4, 7].

Адсорбция вируса – процесс обратимый. Элюирование вируса с сорбента достигается повышением рН элюента и ионной силы раствора (табл. 2). Установлено, наиболее полная десорбция вируса происходит при использовании буфера с рН 8,0, содержащего 0,5 М хлористого натрия.

Апробация выбранных параметров хроматографического процесса показала, что очищенные препараты вируса являются цельновирсионными (рис. 1) и сохраняют гемагглютинирующую активность (табл. 3). По содержанию остаточного овальбумина (данные не показаны) полученные препараты соответствуют требованиям, предъявляемым к вакцинным полуфабрикатам, и могут быть использованы при производстве вакцин [13].

Следует отметить, что в процессе хроматографии происходит незначительное разбавление вирусной суспензии, что требует введения дополнительных этапов концентрирования. Для этого может быть использован метод ультрафильтрации или центрифугирования. Концентрирование может быть проведено как перед хроматографическим процессом, так и после.

## Заключение

Оптимальными параметрами хроматографического процесса являются адсорбция вируса при рН 6,0, элюция – рН 8,0 +

0,5М NaCl. Очистка вируса гриппа, штамм NIBRG-121хр, методом ионообменной хроматографии дает 130-кратную очистку вируса, выход вируса по гемагглютинирующей активности составляет 95–100 %.

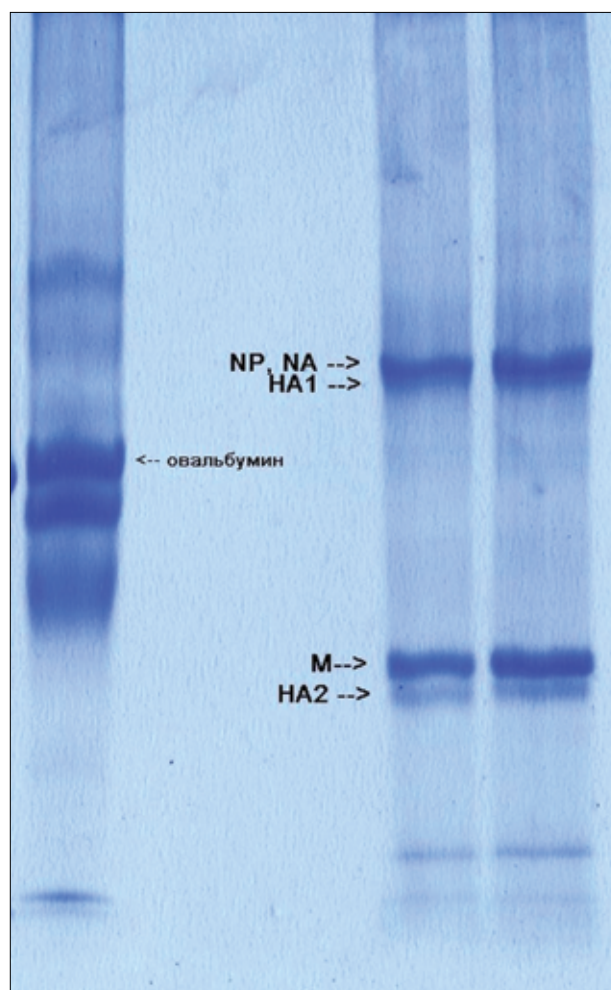


Рис. 2. ДСН-ПААГ-электрофорез очищенных препаратов вируса гриппа, штамм NIBRG-121хр. 1 – исходная вирусосодержащая аллантоисная жидкость; 2, 3 – очищенные препараты вируса гриппа.

## Список литературы

1. Сюрин, В. Н. Ветеринарная вирусология / В. Н. Сюрин, Р. В. Белоусова, Н. В. Фомина. – М. : Колос, 1984. – С. 317–322.
2. Червякова, О. В. Влияние физико-химических факторов на инфекционную и гемагглютинирующую активность штаммов вируса гриппа птиц, выделенных на территории Казахстана / О. В. Червякова, В. Л. Зайцев, Н. Т. Сандыбаев, К. Т. Султанкулова, Е. В. Жолдыбаева, В. М. Строчков // Биотехнология в Казахстане: проблемы и перспективы инновационного развития: Междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 50-летию науч.-исслед. ин-та пробл. безопасности (19–21 мая 2008 г., Алматы). – Алматы, 2008. – С. 235–239.
3. Gerdil, C. The annual production cycle for influenza vaccine / C. Gerdil // *Vaccine*. – 2003. – Vol. 21. – P. 1776– 1779.
4. Kalbfuss, B. Purification of cell culture-derived human influenza A virus by size-exclusion and anion-exchange chromatography / B. Kalbfuss, M. Wolff, R. Morenweiser, U. Reichl // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2007. – Vol. 96, No. 5. – P. 932–944.
5. King, J./J. King, U. K. Laemmli – 1971. – Vol. 62. – P. 465– 473.
6. Kistner, O. Development of a mammalian cell (Vero) derived candidate influenza virus vaccine / O. Kistner et al. // *Vaccine*. – 1998. – Vol. 16. – P. 960– 968.
7. Knipe, D. M. *Fields Virology*, Chapter 46: Orthomyxoviridae / D. M. Knipe, P. M. Howley. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
8. Lowry, O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry et al. // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193. – P. 265– 275.
9. Nayak D. P. Downstream processing of MDCK cell-derived equine influenza virus / D. P. Nayak, S. Lehmann, U. Reichl // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* – 2005. – Vol. 823 (2). – P.75– 81.
10. Pau, M. G. The human cell line PER.C6 provides a new manufacturing system for the production of influenza vaccine / M. G. Pau et al. // *Vaccine*. – 2001. – Vol. 19. – P. 2716– 2721.
11. Reimer, C. B. Purification of Large Quantities of Influenza Virus by Density Gradient Centrifugation / C. B. Reimer, R. S. Baker, R. M. Vanfrank, T. E. Newlin, G. B. Cline, N. G. Anderson // *J. Virology*. – 1967. – Vol. 1, No. 6. – P. 1207– 1216.
12. Tree, J. A. Comparison of large-scale mammalian cell culture systems with egg culture for the production of influenza virus A vaccine strains / J. A. Tree, C. Richardson, A. R. Fooks, C. Clegg, D. Looby // *Vaccine*. – 2001. – Vol. 19. – P. 3444– 3450.
13. WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-fourth report . – Geneva, 2005 (WHO Technical Report Series, No. 927).



 **ВЕТЕРИНАР.ru**  
 Всё о ветеринарии для врачей и владельцев животных

реклама

- форум
- последние новости
- подборка статей
- справочники
- каталог лекарственных средств
- адреса ветклиник и зоомагазинов
- информация о выставках и конференциях
- анонсы ветеринарных журналов

Заходите на [www.veterinar.ru](http://www.veterinar.ru), и Вы найдёте много интересной и полезной информации!

Приглашаем к сотрудничеству ветеринарных врачей и организации.  
 e-mail: [invet@inbox.ru](mailto:invet@inbox.ru) [boldyreva@mail.ru](mailto:boldyreva@mail.ru)  
 тел.: 8 (909) 646-76-43, 8 (916) 181-95-58

УДК 619:578.823.2

Ключевые слова: антиген, блютанг, твердофазный иммуноферментный анализ

Key words: antigen, bluetongue, enzyme-linked immunosorbent assay

**Ажибаев А. Ж., Кошеметов Ж. К., Мамадалиев С. М., Нурабаев С. Ш.,  
Бурабаев А. А., Абдураимов Е. О., Жугунисов К. Д.**

## **ПРИГОТОВЛЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОГО АНТИГЕНА ВИРУСА БЛЮТАНГА ДЛЯ НЕПРЯМОГО ВАРИАНТА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА** *BLUETONGUE VIRAL CULTURAL ANTIGEN PREPARATION FOR INDIRECT ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY*

РГП «НИИ проблем биологической безопасности» КН МОН РК

Адрес: 080409, Республика Казахстан, Жамбылская область, пгт Гвардейский

*RGE «Research Institute for Biological Safety Problems» SC MES RK*

*Address: 080409, Republic of Kazakhstan, Zhambylskaya oblast, Gvardeiskiy*

Ажибаев Азамат Жасуланович, ст. научный сотрудник / *Azhibayev Azamat Zh., Senior Scientific Officer*

Кошеметов Жумагали Каукарбаевич, к.б.н., зав. лаборатории

*Koshemetov Zhumagali K, Ph.D. in Biology Science, The Laboratory Chief*

Мамадалиев Сейдигалбар Мамадалиевич, д.в.н., профессор, гл. научный сотрудник

*Mamadaliyev Seidigapbar M., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head Scientific Officer*

Нурабаев Сергазы Шураатбаевич, ст. научный сотрудник / *Nurabayev Sergazy Sh., Senior Scientific Officer*

Бурабаев Асылбек Амирбекович, к.б.н., ст. научный сотрудник

*Burabayev Assilbek A.– Ph.D. in Biological Sciences, Senior Scientific Officer*

Абдураимов Ергали Орынбасарович, к.в.н., главный технолог

*Abduraimov Ergali O., Ph.D. in Veterinary Sciences, Head Technologist*

Жугунисов Куандык Даулетбаевич, научный сотрудник / *Zhugunisov Kuandyk D., Scientific Officer*

**Аннотация.** В работе представлены результаты исследований по приготовлению культурального антигена вируса блютанга для непрямого варианта ТФ-ИФА с целью выявления группоспецифических антител и оценка чувствительности и специфичности данного метода на основе приготовленного антигена при исследовании различных (гомологичных, гетерологичных и нормальных) сывороток крови овец.

**Summary.** Study results on the bluetongue viral cultural antigen preparation for indirect variant of the ELISA and the sensitivity and specificity assessment of this method on the basis of prepared antigen in the study of different (homologous, heterologous and normal) sera are presented in this work.

### **Введение**

Группа возбудителей блютанга («синий язык», катаральная лихорадка овец) входит в состав рода Orbivirus семейства Reoviridae. В настоящее время известны 24 серотипа вируса блютанга, вызывающие сходную клиническую картину у инфицированных восприимчивых животных, к которым относятся овцы, крупный рогатый скот, олени, ламы и некоторые виды диких жвачных [5].

Наиболее значительный экономический ущерб эпизоотии блютанга наносят при возникновении болезни среди овец или некоторых видов диких жвачных на ранее благополучных территориях, когда заболеваемость достигает до 90 %, а летальность – 70–90 %. Однажды возникнув в регионе, болезнь приобретает стационарный характер и в настоящее время зарегистрирована

на всех континентах [13, 9]. Южные и юго-восточные регионы нашей республики, где сосредоточено основное поголовье овец, граничат с неблагополучными по блютангу странами (Республика Таджикистан и Кыргызская Республика), где по данным мониторинговых исследований, проведенных в 2009 году сотрудниками РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, из проб патологических материалов был выделен вирус блютанга, а в сыворотках крови обнаружены антитела против данного вируса [1]. С учетом эпизоотологии инфекции, наличия восприимчивого поголовья и переносчиков можно сделать предположение о более масштабном распространении заболевания на территории соседних государств, что обуславливает необходимость проведения исследований по

конструированию средств лабораторной диагностики и специфической профилактики данной болезни.

В лабораторной диагностике блютанга важное место занимают методы, основанные на обнаружении специфических к данному вирусу антител в сыворотке крови больных и переболевших животных [12, 14, 10]. Одним из таких является непрямой твердофазный иммуноферментный анализ (ТФ-ИФА), который отвечает основным требованиям, предъявляемым к средствам и методам лабораторной диагностики инфекционных болезней (высокая чувствительность, специфичность, достоверность и воспроизводимость результатов, стоимость исследований, универсальность и безопасность) [4].

Массовое применение иммуноферментных наборов для серологической диагностики данной инфекции, выпускаемых многими зарубежными фирмами, такими как «VMRD», «Veterinary Diagnostic Technology» и «Diagxotics» (США), а также «ID-VET» (Франция), ограничено высокой стоимостью [3, 7]. Поэтому создается необходимость в разработке отечественных диагностических тест-систем на основе непрямого ТФ-ИФА для выявления и количественной оценки уровня группоспецифических антител к вирусу блютанга. В свою очередь выявление антител данным методом требует получения очищенного антигена данного вируса, который, безусловно, является одним из основных диагностических компонентов иммуноферментных наборов.

