

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

Кузьмин В. 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

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»

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

- Басова И. Н., Ягодина О. В., Басова Н. Е.**
Субстратная и ингибиторная специфичность моноаминоксидазы печени белуги 3
- Перевозкина М. Г.**
Моделирование процессов окисления липидов биомембран в присутствии антиоксидантов 10

ВИРУСОЛОГИЯ

- Ефимова М. А., Гаффаров Х. З., Иванов А. В., Фаизов Т. Х., Хаммадов Н. И.**
Выявление парвовируса типа I крупного рогатого скота методом ПЦР 23

ПАЗАРИТОЛОГИЯ

- Андреянов О. Н.**
Сравнительная морфология капсул личинок трихинелл от разных видов хозяев 27
- Гаврилова Н. А., Белова Л. М., Ширяева В. А.**
Использование универсальной флотационной жидкости в диагностике арахноэнтомозов плотоядных 30
- Кряжев А. Л.**
Инвазированность гельминтами крупного рогатого скота различных пород в условиях Северо-Западного региона РФ на примере Вологодской области 33
- Черная Л. В.**
Инфузорная фауна преджелудков тонкорунных овец лесной зоны Омской области 37

ФАРМАКОЛОГИЯ

- Глебова Е. В., Майборода О. В.**
Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных от сельскохозяйственной птицы 40
- Нечаева Т. А.**
Применение витаминно-аминокислотного комплекса гемобаланс при выращивании радужной форели 44

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

- Андреева С. Д.**
Иммунологические аспекты и диагностика цитокинов при моделировании острого деструктивного панкреатита 50
- Мясоедов Ю. М., Искандаров М. И.**
Разработка критерия формирования групп морских свинок, используемых в тестах туберкулиновой гиперчувствительности замедленного типа 56
- Садртдинова И. И., Хисматуллина З. Р.**
Исследование поведения крыс линии WAG/Rij с учетом полового фактора 62

СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

- Кудряшов А. А., Никитин В. В., Беляева Е. В.**
Лечение коровы с клиническими признаками злокачественного отека 67

- ИНФОРМАЦИЯ** 74

Издательство Института Ветеринарной Биологии

Адрес редакции/издателя: 197198, С.-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б. Тел. (812) 232-55-92, тел./факс 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Сайт: www.invetbio.spb.ru

Подписано в печать 11.06.2014. Дата выхода: 20.06.2014. Отпечатано в типографии ООО «Агентство ИНФО ОЛ»: 197101, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, д. 1.

Тираж 1000 экз. Свободная цена. Подписной индекс в каталоге «Газеты. Журналы» – 33184, «Пресса России» – 29447.

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, 2014

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

Kuzmin V. A.,
Doctor of Science, Professor

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

Prudnikov V. S.,
Doctor of Science, Professor

Suleymanov S. M.,
Doctor of Science, Professor
RF Honoured Worker of Science

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

BIOLOGICAL CHEMISTRY

- Basova I. N., Yagodina O. V., Basova N. E.**
Substrate and Inhibitor Specificity of Liver Monoamine Oxidase of Beluga3
- Perevozkina M. G.**
Modeling of Processes of Oxidation of Lipids in Biomembranes in the Presence of Antioxidants10

VIROLOGY

- Efimova M. A., Gaffarov Kh. Z., Ivanov A. V., Faizov T. H., Hammadov N. I.**
Detection of Parvovirus Type 1 of Cattle by PCR23

PARASITOLOGY

- Andreyanov O. N.**
Comparative Morphology of Capsules of Larvae Trichinella From Different Types of Hosts27
- Gavrilova N. A., Belova L. M., Shiryaeva V. A.**
The Use of Universal Flotation Fluid in the Diagnosis of Arachnoentomosis of Carnivorous
Animals30
- Krjazhev A. L.**
Ghelminth Infection in Cattle of Various Breeds in Conditions of the Northwest Region
of The Russian Federation Considering the Case of the Vologda Area33
- Chernaya L. V.**
Infusorial Fauna of Prestomachs of Fine-Fleece Sheep of a Forest Zone of the Omsk Region37

PHARMACOLOGY

- Glebova E. V., Maiboroda O. V.**
The Study of Antibiotic Resistance in Salmonella Isolates From Poultry40
- Nechaeva T. A.**
Application of Vitamin and Amino Acids of the Complex Haemobalance in Rainbow Trout Rearing44

PATHOPHYSIOLOGY

- Andreeva S. D.**
Immunological Aspects and Diagnosis of Cytokines in the Simulation of Acute Destructive
Pancreatitis50
- Myasoedov Yu. M., Iskandarov M. I.**
The Development of the Criterion of Formation of Guinea Pig Groups Used in Tests
For Delayed Type Hypersensitivity to Tuberculin56
- Sadrtidinova I. I., Khismatullina Z. R.**
Investigation of the Behavior of WAG/Rij Rats Considering the Sex Factor62

CASE REPORT

- Kudryashov A. A., Nikitin V. V., Belyaeva E. V.**
The Treatment of a Cow with Clinical Signs of Malignant Oedema67

- INFORMATION**74

Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumsкая st., 3-5. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru
Signed for press on 11.06.2014. Issue date: 20.06.2014. Printed at printing house "Agency INFO OL": 197101, Russia, Saint-Petersburg, Rentgena st., 1. Circ. 1000 pc.
Free price. The subscription index in catalogues: "Gazety. Journaly" ("Newspapers. Magazines") – 33184, "Pressa Rossii" ("Russian Press") – 29447.

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, 2014

УДК 577.158

Ключевые слова: субстрат, ингибитор, аминоксидаза, моноамины, белуга

Key words: substrate, inhibitor, amine oxidase, monoamines, beluga

Басова И. Н., Ягодина О. В., Басова Н. Е.

СУБСТРАТНАЯ И ИНГИБИТОРНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ ПЕЧЕНИ БЕЛУГИ *SUBSTRATE AND INHIBITOR SPECIFICITY OF LIVER MONOAMINE OXIDASE OF BELUGA*

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН

Адрес: 194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry Russian Academy of Sciences

Address: 194223, Russia, Saint-Petersburg, Toreza pr., 44

Басова Ирина Николаевна, науч. сотрудник. E-mail: irbas01@yandex.ru, тел. (812) 402-43-04

Basova Irina N., Research Assistant. E-mail: irbas01@yandex.ru, tel. +7 (812) 402-43-04

Ягодина Ольга Викторовна, к. х. н, ст. науч. сотрудник. E-mail: yagod.ov@yandex.ru, тел. (812) 542-03-55

Yagodina Olga V., Ph.D. in Chemical Science, Senior Research Assistant.

E-mail: yagod.ov@yandex.ru, tel. +7 (812) 542-03-55

Басова Наталья Евгеньевна, к. б. н, ст. науч. сотрудник. E-mail: basovn@rambler.ru, тел. (812) 543-47-62

Basova Natalya E., Ph.D. in Biology Science, Senior Research Assistant.

E-mail: basovn@rambler.ru, tel. +7 (812) 543-47-62

Аннотация. Проведено исследование субстратной и ингибиторной специфичности митохондриальной моноаминоксидазы (МАО) печени половозрелых самцов белуги *Huso huso* из устья Волги. Результаты субстратно-ингибиторного анализа с использованием ингибиторов хлоргиллина и депренила, а также пяти специфических субстратов являются косвенным доказательством присутствия в печени белуги одной формы МАО. Исследованный фермент проявляет высокую чувствительность к хлоргиллину, специфическому ингибитору формы МАО, и очень низкую чувствительность к депренилу, специфическому ингибитору формы МАО Б. Определены кинетические параметры ферментативного дезаминирования – константы Михаэлиса (K_M) и максимальной скорости реакции (V), тирамина, серотонина, норадреналина, бензиламина, β -фенилэтиламина, N-метилгистамина. Установлено, что исследуемый фермент проявляет более высокую активность по отношению к серотонину и норадреналину – субстратам формы МАО А, по сравнению с бензиламином, β -фенилэтиламином и N-метилгистамином – субстратам формы МАО.

Summary. Study of substrate and inhibitory specificity of liver mitochondrial monoamine oxidase (MAO) of sexually mature individuals of the beluga *Huso huso* from the mouth of Volga river was performed. The results of substrate-inhibitory analysis with the use of inhibitors deprenyl, chlorgyline and five specific substrates are indirect proofs of the existence in the beluga liver of one molecular MAO form. The studied enzyme have high sensitivity to chlorgyline, the specific inhibitor of MAO A form, and very low sensitivity to deprenyl, the specific inhibitor of MAO B form. Kinetic parameters of enzymatic reaction – the Michaelis constant (K_M) and the maximum enzymatic reaction rate (V) for the deamination of tyramine, serotonin, noradrenaline, benzylamine, β -phenylethylamine, N-methylhistamine were calculated. The enzyme has been established to be more active in the oxidative deamination of the substrates of MAO A form – serotonin and noradrenaline as compared with the substrates of MAO B form – benzylamine, β -phenylethylamine, N-methylhistamine.