При блютанге в качестве антигенсодержащего материала используют хорионаллантоисные оболочки (ХАО) и желточные мешки куриных эмбрионов (КЭ), мозг и сердце мышат-сосунов, инфицированных вирусом блютанга. Однако антигены, приготовленные из данного вида вирусосодержащих материалов, являются слабоактивными. Поэтому большинство исследователей предпочитают проводить работы по диагностике блютанга с культуральными антигенами, которые выгодно отличаются низкой антикомплемента-рностью, технологичностью и хорошей активностью, а главное – пригодностью для постановки всех известных иммунологи-

ческих реакций при данной инфекции [2]. В связи с чем необходимость разработки метода приготовления культурального антигена данного возбудителя представляется весьма актуальной.

Исходя из этого, целью настоящих исследований являлось получение культурального антигена вируса блютанга для разработки отечественных диагностических тест-систем на основе непрямого ТФ-ИФА, позволяющих обнаруживать в сыворотке крови овец антитела, обуславливающие серогрупповую (для всех серотипов) специфичность возбудителя.

### Материалы и методы

**Вирус.** В работе использовали вирус блютанга: штаммы «Хуросон-07/04» и «RT/RIBSP-07/16», полученные в перевиваемых линиях клеток почки сайги (ПС) и зеленой африканской мартышки (Vero) с биологической активностью 7,00 и 6,75 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup> соответственно.

**Культура клеток.** Для получения вирусосодержащей суспензии с целью приготовления культурального антигена вируса блютанга использовали соответственно перевиваемые линии клеток ПС и Vero. Заражение культур клеток, а также выращивание вируса проводили согласно отработанным ранее условиям [6].

Проверка стерильности культуральных суспензий вируса блютанга. Стерильность полученных культуральных суспензий вируса блютанга определяли путем посева на бактериологические среды: мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА) и мясопептонный печеночный бульон под маслом (МППБ), Сабуро (жидкое и твердое) и тиогликолевая. Посевы выдерживали при 37 °С в течение 10 дней. По окончании времени инкубирования из пробирок проводили пересевы на свежие питательные среды и выдерживали дополнительно в течение 10 дней. Стерильными считали культуральные суспензии, посевы которых не давали роста посторонней микрофлоры.

Инактивация культуральных суспензий вируса блютанга. Полученные культуральные суспензии вируса блютанга инактивировали 98 % бета-пропиолактоном (БПЛ)

фирмы NATALEX S.A. (Польша) согласно условиям, отработанным в лаборатории Биотехнологии культивирования вирусов НИИПББ.

Проверка полноты инактивации культуральных суспензий вируса блютанга. Проверку полноты инактивации вируса блютанга проводили путем его 3-кратного пассирования в культурах клеток ПС и Vero соответственно. Наблюдение за испытываемыми культурами клеток вели в течение 6 суток. Если после этого в монослое данных клеток ЦПД вируса отсутствовало, то инактивацию считали 100 %.

Очистку и концентрирование вируса блютанга из культуральных суспензий проводили по методике, предложенной Vervoreld D.W. [15] в нашей модификации, состоящей из концентрирования и частичной очистки вируса в супернатанте (после осветления) путем осаждения его с помощью ПЭГ-6000 в конечной концентрации 5 %.

Реакция диффузионной преципитации. Активность и специфичность приготовленных антигенов вируса блютанга оценивали в реакции диффузионной преципитации (РДП), которую ставили по общепринятой в вирусологической практике методике, исследуя сыворотки крови к гетерологичным возбудителям вирусных болезней мелкого рогатого скота (оспы и контагиозной эктимы овец, а также чумы мелких жвачных) и нормальную сыворотку, полученные в НИИПББ.

Непрямой ТФ-ИФА для выявления группоспецифических антител к вирусу блютанга ставили согласно условиям, отработанным в лаборатории Диагностики и индикации вирусных инфекций НИИПББ.

Приготовление антигена вируса блютанга. Для приготовления антигена вируса блютанга концентрированные и очищенные препараты данного вируса подвергали различным физико-химическим воздействиям:

1) однократный термолизис (замораживание при минус 70 °С и оттаивание при комнатной температуре) с последующим осветлением при 1395 g в течение 30 минут при 4 °С;

2) двукратный термолизис;

3) трехкратный термолизис;

4) обработка фреоном-113: для этого суспензию смешивали с равным объемом фреона-113 и интенсивно встряхивали в течение 10–15 минут при 25 °С, затем центрифугировали при 545 g в течение 20–30 минут при 4 °С и отбирали верхнюю водную фазу для исследования в качестве антигена вируса;

5) обработка эфиром: к 2 мл суспензии добавляли 0,5 мл эфира и встряхивали в плотнозакрывающейся пробирке в течение 1 часа при 25 °С, затем эфир отделяли низкоскоростным центрифугированием при 785 g в течение 30 минут при 4 °С, из водной фазы удаляли остатки эфира продуванием воздуха и центрифугировали при 109368 g в течение 60 минут при 4 °С, осадок ресуспендировали в объеме 1/100 0,002M раствора трис-буфера, pH 7,5 от исходного;

6) обработка ферментом *in vitro*: к суспензии добавляли трипсин до конечной концентрации 0,1 мг/мл и выдерживали в течение 1 часа при 37±0,5 °С, действие трипсина прекращали добавлением соевого ингибитора (1 мг ингибитора на 1 мг трипсина), который растворяли в 0,05M фосфатно-буферном растворе (ФБР), pH 7,8, затем центрифугировали при 109368 g в течение 60 минут при 4 °С, осадок ресуспендировали в объеме 1/100 0,002M раствора трис-буфера, pH 7,5 от исходного;

7) обработка хлороформом: для этого суспензию смешивали с равным объемом хлороформа, интенсивно встряхивали в течение 10–15 минут при 25 °С, затем смесь центрифугировали при 545 g в течение 20–30 минут при 4 °С и отбирали верхнюю водную фазу для исследования в качестве антигена вируса;

8) обработка дезоксихолатом натрия (ДХН): к 10 мл суспензии добавляли сухой ДХН до концентрации 0,1; 0,5 и 1 %. Смесь и контрольную пробу выдерживали в течение 30 минут при 37 °С, затем пробы немедленно разводили 0,05M ФБР, pH 7,8 для прекращения действия детергента и исследовали в качестве антигена вируса.

## Результаты исследований

Активность и специфичность культуральных антигенов вируса блютанга, приготовленных различными способами, оценивали

Таблица 1.

**Оценка активности и специфичности в РДП и ТФ-ИФА культуральных антигенов вируса блютанга, приготовленных различными способами**

Номер способа приготовления Аг	Активность и специфичность Аг в РДП					Активность в ТФ-ИФА Аг серотипов		
	СС к вирусу блютанга серотипов		СС к вирусу оспы овец	СС к вирусу КЭО	СС к вирусу чумы МЖЖ	СН		
	4	16					4	16
1	1 : 4	1 : 8	–	–	–	–	1 : 64	1 : 128
2	1 : 4	1 : 4	–	–	–	–	1 : 256	1 : 512
3	1 : 8	1 : 8	–	–	–	–	1 : 256	1 : 512
4	1 : 16	1 : 32	–	–	–	–	1 : 512	1 : 1024
5	1 : 2	1 : 4	–	–	–	–	1 : 64	1 : 64
6	1 : 32	1 : 64	–	–	–	–	1 : 2048	1 : 2048
7	1 : 2	1 : 2	–	–	–	–	1 : 32	1 : 32
8	1 : 2	1 : 2	–	–	–	–	1 : 32	1 : 32
АгН (контрольные), приготов. вышеуказанными способами	–	–	–	–	–	–	–	–

Примечание: 1. «СС/СН» – специфическая/нормальная сыворотка. 2. «КЭО» – контагиозная эктима овец. 3. «Чума МЖЖ» – чума мелких жвачных животных. 4. «АгН» – антиген нормальный. 5. «–» – не активен.

в РДП и ТФ-ИФА. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, культуральные антигены вируса блютанга 4 и 16 серотипов положительно реагируют только с сывороткой против вируса гомологичного ряда, активность которых в РДП составила от 1 : 2 до 1 : 32, а ТФ-ИФА от 1:32 до 1:2048. Неспецифическая реакция с гетерологичными и нормальной сыворотками отсутствовала. Во всех случаях нормальные антигены, приготовленные аналогичными способами из неинфицированных клеток ПС и Vero, реагировали отрицательно.

Чувствительность и специфичность непрямого варианта ТФ-ИФА на основе приготовленного культурального антигена вируса блютанга исследовали, используя специфические к данному вирусу (от овец, привитых инактивированными образцами вакцин против блютанга 4 и 16 серотипов, приготовленными лабораторией Биотехнологии культивирования вирусов НИИПББ), гетерологичные (оспы и контагиозной эктими овец, чумы мелких жвачных) и нормальные (контрольные) сыворотки крови овец. Результаты данных исследований представлены в таблице 2.

Результаты тестирования показали, что культуральный антиген вируса блютанга в непрямом варианте ТФ-ИФА положительно связывался только с гомологичными антителами при отрицательной реакции с гетерологичными и нормальными (контрольными) сыворотками, что указывает на специфичность приготовленного антигена. В сыворотках крови овец, привитых инактивированными БПЛ и ДЭИ вакцинами против блютанга 4 и 16 серотипов в комплексе с различными адьювантами (Montanide ISA-71 VG, ГОА и сапонин), группоспецифические антитела выявляли в титрах от 1 : 100 до 1 : 12800.

#### Обсуждение результатов

Полученные результаты указывают на то, что наиболее пригодным антигеном вируса блютанга для постановки непрямого варианта ТФ-ИФА является антиген, приготовленный 6-м способом (обработка трипсином). Антигены, приготовленные другими способами, проявляли меньшую активность в РДП и ТФ-ИФА (от 2 до 8–64 раз соответственно меньше по сравнению с таковым, приготовленным по способу № 6).

Некоторое увеличение антигенной активности препаратов после обработки фре-

**Чувствительность и специфичность непрямого варианта ТФ-ИФА на основе приготовленного культурального антигена вируса блютанга при исследовании гомологичных, гетерологичных и нормальных сывороток крови овец**

№ п/п	Наименование исследуемых проб сывороток крови	Взятие сывороток крови после вакцинации, сут.		Титр в непрямом ТФ-ИФА
I	Гомологичные			
1	Сыворотки крови овец, привитых инактивированной бета-пропиолактоном вакциной против блютанга 4 серотипа в комплексе с адьювантом Montanide ISA-71 VG	0	–	
		7	–	
		14	1:200	
		21	1:800	
		28	1:1600	
		40	1:6400	
		60	1:12800	
2	Сыворотки крови овец, привитых инактивированной бета-пропиолактоном вакциной против блютанга 16 серотипа в комплексе с адьювантом Montanide ISA-71 VG	0	–	
		7	–	
		14	1:100	
		21	1:200	
		28	1:800	
		40	1:6400	
		60	1:12800	
3	Сыворотки крови овец, привитых инактивированной димеромэтиленimina вакциной против блютанга 16 серотипа в комплексе с адьювантом Montanide ISA-71 VG	0	–	
		7	–	
		14	1:100	
		21	1:800	
		28	1:1600	
		40	1:1600	
		60	1:3200	
4	Сыворотки крови овец, привитых инактивированной бета-пропиолактоном вакциной против блютанга 16 серотипа в комплексе с адьювантами гидроокись алюминия + сапонин	0	–	
		7	–	
		14	1:200	
		21	1:800	
		28	1:800	
		40	1:400	
		60	1:200	
5	Сыворотки крови овец, привитых инактивированной бета-пропиолактоном вакциной против блютанга 4 серотипа в комплексе с адьювантами гидроокись алюминия + сапонин	0	–	
		7	–	
		14	1:200	
		21	1:800	
		28	1:800	
		40	1:400	
		II	Гетерологичные	
6	Сыворотки крови овец, инфицированных возбудителями:	оспы	Контагиозной эктимы	чумы мелких жвачных
		–	–	–
		–	–	–
		–	–	–
III	Нормальные (контрольные)			
7	Сыворотки крови здоровых овец	–		

Примечание: 1. «0» – до вакцинации. 2. «–» – отрицательный результат.



ном-113 (4-й способ) мы склонны объяснить либо снятием «псевдооболочек», окружающих некоторые вирусные частицы, либо удалением ингибиторов вируса липопротеидной природы [8]. Обработка же очищенных препаратов вируса блютанга 4 и 16 серотипов хлороформом, эфиром и ДХН приводила к частичной потере его антигенной активности, что подтверждает результаты, полученные Studdert M. J. [11], свидетельствующие о чувствительности данного вируса к липидным растворителям.