Введение

В последние годы возрос интерес исследователей к изучению природы и свойств митохондриальной моноаминоксидазы (МАО; моноамин: O_2 -оксидоредуктаза, дезаминирующая; НФ 1.4.3.4), что определяется ее важной функциональной ролью в организме. Обеспечивая биологическую инактивацию аминов, МАО участвует в защите организма от токсических воздействий экзогенных или образующихся в органах и тканях биогенных

аминов, а также в регуляции уровня нейромедиаторов. Основная часть работ по изучению каталитических свойств МАО посвящена исследованию фермента млекопитающих, у которых было обнаружено две формы этого фермента – форма МАО А и форма МАО Б, кодируемые разными генами, а также различающиеся по чувствительности к ингибиторам и по преимущественному окислению субстратов [7, 10]. Среди множества МАО особое место занимает фермент органов

и тканей рыб, благодаря выраженному своеобразию его субстратных и ингибиторных характеристик, однако в список тестируемых моноаминоксидазных объектов вошли единичные представители отдельных семейств. Обнаружено, что такие костистые рыбы, как радужная форель *Salmo gairdneri* [8] и рыба-зебра *Danio rerio* [7, 10], в отличие от млекопитающих, содержат только один ген, кодирующий MAO. Следует отметить, что MAO, как и другие мембранно-связанные ферменты, с трудом поддается выделению в чистом виде, поэтому субстратный и ингибиторный анализы являются исключительно удобным средством изучения каталитических свойств данного фермента. Исследование MAO печени рыб отряда *Acipenseriformes* (осетрообразные) представляет особый интерес, поскольку эти представители реликтовой ихтиофауны издавна являются ценными объектами промысла. Целью настоящей работы было исследование субстратной и ингибиторной специфичности MAO печени рыбы из отряда осетрообразных – белуги *Huso huso*. Наши первые результаты по определению моноаминоксидазной активности печени этого вида рыбы представлены в работе [3].

Материал и методика

Источником активности фермента служили митохондрии печени рыбы, представителя семейства осетровых – белуги *Huso huso*, пойманной в ходе августовской экспедиции в устье реки Волги. Животных забивали путем декапитации сразу после вылова. Печень выделяли из половозрелых самцов, хранили при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ и транспортировали в замороженном виде. В качестве ферментных препаратов использованы фрагменты митохондриальных мембран печени, полученные согласно методу [2]. Митохондрии выделяли из 10%-го гомогената в 0,25 М сахарозе центрифугированием 20 мин. при 13 000 g (после удаления ядер и обрывков клеток предварительным центрифугированием гомогената 3 мин. при 600 g). Полученную митохондриальную фракцию повторно центрифугировали в 0,0075 М калий-фосфатном буфере pH 7,4 (20 мин., 13 000 g), затем суспендировали в том же буфере и хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для получения фрагментов митохондриальных мембран суспензии митохондрий оттаивали, суспендировали в 10-кратном объеме 0,0075 М калий-фосфатного буфера, pH 7,4, и центрифугировали на холоду 20 мин. при 20 000 g. Надосадочную жидкость отбрасывали, осадок, содержащий фрагменты митохондриальных мембран, суспендировали в том же буферном растворе (31 ± 2 мг белка в одном мл для белуги, определено биуретовым методом). Полученную суспензию фрагментов митохондриальных мембран замораживали и хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в морозильной камере. Для анализа были использованы объединенные суспензии фрагментов митохондриальных мембран, полученные из печени 3 животных.

Активность MAO определяли спектрофотометрическим методом (при 420 нм) по количеству аммиака, образующегося за 30 мин. в результате ферментативной реакции окислительного дезаминирования моноаминов: тирамина гидрохлорида, бензиламина гидрохлорида, β -фенилэтиламина гидрохлорида (ФЭА), норадреналина гидрохлорида и N-метилгистамина дигидрохлорида («Sigma», США), серотонин-креатинин сульфата и гистамина («Reanal», Венгрия) по модифицированному методу Конвея с последующей несслеризацией [2]. Пробы (конечный объем 2,5 мл) содержали фрагменты митохондриальных мембран в количестве 1 мг/мл белка, 0,5 мл ингибитора (исследуемого препарата) заданной концентрации или 0,5 мл воды (в контрольных опытах), 0,5 мл 0,01 М фосфатного буфера, pH 7,4, и 0,5 мл субстрата заданной концентрации. При исследовании торможения активности MAO ингибитором фрагменты митохондриальных мембран в указанном выше количестве преинкубировали в 0,1 М фосфатном буфере с соответствующими концентрациями ингибитора в течение 15, 30 и 45 мин. при $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, затем к пробам добавляли субстрат и определяли активность, как указано выше.

В качестве ингибиторов использовали депренил (N-1-фенилизопропил-N-метил-2-пропинамин гидрохлорид) и хлоргилин (N-[2,4-дихлорфенокси]-пропил-N-метил-2-пропинамин-гидрохлорид) фирмы «Sigma».

Расчет кинетических параметров ферментативной реакции – константы Михаэлиса (KM) и максимальной скорости ферментативной реакции (V) проводили по методу Лайнуивера и Берка (цит. по [9]). При изучении зависимости скоростей ферментативных реакций от концентраций субстратов было проанализировано 9–11 точек (значений концентраций) в каждом исследованном диапазоне концентраций для каждого субстрата. Эффективность ингибирующего действия соединений оценивали по величине k_{II} бимолекулярной константы скорости взаимодействия MAO с ингибитором. Величины k_{II} рассчитывали по остаточной активности фермента после взаимодействия с изучаемым ингибитором [9]. Для определения k_{II} подбирали диапазон концентраций ингибитора, в котором активность фермента угнеталась на 20–80 %. В этом диапазоне для каждого ингибитора анализировали 5–7 точек (значений концентраций) для 15, 30 и 45 мин. инкубации ингибитора с ферментом.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы MS Excel.

Результаты и обсуждение

Гомогенность MAO печени осетровых рыб. Для таких исследований наиболее адекватным является метод субстратно-ингибиторного анализа [9] с использованием специфических ингибиторов и субстратов. Если антимоноаминоксидазная эффективность (оценена по величине k_{II}) различных ингибиторов, определенная с помощью разных субстратов, одинаковая, то можно заключить, что в ткани содержится только одна форма MAO. Существенные различия в величинах k_{II} , измеренные при разных субстратах для одного или нескольких ингибиторов, свидетельствуют о наличии в ткани по крайней мере двух форм MAO с разной субстратно-ингибиторной специфичностью. Согласно современным представлениям [7], у млекопитающих формой MAO А называют аминоксидазы (АО), активность которых блокируют низкие концентрации хлоргилина; специфическими субстратами таких MAO считают важнейшие нейромедиаторы нор-

адреналин и серотонин. Активность формы MAO Б тормозят лишь значительно более высокие концентрации хлоргилина; избирательным ингибитором этого типа MAO является депренил, а специфическими субстратами – бензиламин, ФЭА, N-метилгистамин. Тирамин, так называемый смешанный субстрат, дезаминируется обеими формами MAO. Для расчета k_{II} в зависимости от используемого субстрата и времени инкубации фермента с ингибитором были использованы ингибиторы в следующих диапазонах концентраций: хлоргилин – $2,0 \cdot 10^{-8}$ – $7,0 \cdot 10^{-7}$ М, депренил – $8,0 \cdot 10^{-5}$ – $2,5 \cdot 10^{-3}$ М.

Для выяснения типа (обратимого или необратимого) ингибирования при исследовании действия хлоргилина и депренила был использован критерий, предложенный в работе [9]. Обнаружено, что ингибирующее влияние этих соединений на активность MAO нарастало с увеличением времени инкубации препарата с ферментом и при избытке препарата заканчивалось полной утратой каталитической активности фермента, что говорит о необратимом характере ингибирования. Исследованные ацетиленовые соединения нельзя было удалить из прочного продукта, полученного при их взаимодействии с ферментом, а также получить фермент в неизменном виде. Так, после пропускания продукта взаимодействия MAO с хлоргилином или с депренилом через колонку с Sephadex G-100, а также после диализа в течение 48 часов активность MAO не восстанавливалась.

Результаты субстратно-ингибиторного анализа для MAO печени белуги с использованием специфических субстратов и специфических ингибиторов формы MAO А и формы MAO Б приведены в таблице 1. Для хлоргилина получены практически одинаковые значения k_{II} в пределах погрешности эксперимента для всех используемых специфических субстратов MAO обеих форм. Такая же закономерность наблюдалась и для депренила. Выявленное в настоящей работе отсутствие специфичности действия каждого из ингибиторов при дезаминировании различных субстратов является косвенным доказательством наличия у MAO печени бе-

Оценка методом субстратно-ингибиторного анализа гомогенности активности MAO печени осетровых рыб (антимоноаминоксидазная эффективность кП, М⁻¹ • Мин⁻¹)

Субстрат	Ингибиторы	
	Депренил	Хлоргилин
Серотонин	$(4,1 \pm 0,64) \times 10^1$	$(1,6 \pm 0,23) \times 10^5$
Норадреналин	$(5,2 \pm 0,67) \times 10^1$	$(2,2 \pm 0,34) \times 10^5$
Бензиламин	$(4,6 \pm 0,69) \times 10^1$	$(1,9 \pm 0,29) \times 10^5$
ФЭА	$(5,0 \pm 0,85) \times 10^1$	$(1,5 \pm 0,21) \times 10^5$
N-метилгистамин	$(3,9 \pm 0,53) \times 10^1$	$(1,2 \pm 0,19) \times 10^5$

Примечание: приведены средние арифметические значения из 6 опытов и их среднеквадратичные отклонения.