Результаты оценки чувствительности и специфичности непрямого варианта ТФ-ИФА на основе приготовленного культурального антигена вируса блютанга, где были исследованы различные сыворотки крови овец (гомологичные, гетерологичные и нормальные), показали, что непрямым вариантом ТФ-ИФА позволяет получать достоверные данные о наличии антител, обладающих специфичностью к полипептиду VP7 внутреннего капсида вируса блютанга, который является общим для всех серотипов возбудителя. При этом было отмечено, что наиболее активный иммунитет формировался у овец после вакцинации образцами инактивированных вирусвакцин в комплексе с адьювантом на основе масляной эмульсии Montanide ISA-71 VG фирмы «Seppic» (Франция), в то время как образцы вирусвакцин с адьювантным комплексом ГОА + сапонин вызывали образование низких титров антител.

Из этого следует, что культуральный антиген вируса блютанга, приготовленный для непрямого варианта ТФ-ИФА, может быть использован как альтернатива антигену, полученному из ХАО КЭ или мозга мышат-соусонов. Внедрение в лабораторную практику нашей страны подобных диагностических тест-систем позволит сократить время постановки диагноза, свести к минимуму срок карантирования животных и предотвратить занос возбудителей особо опасных инфекций с импортированным скотом. Применение же данного иммуноферментного набора в перспективе будет способствовать углублению научных исследований по изучению риска распространения вируса блютанга.

### Заключение

Приготовленный культуральный антиген вируса блютанга вполне пригоден для постановки непрямого варианта ТФ-ИФА, который может быть использован при проведении диагностических исследований, серологического мониторинга, а также для изучения формирования и оценки напряженности поствакцинального иммунитета.

### Список литературы

1. Абдураимов, Е. О. Результаты мониторинга катаральной лихорадки овец в Центральной Азии и Казахстане / Е. О. Абдураимов, Е. М. Раманкулов, С. М. Мамадалиев, Ж. К. Кошметов, З. Д. Ершебулов // Сбор. матер. междунар. науч.-практ. конф. «Перспективы сотрудничества государств-членов ШОС в противодействии угрозе инфекционных болезней» (14–15 мая 2009 г., Новосибирск, Россия). – Новосибирск : ЦЭРИС, 2009. – С. 49–52.
2. Абелян, К. Е. Катаральная лихорадка овец (блютанг, синий язык) / К. Е. Абелян. – Ереван. – 2001. – 56 с.
3. Верховский, О. А. Иммуноферментный анализ для выявления антител к вирусу блютанга в сыворотке крови жвачных / О. А. Верховский, Т. И. Алипер // Ветеринария. – 2008. – № 12. – С. 7–10.
4. Матвеева, В. М. Разработка сэндвич-метода твердофазного иммуноферментного анализа для диагностики вируса гриппа А / В. М. Матвеева, Ж. К. Кошметов, А. Ж. Ажибаев и др. // Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина. – № 1. – Т. 52. – С. 164–171.
5. Стрижаков, А. А. Сэндвич-метод твердофазного иммуноферментного анализа на основе моноклональных антител для обнаружения антигенов вируса блютанга / А. А. Стрижаков, М. Б. Новикова, Б. Б. Куринов, А. В. Луницын // Сельскохозяйственная биология. – 2003. – № 4. – С. 114–120.
6. Таранов, Д. С. Определение оптимальных параметров культивирования вируса катаральной лихорадки овец / Д. С. Таранов, Е. О. Абдураимов, С. М. Мамадалиев, К. Д. Жугунисов, З. Д. Ершебулов // Биотехнология. Теория и практика. – 2010. – № 4. – С. 18–22.
7. [http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/A\\_00033.htm](http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/A_00033.htm)
8. Fantoni, V. Influenzamento del fluorocarbonio sull'attività patogena del virus MHV – 3 / V. Fantoni, E. Lakegas, V. Coto, F. Coraggio // Boll. Soc. Ital. Biol. sperim. – 1964. – Vol. 40. – № 11. – P. 556–557.
9. Sellers, R. F. Bluetongue and related diseases. In: Virus diseases of food animals / Ed. E. P. J. Gibbs. N. Y. : Academic Press Inc., 1981. – № 11. – P. 567–584.
10. Stott, J. L. Simple procedure for preparation of bluetongue virus and epizootic hemorrhagic disease virus antigens for agar gel immunodiffusion / J. L. Stott, B. J. Osburn // J. Clinical. Microbiol. – 1983. – № 18. – Vol. 6. – P. 1310–1313.

11. Studdert, M. J. Sensitivity of Bluetongue virus to ether and Sodium deoxyxolate // Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. – 1965. – Vol. 118. – № 4. – P. 1006–1009.

12. Jochim, M. M. Identification of BT and EHD viruses by immunofluorescence with monoclonal antibodies / M. M. Jochim, C. J. Suzzane // Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnost; 26th Ann. Proc. – 1983. – P. 277–286.

13. Osbum, B. The current world status of bluetongue / B. Osbum // Bovine-Practitioner, 1990. – № 25. – P. 12–14.

14. Pearson, J. E. Protocol for the immunodiffusion tests for bluetongue / J. E. Pearson, M. M. Jochim // Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnost; 22th Ann. Proc. – 1979. – P. 531–544.

15. Verwoerd, D. W. Purification and characterization of bluetongue virus / D. W. Verwoerd // Virology. – 1969. – Vol. 38. – № 2. – P. 203–212.

## АППАРАТ ДЛЯ ИМПУЛЬСНОЙ БИОСИНХРОНИЗИРОВАННОЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ТЕРАПИИ «УМИ-05»

На протяжении многих лет клиника БНПЦ ЧИН и Институт Ветеринарной Биологии (Санкт-Петербург) использует в своей практике уникальный прибор – генератор низкочастотного магнитного импульсного излучения большой мощности «УМИ-05» (ранее «УИМТ-2», «УИМТ-3»).

Данный прибор применяется для моно- или комплексной терапии целого ряда заболеваний, которые ранее считались неизлечимыми или очень тяжело поддавались лечению.

### Основные направления применения «УМИ-05»

- Заболевания мочевой системы: мочекаменная болезнь, пиелонефрит, поликистоз, цистит
- Желчекаменная болезнь
- Заболевания опорно-двигательного аппарата: остеохондроз позвоночника, дископатия, артрозо-артриты, бурсит, растяжение связок, ушибы, контрактуры суставов, миозит
- Купирование эпилептических приступов и эпилептического статуса
- Гипертензия
- Отит гнойный
- Отит аллергический

### Стандартный курс лечения

- 10 сеансов по 30-50 импульсов на одну патологическую область. Мощность 50–80 % . Курс можно повторить с перерывом в 10 дней.
- Профилактический курс для животных группы риска (остеохондроз, МКБ и пр.) – 7–10 сеансов с интервалом 6 месяцев.
- Применение прибора не вступает в противоречие с использованием фармакологических и хирургических методов лечения.
- Магнитотерапию не следует проводить на области тела, содержащей металлоконструкции (например, штифты или пластины для остеосинтеза).

### Экономика

- Быстрая окупаемость прибора.
- Минимальная затрата рабочего времени: длительность одного сеанса на одну патологическую зону – 2–3 минуты.
- Высокая эффективность лечения, полное излечение или введение животного в стойкую ремиссию по всем перечисленным заболеваниям гарантируют значительное увеличение рейтинга клиники в целом и приток новых клиентов.

**Стоимость прибора 17500 руб. Заказать УМИ-05 для ветеринарии можно по тел./факсу: (812) 232-55-92, 927-55-92; по e-mail: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru)  
Наш почтовый адрес: 196657, Санкт-Петербург, Колпино-7, а/я 36  
Сайт: [www.invetbio.spb.ru](http://www.invetbio.spb.ru)**



УДК 619:616.98:578:831.31:616-078

Ключевые слова: вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней, штамм «КПР», реакция нейтрализации, реакция микронеutralизации, сыворотка крови свиней

*Key words: porcine reproductive and respiratory syndrome virus, «KPR» strain, neutralization test, micro-neutralization test, porcine blood serum*

Пузанкова О. С., Гаврилова В. Л., Шевцов А. А., Баборенко Е. П., Кондакова Ж. С.

**ВЫЯВЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ РРСС С ПОМОЩЬЮ РМН**  
*DETECTION OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST PRRS VIRUS*  
*USING MICRONEUTRALIZATION TEST*

ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

Адрес: 600901, Владимирская область, г. Владимир, мкр. Юрьевец

*FGI «Federal Centre for Animal Health»*

*Address: Vladimirskaya region, Vladimir, mikrorayon Yuryevets*

Пузанкова Ольга Сергеевна, к.в.н., ст. научный сотрудник

*Puzankova Olga S., Ph.D. in Veterinary Science, Senior Research Scientist*

Гаврилова Вера Львовна, к.б.н., научный сотрудник

*Gavrilova Vera L., Ph.D. in Biology Science, Research Scientist*

Шевцов Александр Анатольевич, к.в.н., зав. лабораторией болезней свиней

*Shevtsov Alexander A., Ph.D. in Veterinary Science, Head of Laboratory for Porcine Diseases*

Баборенко Елена Павловна, к.б.н., ст. научный сотрудник

*Baborenko Yelena P., Ph.D. in Biology Science, Senior Research Scientist*

Кондакова Жанна Сергеевна, ведущий биолог / *Kondakova Zhanna S., Leading Biologist*

**Аннотация.** В статье приведены результаты разработки методических рекомендаций по выявлению антител к вирусу репродуктивно-респираторного синдрома свиней в реакции микронеutralизации с использованием перерываемой культуры клеток MARC-145 и вируса РРСС штамма «КПР» с титром 5,0 lg ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

**Summary.** *The paper presents the results of methodical instruction development for detection of antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome virus by microneutralization test using MARC-145 continuous cell culture and PRRS virus «KPR» strain with a titer of 5.0 lg TCD<sub>50</sub>/sm<sup>3</sup>.*

### Введение

Репродуктивно-респираторный синдром свиней (РРСС) характеризуется поздними абортами, преждевременными опоросами, прохолостами у свиноматок, рождением мертвых или нежизнеспособных, а также гибелью новорожденных поросят, поражением органов дыхания у свиней разных возрастных групп [6]. Заболевание наносит большой экономический ущерб в странах с развитым свиноводством, поэтому важно своевременно поставить диагноз и провести противоэпизоотические мероприятия.

Для обнаружения антител к вирусу РРСС в сыворотках крови свиней используют различные реакции, в том числе иммунопероксидазный метод анализа (ИПМА), непрямую реакцию иммунофлуоресценции (НРИФ), иммуноферментный анализ (ИФА) [1, 6]. Эти реакции сложны и требуют использования импортных компонентов. Реакция ней-

трализации (РН) и ее модификация (реакция микронеutralизации, РМН) также используются для серологической диагностики РРСС и ставятся с компонентами, полученными в условиях лаборатории. Однако литературные данные говорят о том, что эта реакция недостаточно чувствительна [5, 7].

Целью настоящей работы являлась модификация реакции нейтрализации с использованием монослоя клеток перерываемой культуры клеток MARC-145, выращенной в лунках микропланшетов, а также повышение чувствительности РМН за счет добавления к смеси вирус-сыворотка инактивированной негативной сыворотки крови свиней.

### Материалы и методы

Вирус. Для разработки РМН использовали вирус РРСС, штамм «КПР», полученный из сывороток крови, отобранных от абортировавших свиноматок, доставленных из кол-

хоза «Победа» Ленинск-Кузнецкого района Кемеровской области в 1996 г., серийными последовательными пассажами на 3-суточной перевиваемой культуре клеток MARC-145. Титр вируса РРСС, штамм «КПР», 7 пассажа в перевиваемой культуре клеток MARC-145 составлял  $5,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ . Штамм «КПР» вируса РРСС был депонирован во Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов (ФГУ «ВГНКИ»), используемых в ветеринарии и животноводстве, и предложен в качестве производственного.

Сыворотки крови свиней. При разработке РМН в качестве референтных позитивных сывороток использовали сыворотки крови свиней, иммунизированных вакциной против РРСС, с титрами не ниже  $5,0 \log_2$ . В качестве негативных сывороток использовали сыворотки крови свиней, полученные из благополучных по РРСС хозяйств. Сыворотки крови свиней в нативном виде хранили при температуре не выше  $-20^\circ\text{C}$ .

Все референтные и исследуемые сыворотки крови свиней разводили питательной средой Игла в соотношении 1 : 2 и инактивировали в водяной бане при температуре  $58^\circ\text{C}$  в течение 30 минут. Данные сыворотки крови свиней в необходимом объеме использовали для постановки реакции микронеутрализации, а остаточный объем разведений сывороток крови помещали на хранение в течение 10–15 дней (срок наблюдения) в холодильник при температуре  $+4^\circ\text{C}$  с целью визуального контроля на стерильность.

Культура клеток и питательная среда. Для культивирования вируса РРСС использовали перевиваемую культуру клеток MARC-145 (клон перевиваемой культуры клеток почки зеленой мартышки МА-104), поддерживающую питательную среду Игла, содержащую 30 мМ Нерес буферного раствора с pH 7,6; 10 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота (КРС) и антибиотики: гентамицин –  $50 \text{ мкг}/\text{см}^3$ , амфотерицин –  $2,5 \text{ мкг}/\text{см}^3$ .

Титрование вируса РРСС и приготовление рабочей дозы вируса. Вирус РРСС титровали на культуре клеток MARC-145, выращенной в лунках планшетов. Для этого предварительно в стерильных пенициллиновых фла-

конах готовили 10-кратные разведения вирусосодержащего материала (от  $10^{-1}$  до  $10^{-7}$ ). Из каждой лунки планшета с выросшим монослоем удаляли по  $0,1 \text{ см}^3$  среды и вносили подготовленные разведения вируса, начиная с наивысшего, по  $0,1 \text{ см}^3$ . Планшет закрывали крышкой, помещали в  $\text{CO}_2$ -инкубатор с содержанием 5 %  $\text{CO}_2$  при температуре  $37^\circ\text{C}$  и вели наблюдения с использованием инвертируемого микроскопа в течение 72–144 часов. Заключительный учет результатов титрования вируса проводили через 144 часа инкубирования при условии сохранения целостности монослоя клеток в контрольных лунках.

На основании результатов предварительного титрования готовили рабочие разведения вируса РРСС с целью определения оптимальной рабочей дозы вируса ( $100 \div 300 \text{ ТЦД}_{50}$ ).

Титрование сывороток крови свиней. Титрование референтных сывороток крови свиней проводили против доз вируса 100, 200, 300  $\text{ТЦД}_{50}$  на 3 планшетах, то есть с каждой дозой вируса ставили РМН в отдельном планшете. Для этого во все лунки планшета вносили по  $0,05 \text{ см}^3$  среды, а затем, используя 12-канальную пипетку, вносили в лунки ряда А по  $0,05 \text{ см}^3$  референтной сыворотки крови свиней. Потом, без смены наконечников, перемешивали содержимое лунки и переносили по  $0,05 \text{ см}^3$  от ряда А до ряда Н, готовя тем самым серийные 2-кратные разведения сывороток крови свиней. На заключительном этапе приготовления разведений из последнего ряда удаляли по  $0,05 \text{ см}^3$ .

Постановка реакции микронеутрализации. Методические рекомендации были составлены с учетом рекомендаций МЭБ по титрованию вируса РРСС с использованием микропланшетов (OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2010) [6]. Общий объем всех компонентов при постановке реакции микронеутрализации составлял  $0,15 \text{ см}^3/\text{лунку}$ .

Для постановки РМН отбирали планшеты с равномерно выросшим монослоем культуры клеток MARC-145. Из каждой лунки отбирали по  $0,1 \text{ см}^3$  культуральной среды и взамен этого вносили по  $0,1 \text{ см}^3$  смеси сы-

воротка-вирус из других планшетов, взятых после 1-часового контакта. Планшеты инкубировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре 37 °С в течение 72–144 часов.

Микроскопию монослоя клеток в лунках планшетов вели ежедневно в течение 6–7 дней, просматривая их под инвертируемым микроскопом, регистрируя лунки с выраженным ЦПД вируса и/или лунки с цельным неповрежденным монослоем клеток.

### Результаты исследований и обсуждение

При данных исследованиях РМН ставили с использованием монослоя перевиваемой культуры клеток MARC-145, а не суспензии, так как в этом случае получали нечеткие результаты реакции (адгезивные свойства инфицированных клеток нарушались, поэтому не наблюдали формирования сплошного монослоя клеток во всех лунках микропланшетов).

Исследуя влияние различных посевных концентраций перевиваемой культуры клеток MARC-145 на скорость и качество формирования монослоя клеток, начиная с концентрации 0,05–0,10×10<sup>5</sup> кл/см<sup>3</sup> и заканчивая 0,4–0,15×10<sup>5</sup> кл/см<sup>3</sup>, определили оптимальную посевную концентрацию, которая составляла 0,1–0,15×10<sup>5</sup> кл/см<sup>3</sup>. Клетки выращивали в лунках микропланшетов в CO<sub>2</sub>-инкубаторе с содержанием 5 % CO<sub>2</sub> при температуре 37 °С. Через 48 часов инкубирования в лунках планшетов формировался однородный монослой клеток. Выращенный монослой клеток сохранял свою структуру в течение не менее 7 суток (срок наблюдения).

На этапе эксперимента при определении оптимальной рабочей дозы вируса, необходимой для постановки реакции микронеутрализации, получили следующие результаты (табл. 1).

Из данных таблицы 1 видно, что показатели титров антител мало зависели от взятой дозы вируса. При исследовании негативных сывороток крови свиней в РМН, при использовании рабочих доз вируса 100÷300 ТЦД<sub>50</sub>, во всех случаях получали отрицательные результаты.

Однако наиболее оптимальной являлась рабочая доза вируса в пределах 200÷300 ТЦД<sub>50</sub>. Подобные результаты были получены Шемельковым Е. В. в 1997 году [2], поэтому при дальнейших исследованиях РМН ставили против 200 ТЦД<sub>50</sub> рабочих доз вируса.

Добавление во флаконы с рабочими дозами вируса в питательную среду серонегативной сыворотки крови свиней (20 %) позволяло усилить чувствительность реакции, что подтверждается исследованиями других авторов [6, 7]. Подготовленные разведения вируса вносили во все лунки, намеченные для данной дозы вируса, используя для этого 4-канальную пипетку. Объем вносимого вируса составлял 0,05 см<sup>3</sup>. Планшет накрывали крышечкой, которую фиксировали с помощью скотча, и помещали на контакт на один час в CO<sub>2</sub>-инкубатор при температуре 37 °С.

На следующем этапе исследования реакцию микронеутрализации разрабатывали в 2-х вариантах: развернутом и точечном.

В результате проведенной работы выяснили, что при исследовании предположительно негативных сывороток крови свиней или при скрининге положительно реагирующих животных использование «4-точечного теста», где сыворотки проверяют только в 2-х разведениях: 1 : 2 и 1 : 4, позволяет за короткий срок исследовать большое количество проб сывороток крови свиней. При этом тесте на одном планшете можно исследовать 24 сыворотки крови свиней. В случае исследования предположительно позитивных сывороток

Таблица 1.

### Результаты исследования референтных сывороток крови свиней в реакции микронеутрализации с различными дозами вируса

Сыворотки крови свиней	Титры антител (log <sub>2</sub> ) при различных дозах вируса		
	100 ТЦД <sub>50</sub>	200 ТЦД <sub>50</sub>	300 ТЦД <sub>50</sub>
Позитивные	5,25	5,5	5,5
Негативные	<2,0	<2,0	<2,0

Таблица 2.

**Результаты исследований на специфичность в РМН сывороток крови различных животных на наличие антител против вируса РРСС**

Сыворотки крови животных, вакцинированных против следующих инфекций	Количество проб	Вид животных	Результат исследования в РМН ( $\log_2$ )
ИТР	13	КРС	<1,0
ВД	11	КРС	<1,0
БА	11	свиньи	<1,0
ПВИС	11	свиньи	<1,0
ТГЭС	12	кролик	<1,0
КЧС	14	свиньи	<1,0

Таблица 3.

**Результаты по исследованию сывороток крови животных, вакцинированных против РРСС, в различных серологических реакциях**

Номера животных	Результаты исследования в	
	РМН ( $\log_2$ )	ИФА (IDEXX) США
1	4,5	0,57
2	5,0	0,93
3	6,5	1,9
4	6,0	1,0
5	6,5	0,9
6	<1,0	0,07
7	<1,0	0,07
8	<1,0	1,6
9	<1,0	0,02
10	<1,0	0,01

Примечание: РМН:  $\geq 1,0 \log_2$  – антитела обнаружены (результат положительный),  $< 1,0 \log_2$  – антитела не обнаружены (результат отрицательный); ИФА:  $\geq 0,4$  – антитела обнаружены (результат положительный),  $< 0,3$  – антитела не обнаружены (результат отрицательный).

крови от переболевших животных, а также для количественной оценки иммунитета против РРСС необходимо использовать развернутую постановку РМН, при которой на 1 планшете можно исследовать только 12 сывороток крови в 4-х разведениях или 6 сывороток крови свиней в 8 разведениях.

С целью оценки специфичности разработанной модификации реакции микронейтрализации исследовали сыворотки крови свиней и кроликов, вакцинированных против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ), вирусной диареи крупного рогатого скота (ВД), болезни Ауески (БА), трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГЭС), парвовирусной инфекции свиней (ПВИС), классической чумы свиней (КЧС). Результаты проведенных исследований пред-

ставлены в таблице 2. Как видно из таблицы 2, в пробах сывороток крови, отобранных от животных, вакцинированных против выше обозначенных инфекций, в РМН антител к вирусу РРСС не выявлено.

С целью оценки сопоставимости двух методов результаты исследований, полученных в РМН, сравнивали с результатами, полученными в ИФА (табл. 3). Из данных таблицы 3 видно, что из 10 исследованных проб в РМН 5 проб оценены как положительные и 5 как отрицательные, в ИФА – 6 положительные и 4 отрицательные.

В дальнейшем сравнивали коэффициент корреляции, исходя из условных обозначений: «положительный» и «отрицательный» результат. Коэффициент корреляции оказался равен 0,81, что свидетельствовало о том,

что результаты, полученные в разработанной РМН и стандартном ИФА, сопоставимы между собой. Коэффициент корреляции, полученный при сравнении результатов исследования 300 сывороток крови свиней, отобранных от вакцинированных или больных РРСС животных, был меньше, чем в описанном выше опыте, так как в реакции нейтрализации наличие вируснейтрализующих антител можно определить не ранее, чем через 1,5 месяца после внедрения вируса в организм [3, 7].

Впоследствии в РМН были исследованы 649 проб полевых сывороток крови свиней, в том числе вакцинированных против РРСС (в различные сроки после вакцинации) из 17 хозяйств Белгородской, Кировской, Московской, Смоленской, Тверской, Костромской и Нижегородской областей. Антитела против вируса РРСС были обнаружены в 150 образцах сывороток крови свиней в пределах от 1,0 до 5,0  $\log_2$ .

Проведенное исследование подтвердило мнение большинства авторов, что вируснейтрализующие антитела образуются в крови свиней, вакцинированных против РРСС, не ранее чем через 36–90 дней после прививки [1, 2, 4, 5, 7].

Из литературных данных известно, что положительными на РРСС считаются разведения сывороток крови свиней начиная с разведения 1 : 2 и выше ( $\geq 1,0 \log_2$ ), а отрицательными – менее 1 : 2 ( $< 1,0 \log_2$ ) [3]. Следовательно, титры вируснейтрализующих антител против вируса РРСС в значениях  $\geq 1,0 \log_2$  считают диагностически значимыми.

В РМН выявляют вируснейтрализующие антитела к вирусу РРСС у естественно инфицированных животных в невысоких титрах: 1  $\log_2$ , 2–3  $\log_2$  и  $\geq 4,0 \log_2$ . В то же время принято считать, что животные являются защищенными от виремии при наличии в их сыворотках крови вируснейтрализующих антител в титрах не ниже 3,0  $\log_2$  [4].

Таким образом, при помощи РМН возможно проведение оценки напряженности иммунитета. Выявление вируснейтрализующих антител в сыворотках крови вакцинированных против РРСС свиней с титрами, превышающими уровень 3,0  $\log_2$ , свидетель-

ствует о протективных свойствах исследуемых вакцин [3, 6].

Разработанные методические рекомендации позволяют одному исследователю в течение рабочего дня при помощи «точечного» варианта РМН исследовать на наличие антител к вирусу РРСС не менее 100 проб испытуемых сывороток крови свиней.

## Заключение

1. В результате проведенных исследований были разработаны «Методические рекомендации по выявлению антител к вирусу репродуктивно-респираторного синдрома свиней в реакции микронейтрализации».

2. Подобрана оптимальная посевная концентрация культуры клеток MARC-145, которая равна  $0,1 \div 0,15 \times 10^3$  кл/см<sup>3</sup>.

3. Рекомендована постановка РМН с рабочей дозой вируса с титром 200 ТЦД<sub>50</sub>.

4. Получены лучшие результаты при постановке РМН с использованием монослоя культуры клеток MARC-145, а не суспензии.

5. Для повышения чувствительности реакции микронейтрализации целесообразно добавление 20 % негативной к вирусу РРСС инактивированной сыворотки крови свиней к рабочей дозе вируса.

## Список литературы

1. Гаврилова, В. Л. Выделение и культивирование вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней для изготовления диагностических и вакцинных препаратов : дис. ... канд. биол. Наук / Гаврилова В. Л. – Владимир, 2007. – С. 6, 29–35, 101–105.
2. Шемельков, Е. В. Влияние различных типов адьювантов на эффективность вакцин против инфекционных болезней свиней : дис. ... канд. вет. наук / Шемельков Е. В. – М., 2010. – С. 65.
3. Chung, W. B. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in intensive farrow-to-finish pig herds / W. B. Chung, M. W. Lin, W. F. Chang et al. // Can. J. Vet. Res. – 1997. – Vol. 61, № 4. – P. 292–298.
4. Diaz, I. Different European-type vaccines against porcine reproductive and have different immunological properties and counter different protection to pigs / I. Diaz, L. Darwich, G. Pappaterra et al. // Virology. – 2006. – Vol. 351. – P. 249–250.
5. Lopez, O. J. Protection against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection through passive transfer of PRRSV-neutralizing antibodies is dose dependent / O. J. Lopez, M. F. Oliveira, E. A. Garcia et al. //

Clin. Vaccine Immunol. – 2007. – Vol. 14, № 3. – P. 269–275.

6. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2010. – Vol. 2. – 7nd ed. – Paris, 2010. – Chap. 2.8.7. – P. 1116–1127.

7. Yoon, I. J. A modified serum neutralization test for the detection of antibody to porcine reproductive syndrome virus in swine sera / I. J. Yoon, H. S. Joo, S. M. Goyai, T. W. Molitor // J. Vet. Diagn. Invest. – 1994. – Vol. 6, № 3. – P. 289–292.



## ТРЕТИЙ СЪЕЗД ВЕТЕРИНАРНЫХ ФАРМАКОЛОГОВ И ТОКСИКОЛОГОВ РОССИИ

**Дата и место проведения:** 8–10 июня 2011 г., Санкт-Петербург, бизнес-центр «Буржуа»

### Условия участия

Для участия в работе съезда необходимо до 20 апреля 2011 года прислать в адрес оргкомитета заявку, оформленную по прилагаемой форме, и текст статьи для публикации в материалах съезда, объемом не более 3-х печатных листов. Документы принимаются в электронном виде с использованием компьютерной программы MicrosoftWord. Шрифт TimesNewRoman, кегль – 12, через полтора интервала, без отступов, таблиц и рисунков. Поля со всех сторон листа по 2 см. Название файла – фамилия автора и название статьи. Название: полужирным, строчными буквами. Авторы: фамилия, инициалы. Место работы: название учреждения.

Сокращения допускаются по ходу изложения материала с однократной расшифровкой.

Если речь идет о лекарственном средстве, обязательно указывать его состав (для комплексных препаратов), дозы и схемы изложения материала с однократной дозой применения.

- 1) статья в отдельном файле;
- 2) заявка участника в отдельном файле.

### ОФОРМЛЕНИЕ ЗАЯВКИ УЧАСТНИКА

Фамилия	
Имя	
Отчество	
Должность, ученое звание	
Организация	
Почтовый адрес (домашний)	
Телефон сотовый (обязательно)	
Факс	
e-mail	
Название доклада/статьи	
Форма участия (подчеркнуть)	очная/заочная
Необходимо место проживания в 1. общежитии 2. гостинице	отметить
Необходимые технические средства	

### ОРГАНИЗАТОРЫ СЪЕЗДА

- Департамент научно-технологической политики и образования Министерства сельского хозяйства Российской Федерации
- Российская академия сельскохозяйственных наук
- ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»
- ГНУ «ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии»
- ФГУ «ФЦРТБ» – ВНИВИ
- «Росветкормсоюз»
- ЗАО «АгроВетКонсалтинг»

### ОРГКОМИТЕТ СЪЕЗДА

**E-mail:** farm07@mail.ru. **Тел.** +7 812 387-11-58. **Адрес:** 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, ВГОУ ВПО «СПбГАВМ», кафедра фармакологии и токсикологии  
**Ответственный секретарь съезда:** Попова Ольга Сергеевна

*Компания «АгроВетКонсалтинг» рада сообщить, что она получила право быть одним из организаторов съезда! Приглашаем к сотрудничеству в рамках проведения Съезда коммерческие организации. Контактное лицо: Елена Егорова, тел. +7 495 742 95 45 / 742 84 83, elena@agrovetconsult.com*



# Royal Canin –

лучшее начало жизни!



Программа  
Рождение  
и Рост



▶ [www.royal-canin.ru](http://www.royal-canin.ru)

Круглосуточная горячая линия :

▶ 8-800-200-37-35

(для всех регионов России звонок бесплатный)



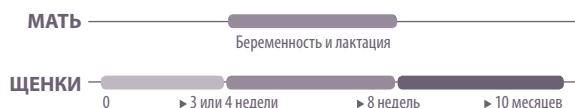
## Питание в важнейшие периоды жизни

Компания Royal Canin создала идеальную программу, которая защищает суку и щенков в важнейший период: до родов и в первые месяцы жизни.

Наши диетологические решения помогут вашей собаке чувствовать себя в отличной форме и заложат основы здоровья щенка.

Мы готовы постоянно сопровождать вас в этот ответственный период: зарегистрируйтесь на сайте [www.royal-canin.ru](http://www.royal-canin.ru) и создайте электронную книгу здоровья вашей собаки.

Программа питания выпускается для собак мелких, средних, крупных и очень крупных размеров, а также для собак определенных пород.



  
**ROYAL CANIN**

# XX МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА ТОВАРОВ И УСЛУГ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ



u fi



## 23-26 ноября

Санкт-Петербург, ЛЕНЭКСПО

+7 812 321 2875/76, +7 921 334 0854

s.hansen@lenexpo.ru

[www.zoosphere.lenexpo.ru](http://www.zoosphere.lenexpo.ru)

 **Ленэкспо** С.-Петербург

# ЗООСФЕРА



**С 24 по 26 ноября 2010 г. в Москве проводилась VII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика – 2010», организованная Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора и Национальным научным обществом инфекционистов.**

Применению новых диагностических технологий для выявления инфекционных болезней животных и анализа кормов была посвящена специальная секция. Представленные участниками доклады продемонстрировали, что в практику ветеринарии и сельское хозяйство активно внедряются самые современные методы лабораторной технологии и, в первую очередь, молекулярно-биологические методы (ПЦР – полимеразно-цепная реакция, секвенирование). Эти методы

позволяют оперативно и качественно выявлять возбудителей инфекционных заболеваний в различных биологических образцах, окружающей среде и корме для животных.

Метод ПЦР сейчас активно внедряется в практическую ветеринарию. Особенно большое развитие он получил с 2005 года, когда потребовалось проводить эпидемиологический контроль над распространением вируса гриппа типа А (подтипа H5N1), известного как «вирус птичьего гриппа». Количество ветеринарных лабораторий, использующих ПЦР, выросло почти в три раза. Общий объем ПЦР исследований, выполняемых ими, составляет в настоящее время более 220 тыс. тестов в год.

Молекулярная диагностика в настоящее время является одним из наиболее активно развивающихся направлений в выявлении и изучении инфекционных агентов человека и животных, а также определении генетических причин в патогенезе различных заболеваний. Конференция «Молекулярная диагностика» проводится один раз в три года и является наиболее крупным и представительным форумом России, который посвящен вопросам применения современных диагностических технологий в медицине, эпидемиологии, ветеринарии, судебной медицине, научных исследованиях.

Секция «Технологии выявления инфекционных болезней животных», которая прошла в рамках конференции «Молекулярная диагностика» под председательством Игоря Леонидовича Обухова, профессора, доктора биологических наук, и Татьяны Станиславовны Астаховой, к.б.н., научного сотрудника ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, вызвала большой интерес специалистов, работающих в различных областях практической ветеринарии. В фокусе внимания участников были доклады, отражающие конкретные проблемы диагностики бактериальных и вирусных заболеваний животных. На конференции были представлены разработанные отечественными учеными методы выявления патогенов скота, птиц и домашних животных.

Открыл заседание секции доклад А. Д. Забережного, д.б.н., профессора, зав. лабораторией прикладной вирусологии сотрудника НИИ Вирусологии им. Д. И. Ивановского, посвященный обзору перспективных направлений развития ветеринарной диагностики. Автор отметил, что сегодняшние проблемы инфекционной патологии в животноводстве (заболевания неясной этиологии, смешанные инфекции, заболевания, связанные с нарушением иммунитета, изменчивые и возвращающиеся инфекции, контроль вакцинации) невозможно решить без точных и достоверных современных методов диагностики. Моноклональные антитела и рекомбинантные антигены позволяют проводить серодиагностику инфекционных процессов методом ИФА не только в крови больных животных, но в других биоматериалах. Особое значение имеют молекулярные методы. В докладе были продемонстрированы новые технологии молекулярной диагностики как на основе классического ПЦР анализа, так и при помощи более развитых технологий: ПЦР в режиме «реального времени», ПЦР с изотермальной амплификацией, секвенирование, мультиплексный анализ на биочипах, генотипирование инфекционных агентов методом секвенирования.

Доклад Т. В. Гребенниковой, д.б.н., зав. лабораторией молекулярной диагностики ФГУ «НИИ Вирусологии им. Д. И. Ивановского» Минздравсоцразвития России также был посвящен использованию методов молекулярной диагностики в определении патогенов человека и животных. Автор привел конкретные примеры того, как молекулярные технологии, используемые ранее для научных целей (секвенирование, ультраточувствительный ПЦР-анализ, «обратная генетика»), быстро внедряются в практику, так как позволяют получать важные результаты (выявлять новые инфекционные агенты и вариации их генотипов, определять пути переноса инфекции, в том числе и возбудителей животных, опасных для человека, быстро разрабатывать эффективные диагностические системы. В первой части доклада был описан опыт изучения нового вирусного заболевания – вирусного репродуктивно-респираторного синдрома свиней (РРСС), открытого сравнительно недавно. Молекулярные методы позволили определить структуру возбудителя, его генотипы и субтипы, пути передачи, эволюцию распространения, динамику заболевания, а также в короткие сроки разработать эффективные ПЦР- и ИФА методы его диагностики. Следующий пример, приведенный в докладе, был посвящен возможностям применения молекулярных методов для изучения новых путей передачи вирусов, передающихся аэрозольным путем. Высокая чувствительность этих методов позволила выявить возможность сохранения и переноса вирусов птиц при помощи аэрозоля над морской поверхностью, содержащего кроме паров воды частицы биопленок и планктона. Российскими учеными было показано, что этот путь может быть опасен для распространения при определенных условиях вируса птичьего гриппа.

Несколько других докладов, сделанных на секции «Технологии выявления инфекционных болезней животных» были посвящены очень важной для сельского хозяйства России проблеме массовой заболеваемости вирусными и бактериальными инфекциями поголовья свиней. Развитие свиноводства в России привело к широкому распространению заболеваний, ранее не встречавшихся в нашей стране. Инфекции приводят к массовой заболеваемости и падежу, особенно среди молодняка, и большим экономическим потерям. Учитывая важность вопроса, на базе ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора был разработан целый ряд тест-систем ПЦР-анализа вирусных заболеваний свиней. Результаты апробации этих тест-систем были представлены в докладах сотрудников института Козловой А. Д. и Астаховой Т. С.

Тест-система для выявления цирковируса свиней 2 типа разработана и уже апробирована в практических условиях. Цирковирус свиней 2-го типа (ЦВС-2), выделенный впервые в 1991 году, является основной причиной синдрома мультисистемного истощения поросят-отъемышей. Вирус часто участвует в мультисистемных инфекциях. Возникновению данного комплекса заболеваний способствует развитие смешанных инфекций ЦВС-2 с другими патогенами вирусной и бактериальной природы, такими как, например, вирус РРСС, парвовирус свиней. Поэтому также разработаны и апробированы на клиническом материале тест-системы для выявления и дифференциации генотипов вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней

(РРСС) и для обнаружения парвовируса свиней. Метод ПЦР в режиме «реального времени» позволяет обнаруживать возбудителей в различном биологическом материале и на разных стадиях заболевания.

Сразу три новые ПЦР тест-системы разработаны для выявления вирусных возбудителей желудочно-кишечных болезней свиней – трансмиссивного гастроэнтерита (тест-система «ТГЭС»), эпидемической диареи (тест-система «ЭДС») и ротавирусной инфекции (тест-система «Рота-вир»). В них используется эффективный метод полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Тест-системы предназначены для расшифровки этиологии возникновения вспышек желудочно-кишечных заболеваний в хозяйстве.

Вопросу генодиагностики африканской чумы свиней (АЧС) был посвящен доклад А. Г. Шендрик, сотрудника ГНУ Всероссийского НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии (г. Покров). АЧС является высококонтагиозной инфекцией, относящейся к списку «А» по классификации МЭБ. Появление и распространение АЧС в РФ стало серьезной угрозой для свиноводческой отрасли в южных регионах страны. Болезнь наносит большой экономический ущерб, обусловленный прежде всего высокой смертностью среди восприимчивого поголовья, а также тотальным запретом на импорт свиноводческой продукции и огромными затратами на ликвидацию инфекции. Ликвидацию вспышки сильно затрудняет высокая стабильность вируса во внешней среде. Было доложено об успешном применении во ВНИИВВиМ метода ПЦР для обнаружения ДНК вируса АЧС в различных видах биологического материала. Метод обладает высокой чувствительностью и может быть рекомендован для широкого применения в исследованиях по мониторингу африканской чумы свиней для своевременной локализации очагов ее распространения.

Помимо вопросов технологий выявления инфекционных болезней животных, на конференции «Молекулярная Диагностика – 2010» также обсуждались другие направления развития современных методов диагностики, как то:

- технологии медицинской генетической диагностики;
- молекулярные технологии в диагностике инфекционных болезней;
- био-безопасность;
- безопасность продуктов питания;
- молекулярно-диагностические технологии в судебной медицине и криминалистике;
- алгоритмы использования современных лабораторных методов в клинической практике;
- новые направления молекулярной биологии и геномной инженерии в лабораторной диагностике.

Стоит отметить, что также в этом году впервые в программу конференции вошли секции, посвященные использованию в клинической практике методов секвенирования следующего поколения. Разработку этих методов ученые считают революционным событием в биологии и медицине, так как с их помощью в ближайшие 2 года информация о полном геноме человека станет доступна в клинической практике.

За 3 дня работы конференции ее посетили более 1500 участников из всех регионов России и зарубежных стран – Украины, Беларуси, Казахстана, Азербайджана, Латвии и др. Также свое участие подтвердили ученые из США, Австрии, Англии, Франции, Швеции, Норвегии, Нидерландов, Финляндии и Германии.

*Более подробная информация о конференции – на сайте [www.md2010.org](http://www.md2010.org).*

*За дополнительной информацией о конференции «Молекулярная диагностика – 2010» обращайтесь, пожалуйста, к Кристине Ничипуренко, агентство «Лофт Студио», +7 (495) 542-02-70, +7 (919) 775-70-25, e-mail: [2media@loft-studio.ru](mailto:2media@loft-studio.ru).*



15 февраля 2011 года состоялась ланч-презентация, посвященная продукции итальянской компании SanyPet. Инициатором презентации выступила одна из крупнейших российских оптовых компаний в сфере зообизнеса – компания «Сорсо-СТР», которая является эксклюзивным дистрибьютором SanyPet в России. SanyPet специализируется на разработке и производстве диетических, ветеринарных и повседневных кормов суперпремиум-класса на основе морской рыбы и альтернативных источников животных белков для собак и кошек. Организатором ланч-презентации выступила компания «АгроВетКонсалтинг».

На презентацию были приглашены главные ветеринарные врачи, заведующие отделениями, генеральные директора и частнопрактикующие ветеринарные специалисты Москвы и Московской области. Мероприятие прошло в уютном зале ресторана «Филимонова и Янкель».

Гости мероприятия смогли насладиться вкусным обедом, пообщаться с коллегами, а также поучаствовать в розыгрыше призов. Кстати, призы привез накануне из Италии лично генеральный директор SanyPet Тициано Паппагалли. Тициано выступил перед гостями с невероятно интересным докладом: помимо того, что он является генеральным директором крупной итальянской компании по производству кормов, он также имеет образование ветеринарного врача. Поэтому у лектора с гостями получился очень интересный диалог. Коммерческий директор по рынкам восточной Европы и переводчик Татьяна Теляшова помогала коллегам из России и Италии понять друг друга.

После синьора Паппагалли выступил Владимир Руппель – ветеринарный врач-дерматолог из клиники неврологии, травматологии и интенсивной терапии В. В. Сотникова (Санкт-Петербург). Он рассказал о часто встречающихся патологиях при неправильном кормлении животных и при кормлении неподходящими кормами. Ветеринарный специалист смог доходчиво объяснить коллегам необходимость появления на большом рынке готовых кормов нового, не похожего на остальные, корма на основе морской рыбы – Forza10 от компании SanyPet.

Нужно отметить, что хотя тематический обед (итальянские блюда и морская рыба) представлял из себя прекрасное сочетание вкуса и ароматов, гости с большим вниманием слушали докладчиков. Доказательством послужило то, что по окончании презентации докладчиков не отпускали еще около часа, задавая им вопросы, касающиеся презентации. Такое внимание гостей всегда очень приятно и означает большую заинтересованность врачей в подходах к новинкам кормления и лечения посредством кормов своих пациентов.

Инновационный формат мероприятия – ланч-презентация – очень понравился гостям. Как правило, презентации новых линеек и новых брендов ветеринарным врачам проходят в конференц-залах по классической схеме: презентация + кофе-брейк. Здесь же все было по-другому. Во-первых, SanyPet и «Сорсо-СТР» доверили организацию мероприятия компании, имеющей восьмилетний стаж организации семинаров для ветеринарных специалистов – ЗАО «АгроВетКонсалтинг». Во-вторых, гостей пригласили в прекрасный рыбный ресторан и во время презентации вкусно кормили. В-третьих, руководство итальянской компании лично позаботилось о том, чтобы гостям достались памятные сувениры – господин Паппагалли вез их из Венеции и собственноручно проводил розыгрыш призов. Видя такое внимание к ветеринарным специалистам, можно сделать вывод, что у итальянского и российского партнеров самые серьезные намерения относительно продвижения бренда SanyPet/Forza10.

*Кстати:* для генерального директора SanyPet это не первый визит в Россию. В октябре 2010 года компания «Сорсо-СТР» представляла SanyPet на Сочинском Ветеринарном Фестивале. Тогда во время краткой, но эмоциональной и буквально искрящейся энергией презентации господин Паппагалли пообещал гостям Фестиваля, приехавшим со всей России, что «в этой стране скоро про компанию SanyPet узнают все». Похоже, SanyPet с помощью эксклюзивного дистрибьютора «Сорсо-СТР» последовательно воплощает в жизнь эту маркетинговую стратегию. Руководство обеих компаний – итальянского производителя и российского оптовика – подтверждает, что SanyPet расценивает Россию как перспективный и быстрорастущий рынок сбыта.

Своими впечатлениями от презентации поделились гости мероприятия:

*«Все отлично, пускай на вас равняются другие компании, мне все очень понравилось»* – Герстенторф А. В. (Ветеринарная клиника доктора Герстенторфа)

*«Мне все очень понравилось. Перевод был на очень достойном уровне, что сейчас бывает очень редко, большое всем спасибо за то, что пригласили!»* – Вельтищева Е. (ИП, ветеринарный врач)

*«Презентация прошла скромно, но со вкусом, не тяжело для восприятия, именно так и должны проходить такого рода презентации»* – Логинов Н. В. (Ветеринарная клиника доктора Логинова)

*«Мне все очень понравилось, очень хорошая организация, я узнала о новой продукции в питании животных, этого не хватало на огромном рынке кормов. Мне очень понравились докладчики, особенно обаятелен был Тициано!»* – Матвеева М. В. (МГУПБ, ветеринарный врач)

*«Все было очень хорошо, одни положительные эмоции. Теперь буду рекомендовать только этот корм»* – Скрипка О. В. (ветеринарный врач, клиника «Багира»)

*«Очень все понравилось, узнали много полезной информации про новый корм, презентация получилась очень информативной, в целом было радостно и хорошо. Спасибо»* – Фридман А. О. (ветеринарный врач, ООО «Ахилл»)



**18 февраля в Москве, в выставочном комплексе «Крокус Экспо», начала свою работу международная конференция для практикующих ветеринарных врачей «ПрактиВет 2011».** Открывая конференцию, президент выставочной компании «Асти Групп» Наринэ Багманян выразила уверенность в том, что практика

проведения подобных мероприятий с приглашением ведущих практикующих ветеринарных врачей с мировым именем позволит российским специалистам набраться опыта, получить практические консультации по различным видам заболевания, диагностики и лечения домашних животных. А организаторы, со своей стороны, постарались создать наиболее комфортные условия на все два дня проведения конференции и обеспечить ее участников всеми необходимыми для работы материалами.

Модератор конференции доктор Саймон Голдман в приветственном слове подчеркнул, что международный опыт и практические советы ведущих специалистов ветеринарной медицины очень важны для России и, судя по откликам участников предыдущих конференций, уже с успехом применяются в практике ряда российских ветеринарных клиник.

Секционное заседание по хирургии открыл доктор Пьер Барро, европейский специалист по хирургии, вице-президент Французской ветеринарной ассоциации AFVAC-Nord.

В своем докладе доктор Пьер Барро подробно остановился на широко распространенной у кошек и собак болезни: брахицефальный синдром дыхательных путей. Она характеризуется хронической непроходимостью дыхательных путей, связанной с особым строением ноздрей, носовых ходов, мягкого неба и иногда гортани у этих пород, что в некоторых случаях приводит даже к желудочно-кишечным заболеваниям. Хирургическое вмешательство часто улучшает состояние пациента, корректируя анатомию верхних дыхательных путей.

Далее был рассмотрен в качестве примера ларингеальный паралич, который может быть как врожденным, так и приобретенным заболеванием, и характеризуется отсутствием приведения черпаловидного хряща в инспираторной фазе дыхания. Ларингеальный паралич бывает одно- и двусторонним. Хирургическое вмешательство назначается, когда клинические симптомы, в основном снижение переносимости физической нагрузки, становятся настолько серьезными, что могут привести к респираторному дистресс-синдрому. Как правило, хирургическое вмешательство заключается в увеличении дыхательных путей с помощью односторонней латерализации черпаловидного хряща.

Вентральная ринотомия: описано несколько подходов к носовой полости и лобной пазухе. На практике продолжает применяться классический дорсальный подход, при котором удаляется костный фрагмент одной или обеих носовых костей. Как альтернатива предлагается вентральный подход к носовой полости, отличительные особенности которого: более приемлемые косметические результаты, менее инвазивный метод лечения, меньше осложнений.

Промежностная грыжа: представляет собой дефект диафрагмы таза, что приводит к неспособности диафрагмы поддерживать органы таза в их нормальном положении. В первую очередь, это заболевание встречается у взрослых животных, как правило, от 7 до 9 лет. У собак это основная масса некастрированных кобелей. Помимо разрыва диафрагмы таза сопутствующие поражения (отклонение или дивертикул прямой кишки, ретрофлексия мочевого пузыря, болезнь предстательной железы) усложняют течение болезни и могут повысить риск рецидива. При этом хирургическое лечение проходит в три этапа: лапаротомия с фиксацией органов брюшной полости, кастрация и восстановление РН за один операционный период.

Секционное заседание по анестезиологии провела Кьяра Адами, профессор отделения анестезиологии кафедры клинической ветеринарной медицины Бернского университета (Швейцария). Касаясь основ мониторинга общей анестезии в хирургии, профессор подчеркнула, что, в идеале, давать наркоз в ветеринарной практике должен профессионал, владеющий как клиническими навыками (мониторинг по клиническим признакам), так и обученный работе с техническими устройствами (инструментальный мониторинг). При этом сами устройства, контролирующие физиологические параметры, становятся все более и более компактными, адаптированными к потребностям ветеринарии.

В ходе презентации было рассмотрено все, что «подлежит мониторингу»: электрокардиограмма, степень насыщения гемоглобина артериальной крови кислородом (пульсоксиметрия), концентрация (или парциальное давление) CO<sub>2</sub> в дыхательных газовых смесях (капнометрия), артериальное давление и температура тела. Также рассматривались вопросы измерения в газовой дыхательной смеси концентраций кислорода и летучих веществ.

Касаясь вопроса проведения наркоза у мелких грызунов, Кьяра Адами отметила, что в последнее время мелкие грызуны приобрели популярность в качестве домашних животных. Для проведения у них диагностических и лечебных процедур, включая придание положения, адекватного для физического или инструментального исследования, взятия крови и т. д., требуется анальгетический и седативный эффект. Трудности проведения наркоза связаны с анатомическими и физиологическими особенностями этих животных, с различиями в клинической эффективности у них доступных обезболивающих препаратов, а также с тем обстоятельством, что у этих больных животных риск, связанный с обезболиванием, особенно высок. Были рассмотрены основы предоставления анестезиологического пособия мелким животным и представлены обычно используемые в Бернском университете протоколы проведения наркоза кроликам, морским свинкам, хомячкам, мышам, крысам, шиншиллам и песчанкам. Большинство из доступных в литературе протоколов вышли из стен тех лабораторий, где проводят общую анестезию преимущественно здоровым животным. До настоящего времени накоплено немного протоколов, основанных на данных доказательной медицины, проведения общей анестезии мелким грызунам.

Далее был рассмотрен наркоз у травмированных животных. Травма у мелких животных часто сопровождается гемодинамическим шоком и гипо- или гиперметаболическим состоянием, что чревато очень высоким риском осложнений при общей анестезии (статус по ASA1). Поэтому перед проведением наркоза таким животным, необходимо стабилизировать их состояние. Введение анестезиологического пособия в связи с травмой у собаки или кошки должно учитывать степень тяжести шока, а также дисбаланс между доставкой кислорода и потребностью в нем. В идеале методика обезболивания должна обеспечить тяжело больному или травмированному животному минимизацию стресса, адекватный сон, аналгезию и расслабление мышц. Мониторинг – неперемное условие оценки степени гемодинамического шока и стабильности жизненно важных функций. Был рассмотрен ряд типичных клинических случаев (сбило машиной, травмы груди, головы и системы мочевого выведения), а также обсужден анестезиологический подход, основанный на патофизиологических механизмах.

Затем докладчик рассмотрел оптимальные решения типичных анестезиологических проблем, которые применяются в ветеринарной практике. Кьяра Адами подчеркнула, что существуют различные определения для осложнений наркоза, но

предельное из них – анестезиологическая смерть. По последним данным наркоз у здоровых собак и кошек приводит к гибели в 0,1 и 0,2 % случаев, а у больных – в 0,2 и 2 %, соответственно. У кроликов летальность достигает 7 %. Эти цифры намного выше соответствующих показателей для медицины человека. За смертность вследствие наркоза в наибольшей мере ответственны сердечно-сосудистые и дыхательные осложнения. К сожалению, зачастую осложнения обусловлены действиями анестезиолога. В презентации были проанализированы наиболее распространенные осложнения. Специальный акцент был сделан на том, какие именно простые шаги следует предпринять в условиях конкретной практики, чтобы эффективно снизить, а то и устранить возможность внутриоперационных осложнений и гибели животных.

В завершении первого дня работы конференции доктор Саймон Голдман, главный врач ветеринарного центра «Медикал-Вет» в Тель-Авиве и Международного ветеринарного центра в Москве, рассказал слушателям о новых возможностях цифровой радиографии и представил цифровой рентгеновский сканер CRTECH израильского производства, который используется в Международном ветеринарном центре в Москве.

**19 февраля 2011 года в рамках международной выставки «Зоо Россия 2011» продолжила свою работу конференция для практикующих ветеринарных врачей – «Практивет 2011».** Секционное заседание по эндокринологии провел Ян Рамси, профессор факультета исследования домашних животных университета Глазго, Великобритания. В своем докладе он, в первую очередь, остановился на проблеме полиурии и полидипсии (PU/PD).

Полиурия и полидипсия представляют собой широко распространенный в клинической практике симптом. В лекции на эту тему был изложен логический подход к данной проблеме и предложены способы установления возможного наличия у животного одного из следующих заболеваний:

- сахарный диабет,
- гиперкальциемия,
- почечная недостаточность,
- заболевания печени,
- болезнь Кушинга (гиперкортицизм),
- несахарный диабет.

Для разбора был дан пример, чтобы проиллюстрировать процесс диагностики и делегаты вместе с докладчиком приняли участие в обсуждении предложенного примера.

Затем Ян Рамси рассказал о лечении болезни Кушинга. Болезнь или синдром Кушинга часто диагностируется у собак, страдающих полиурией и полидипсией, наряду с алопецией, мышечной гипотонией и затрудненным или учащенным дыханием. После установления диагноза существует множество вариантов терапии. В ходе презентации сравнивались возможности назначения и побочное действие следующих препаратов:

- Трилостан (Trilostane),
- Митоган (Mitotane),
- Кетоконазол (Ketoconazole),
- Селегелин (I-депренил) (Selegeline (I-deprenyl)).

После этого докладчиком также был дан для разбора конкретный пример, чтобы проиллюстрировать применение трилостана, и делегаты приняли участие в обсуждении этого примера.

Следующий вопрос, на котором подробно остановился докладчик – это сахарный диабет у собак, который представляет собой распространенное заболевание, проявляющееся в симптомах полиурии, полидипсии, потери веса (несмотря на хороший аппетит). В данной части обсуждались некоторые методы стабилизации состояния собаки, по меньшей мере один из которых может быть адаптирован к применению в широкой практике. Были рассмотрены такие методы, как диета, выбор инсулина, метод мониторинга, физические нагрузки. После этого также был дан для разбора пример, чтобы проиллюстрировать варианты лечения данного заболевания.

Далее были представлены варианты помощи гипертерриозным кошкам и приведены наиболее эффективные способы лечения этого заболевания. Докладчик отметил, что в мире все чаще встречается гипертиреоз у кошек. Распознавание таких клинических симптомов, как потеря веса, повышенный аппетит, рвота и повышенная жажда является важным, но при этом возможность ведения таких кошек, а затем предложение терапии, которую владельцы (и сами кошки) сочтут приемлемой, представляет собой еще одну, сложную для решения, задачу. После того, как докладчик поделился своей методикой работы с кошками, страдающими гипертиреозом, он рассказал о методах диагностики, включая следующие:

- пальпация щитовидной железы,
- концентрация общего и свободного тироксина.

Затем были рассмотрены варианты терапии, включая следующие:

- медикаментозная терапия (карбимазол и метимазол),
- хирургическое вмешательство,
- терапия радиоактивным йодом (радиойодтерапия).

После доклада состоялась оживленная дискуссия с участием делегатов конференции и докладчика, которому были заданы конкретные вопросы из практики ветеринарных врачей.

*Источник: пресс-служба выставочной компании «Асти Групп»*



## Современная стоматология для домашних животных

В конце января в Болгарии состоялась встреча председателя правления Союза предприятий зообизнеса Сергея Спирина с Академическим руководством Тракийского Университета в соответствии со сводным планом международной деятельности подкомитета по предпринимательству в сфере зообизнеса Торгово-промышленной палаты России, комиссии по зообизнесу ОПОРЫ России, Союза предприятий зообизнеса.

В рамках встречи были обсуждены перспективы сотрудничества в области ветеринарной науки и высшего образования, сделан акцент на послевузовской специализации ветеринарных врачей лечебного профиля, которые заняты в малых и средних предприятиях зообизнеса России, Болгарии и Украины. Также была определена необходимость специализации ветеринарных врачей России по программам, принятым в Евросоюзе.

Результатом встречи стало подписание договора о сотрудничестве в сфере науки, высшего и послевузовского образования в области ветеринарии и сельского хозяйства с Московской Академией ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, Санкт-Петербургской государственной Академией ветеринарной медицины и Полтавской государственной аграрной академией. В ближайшее время к многостороннему договору планируют присоединиться ведущие вузы Казахстана и Беларуси, имеющие ветеринарный профиль. Цель объединения – создание на базе межвузовского договора Восточно-Европейской Ассоциации ветеринарной стоматологии.

В рамках этого сотрудничества доктор ветеринарной медицины, профессор кафедры ветеринарной хирургии Тракийского Университета (Болгария) Иван Борисов, автор более 270 научных работ в области ветеринарной стоматологии плотоядных,



На снимке: профессор Иван Борисов

прочитал 15 и 16 февраля на базе Московской государственной городской ветеринарной лаборатории лекции о заболеваниях зубов и ротовой полости собак и кошек. А 19 февраля на выставке «Зоо Россия 2011» состоялась его лекция для заводчиков и практикующих ветеринарных врачей на тему: «Ветеринарная стоматология».

Профессор Борисов также провел практические занятия по актуальным dental заболеваниям и мастер-класс по челюстно-лицевой хирургии домашних животных в стоматологическом кабинете ветеринарной клиники «Близнецы» в Москве (микрорайон Митино). Иван Борисов, который является основоположником и руководителем школы ветеринарной стоматологии и плотно сотрудничает с ветеринарными dental школами Австрии и Франции, особо отметил уникальную не только для России, но и для Европы оснащенность стоматологического кабинета «Близнецы». Он выразил уверенность в том, что ветеринарная стоматология получит активное развитие в России и поможет уже на ранней стадии выявить и предотвратить множество заболеваний домашних животных с помощью своевременной диагностики и лечения.

Источник: пресс-служба выставочной компании «Асти Групп». Москва, 2 марта 2011 года

реклама

## АГРОФЕРМА. САД. ОГОРОД 2011

14-я межрегиональная выставка оборудования и технологий для животноводческого комплекса и фермерских хозяйств, а также средств малой механизации, садово-огородного инвентаря, семян, рассады, товаров и услуг для обустройства садовых участков

Впервые! Межрегиональный агропромышленный форум «АГРОТЕХНОЛОГИИ - 2011»

### 27-30 апреля

Официальная поддержка  
Министерство сельского хозяйства Пермского края

[www.agro.experperm.ru](http://www.agro.experperm.ru)

ВЫСТАВОЧНЫЙ ЦЕНТР  
**ПЕРМСКАЯ  
ЯРМАРКА**

**Место проведения**  
Специализированный выставочный комплекс «Пермская ярмарка»

614077, Россия, Пермь,  
бульвар Гагарина, 65  
(+7 342) 262-58-58  
[www.experperm.ru](http://www.experperm.ru)

---

**Время работы выставки**  
27 апреля: 12.00-19.00  
28-29 апреля: 10.00-19.00  
30 апреля: 10.00-18.00

Специальный проект  
в рамках выставки  
**Ярмарка фермерского  
животноводства**



НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии»  
приглашает принять участие в семинаре

**«Рентгенодиагностика мелких домашних животных»**

**1 день.** Основы рентгенологии. История открытия рентгеновских лучей. Физические аспекты рентгеновского излучения. Рентгенологическая терминология. Технические аспекты рентгеновского излучения. Принципы устройства рентгеновского аппарата. Фотохимия и изготовление рентгеновских снимков. Рентгенологические артефакты. Основные виды рентгеноконтрастных веществ. Радиационная безопасность. Практическое занятие по самостоятельному изготовлению рентгеновских снимков.

**2 день.** Общая характеристика рентгенологического исследования костей и суставов. Основные элементы рентгенологической семиотики при патологических изменениях в костях. Переломы. Рентгенологические симптомы. Виды переломов. Заживление переломов. Вывихи. Костно-суставная патология нетравматического генеза. Укладки для рентгенографического исследования отдельных анатомических областей. Картина в норме и при патологии. Возрастные изменения: череп, зубы; позвоночник; грудина, ребра; конечности. Рентгенодиагностика дисплазии тазобедренных суставов собак.

**3 день.** Рентгенодиагностика органов грудной полости, верхних дыхательных путей и пищевода. Укладки, режимы съемки, норма, патология: пазухи; гортань, трахея; пищевод, съемка пищевода с рентгеноконтрастным веществом; легкие; сердце и сосуды; диафрагма.

**4 день.** Рентгенодиагностика органов брюшной полости. Укладки, норма, патология: желудок, рентгеноконтрастное исследование желудка; кишечник, рентгеноконтрастное исследование кишечника; печень; поджелудочная железа; селезенка; мочевой пузырь; предстательная железа; матка; почки; надпочечники. Комплексная оценка рентгенограмм брюшной полости.

**5 день.** Комплексное чтение рентгеновских снимков. Тестовое занятие.

График проведения семинара: 16–20 мая, 3–7 октября, 28 ноября – 2 декабря 2011 г.;  
23–27 января, 19–23 марта, 14–18 мая 2012 г.

Место проведения\*: Санкт-Петербург, ул. Чапаева, д. 16а.

Стоимость участия\*: 10 000 рублей (НДС не облагается); наличный и безналичный расчет.

Предварительная запись на семинар обязательна:  
по тел./факсу (812) 232-55-92, тел. 927-55-92, +7 921 095-89-27,  
по e-mail: [invetbio@yandex.ru](mailto:invetbio@yandex.ru) или через форму on-line заявки на сайте:  
[http://www.invetbio.spb.ru/form\\_seminar\\_Rg.htm](http://www.invetbio.spb.ru/form_seminar_Rg.htm)

\* Возможны изменения. Справки по тел. +7 921 095-89-27

Открыта подписка на рецензируемый журнал фундаментальных и прикладных исследований

**«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»**

Подписные индексы: каталог «Газеты. Журналы – 2011» (ОАО «РОСПЕЧАТЬ») – 33184;  
каталог «Пресса России» (ООО «Агентство «Книга-Сервис») – 29447

Стоимость редакционной подписки на 2011 год (4 номера) – 700 рублей: заполните бланк заказа (в произвольной форме, укажите Ф.И.О., почтовый адрес получателя и контактный телефон) и направьте его вместе с копией документа об оплате по адресу: 196657, Санкт-Петербург, Колпино-7, а/я 36, Чуваеву И. В. или по электронной почте: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru)  
Справки по телефонам: (812) 232-55-92, 927-55-92, +7 921 095-89-27

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»

Важным условием для принятия статей в журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» является их соответствие нижеперечисленным правилам. При наличии значительных отклонений от них направленные материалы рассматриваться не будут. В этом случае редакция обязуется оповестить о своем решении авторов не позднее чем через 1 месяц со дня их получения. Оригиналы и копии присланных статей авторам не возвращаются. Материалы должны присылаться по адресу: 196657, Санкт-Петербург, Колпино-7, а/я 36, редакция журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии», Чуваеву И. В. Кроме того, материалы для публикации можно передать в редакцию по адресу: Санкт-Петербург, ул. Чапаева, д. 16а. Тел. (812) 232-55-92. Факс (812) 232-88-61.

Редакция рекомендует авторам присылать статьи заказной корреспонденцией, экспресс-почтой (на дискете 3,5", CD или DVD дисках), или доставлять их самостоятельно, или направлять по электронной почте: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru). Электронный вариант статьи рассматривается как оригинал, в связи с чем авторам рекомендуется перед отправкой материалов в редакцию проверить соответствие текста на цифровом носителе распечатанному варианту статьи.

### Подготовка материалов

Статья может содержать до 10 машинописных страниц (18 тыс. знаков с пробелами), не считая рисунков, таблиц и списка литературы. Электронный вариант статьи должен быть подготовлен в виде файла в формате .doc для ОС Windows и содержать текст статьи и весь иллюстративный материал (фотографии, графики, таблицы) с подписями.

Таблицы и диаграммы должны быть выполнены в один цвет – черный, без фона.

Автор должен представить каждое изображение в отдельном файле в оригинальном размере (при обработке изображений в графических редакторах необходимо учесть, что для офсетной печати не подходят изобра-

жения с разрешением менее 300 dpi и размером менее 945 пикселей по горизонтали).

Текст статьи должен быть набран шрифтом Times New Roman, 12 пт, без форматирования (стиль «Обычный»). Нумерованные и нумерованные списки формируются без применения автоформатирования (вручную) с использованием арабских цифр или символа «-» соответственно.

В статье желательно использование не более 3-5 нетрадиционных сокращений для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте. Эти сокращения вводятся в круглых скобках после первого полного названия термина. В тех случаях, когда используемая аббревиатура узаконена международной классификацией, ее следует использовать в соответствующей транскрипции. Например, для сокращения термина «интерлейкин» должна быть использована аббревиатура в соответствии с международной номенклатурой «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Запрещается вводить какие-либо сокращения в название статьи. Названия микроорганизмов должны быть приведены в оригинальной транскрипции (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения должны быть приведены без точки после их сокращенного обозначения (см, мл, г, мг, kDa и т. д.). При использовании условных обозначений следует иметь в виду, что в процессе подготовке журнала к верстке символы, полученные с использованием нетипичных шрифтов ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и пр.), а также некоторые специальные символы форматирования ( $\bullet$ ,  $\rightarrow$ ,  $\Rightarrow$  и т. д.) могут неверно интерпретироваться.

При изложении материала следует придерживаться стандартного построения научной статьи:

1. Введение.
2. Материалы и методы.
3. Результаты исследований.
3. Обсуждение результатов.
4. Заключение (выводы).
6. Список литературы.

Статья должна представлять собой законченное исследование.

Заключение (выводы) должно быть четким, конкретным, вытекать из результатов и обсуждений результатов исследования и соответствовать цели работы и поставленным задачам.

Ссылки на первоисточники расставляются по тексту в цифровом обозначении в квадратных скобках. Номер ссылки должен соответствовать цитируемому автору. Цитируемые авторы располагаются в разделе «Список литературы» в алфавитном порядке (русские, затем зарубежные). Представленные в «Списке литературы» ссылки должны быть полными, и их оформление должно соответствовать действующему ГОСТу. Количество ссылок должно быть не более 10 – для оригинальных статей, 30 – для обзоров литературы.

К материалам статьи также обязательно должен быть приложен 1 экземпляр сопроводительного письма на имя главного редактора журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» Чуваева И. В. Письмо должно содержать:

1. Фамилию, имя, отчество каждого автора статьи с указанием названия учреждения, где работает автор, его должности, научных степеней, званий и контактной информации на русском языке.

2. Фамилию, имя, отчество каждого автора статьи с указанием названия учреждения, где работает автор, его должности, научных степеней, званий и контактной информации на английском языке.

3. Фамилию, имя, отчество автора, ответственного за дальнейшую переписку с указанием предпочтительного способа связи.

4. Полное название статьи на русском языке.

5. Полное название статьи на английском языке.

6. Аннотацию статьи на русском языке (не более 250 слов).

7. Аннотацию статьи на английском языке.

8. УДК.

9. Ключевые слова (до пяти) на русском языке.

10. Ключевые слова на английском языке.

11. Количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц.

12. Дату отправки материалов.

13. Подписи всех авторов.

## Авторские права

Авторы должны гарантировать, что поданные в журнал материалы не были ранее опубликованы. Авторы должны быть согласны с автоматическим переходом их авторских прав к журналу «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» в момент принятия статьи к печати. С этого момента весь приведенный в статье материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением могут являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

## Оплата за публикацию статей

При соблюдении всех вышеперечисленных правил, рецензирование статьи и ее публикация в журнале «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) за большое количество иллюстративного материала (свыше 8-ми иллюстраций); 3) за размещение рекламной информации; 4) при повторной подаче материала в редакцию, в случае если статья (по результатам рецензирования) была отправлена автору на доработку.

## Рецензирование статей

Все материалы, подаваемые в журнал, проходят рецензирование. Рецензирование статей проводят ведущие профильные специалисты (доктора наук, кандидаты наук). По результатам рецензирования редакция журнала принимает решение о возможности публикации данного материала:

- принять к публикации без изменений,
- принять к публикации с корректурой и изменениями, предложенными рецензентом или редактором (согласуется с автором),
- отправить материал на доработку автору (значительные отклонения от правил по-

дачи материала; вопросы и обоснованные возражения рецензента по принципиальным аспектам статьи),

- отказать в публикации (полное несоответствие требованиям журнала и его тематике; наличие идентичной публикации в другом издании; явная недостоверность представленных материалов; явное отсутствие новизны, значимости работы и т. д.)

Рецензированию не подлежат материалы, представленные или написанные в соавторстве с действительными членами или членкорреспондентами АН, РАСХН, РАЕН.

## **ПОДПИСКА НА ЖУРНАЛ «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»**

Подписной индекс в каталоге «Газеты. Журналы» – 33184, «Пресса России» – 29447.

Юридические и физические лица, желающие получать наш журнал постоянно, могут оформить подписку непосредственно в редакции журнала (Санкт-Петербург, ул. Чапаева, д. 16а). Для оформления подписки по почте необходимо выслать заполненный бланк заказа (в произвольной форме, с точным почтовым адресом получателя и контактным телефоном для уточнения информации) и копию документа об оплате по адресу: 196657, Санкт-Петербург, Колпино-7, а/я 36, Чуваеву И. В.

Журнал подписчикам будет доставляться курьером либо заказным письмом.

Стоимость подписки на 2011 г. (четыре номера): для юридических и физических

лиц – 700 руб., для подписчиков из ближнего зарубежья – 1000 руб.

### **Оплата для юридических лиц**

Для получения счета на оплату подписки и других необходимых документов обращаться по телефонам: (812) 232-55-92, 927-55-92 или по e-mail: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru) к главному бухгалтеру.

### **Оплата для физических лиц**

Оплатить стоимость подписки можно:

- почтовым переводом: 196657, Россия, Санкт-Петербург, Колпино-7, а/я 36, НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии»;

- через платежную систему Яндекс-деньги: счет для оплаты 41001182195695 (в сообщении следует указать «Оплата за «АВВБ» № ... (кол-во экземпляров), Ф.И.О. и точный почтовый адрес).

Полная информация о подписке на журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» – на сайте [http://http://www.invetbio.spb.ru/journal/vb\\_podpiska.htm](http://http://www.invetbio.spb.ru/journal/vb_podpiska.htm).

## **ПРИБРЕТЕНИЕ ЖУРНАЛА «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»**

Вы можете заказать любой из предыдущих номеров журнала. Для этого достаточно сделать заказ по телефону: (812) 927-55-92, или по e-mail: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru), и мы вышлем Вам его по почте наложенным платежом. Стоимость журнала выпуска до 2011 года – 200 руб./экземпляр. При рассылке наложенным платежом к стоимости журнала прибавляется стоимость почтовых расходов.

## **АРТРОГЛИКАН (ARTROGLYCAN)**

**хондропротектор нового поколения, геронтологический препарат для собак, кошек, хорей, крыс**

Выпускается в форме таблеток по 0,7 г в пачках по 30 и банках по 300 таблеток. В состав препарата входят: глюкозамин гидрохлорид (100 мг); хондроитин сульфат (200 мг); витамин Е (20 мг); селенометионин (50 мг); органическая форма кальция (10 мг)

**Показания:** дегенеративные заболевания суставов и позвоночника, первичный артроз, межпозвоночный остеохондроз, остеоартрит, остеоартроз, спондилёз, остеопороз, дисплазия суставов. Для улучшения качества жизни собак, кошек, крыс и хорьков старшей возрастной группы

**Заказ в Санкт-Петербурге (у производителя)** от 1 пачки/банки: ООО «Биоцентр «ЧИН», т. + 7 921 350-92-53; почтовый адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Чапаева, д. 16а; [invetbio@mail.ru](mailto:invetbio@mail.ru); сайт: [www.invetbio.spb.ru](http://www.invetbio.spb.ru);  
**в Москве:** ООО «АС-Маркет», т. (498) 696-00-10; ООО «ЗооВетКом», т. +7 926 369-70-55; ЗАО «ВетИмпэкс», т. (495) 786-97-81, 786-97-82; ООО «ВЕТМАРКЕТ», т. (495) 777-60-81, 777-61-06; ООО «Торговый Дом «Гама-Маркет», т. (499) 190-72-41; **в Екатеринбурге:** ЗАО «Уралбиовет», т. (343) 345-34-34, 345-34-37, 345-34-38; **в Тюмени:** ЗАО «Айболит», т. (3452) 33-58-65, 33-97-81