Таблица 2.

Кинетические параметры ферментативного дезаминирования некоторых аминов под действием MAO печени белуги

Субстрат, область концентраций, М	K _М (мМ)	V, 10 ⁻¹⁰ (моль • мин ⁻¹ • мг ⁻¹)	V / K _М , 10 ⁻⁷ (л • мин ⁻¹ • мг ⁻¹)
Тирамин, 2,0•10 ⁻² –6,5•10 ⁻⁴	3,41±0,511	6,76±1,014	1,98±0,277
Серотонин, 7,5•10 ⁻³ –2,5•10 ⁻⁴	1,42±0,213	8,74±1,224	6,15±0,926
Норадреналин, 7,5•10 ⁻³ –2,5•10 ⁻⁴	1,90±0,258	7,33±1,099	3,86±0,540
Бензиламин, 2,5•10 ⁻² –8,0•10 ⁻⁴	4,43±0,660	0,62±0,090	0,14±0,021
ФЭА, 2,0•10 ⁻⁴ –6,0•10 ⁻³	1,20±0,180	0,41±0,057	0,34±0,047
N-метилгистамин, 4,5•10 ⁻² –3,5•10 ⁻⁴	0,84±0,118	0,36±0,051	0,43±0,064

Примечание: приведены средние арифметические значения из 6 опытов и их среднеквадратичные отклонения.

луги одного центра связывания субстратов или одной молекулярной формы фермента. Следует отметить, что ранее методом субстратно-ингибиторного анализа нами была также показана «кинетическая» гомогенность MAO печени других костных рыб: сига *Coregonus lavaretus ludoga* [1], кеты *Oncorhynchus keta* [4] и тунца *Katsuwonus pelamis* [5]. Показано, что чувствительность MAO рыб к ингибиторам имеет выраженную видовую специфичность и уникальна по своей природе, отличаясь от чувствительности фермента наземных млекопитающих (цит. по [1]). Так, фермент паку *Piaractus mesopotamicus Holmberg*, сома *Parasilurus asotus*, форели *Salmo gairdneri* и окуня *Pera flavescens* проявляет более высокую чувствительность к хлоргилину, чем к депренилу, но при этом значительно ниже, чем фермент млекопитающих. В случае карпа *Cyprinus carpio*, щуки *Esox lucius* и рыбы-зебры *Danio rerio* обнаружена одинаковая

чувствительность фермента к хлоргилину и депренилу. Такой же эффект наблюдался при действии селективных обратимых ингибиторов MAO А – FLA 788(+), FLA 336(+)(амифламин) и MAO Б – MD 780236 на MAO мозга карпа *Cyprinus carpio*. Показано [7], что ряд селективных обратимых ингибиторов MAO А человека угнетает активность MAO рыбы-зебры (ZMAO), в то время как селективные обратимые ингибиторы MAO В человека не угнетают активность этого фермента, что позволило авторам сделать вывод о некоторой близости ингибиторных свойств этого фермента и MAO А млекопитающих.

На основании анализа данных таблицы 1 можно сделать вывод о том, что MAO печени белуги проявляет в 3100–4200 раз большую, в зависимости от субстрата, чувствительность к хлоргилину, чем к депренилу, что свидетельствует о выраженном сходстве его ингибиторной специфичности с MAO А, чем с MAO Б наземных млекопитающих. Необ-

ходимо подчеркнуть, что способность к угнетению под действием хлоргилина у MAO печени белуги оказалась на несколько порядков выше, а под действием депренила практически такой же, как у MAO печени сига [1].

Субстратная специфичность MAO печени белуги. Поскольку проведенный субстратно-ингибиторный анализ с использованием хлоргилина и депренила свидетельствовал о гомогенности исследованного фермента, нами были определены кинетические параметры ферментативных реакций деаминации ряда субстратов (табл. 2). Набор использованных субстратов включал как шесть классических субстратов MAO, так и гистамин – субстрат диаминооксидазы (DAO; НФ 1.4.3.6). Обнаруженная нами ранее способность MAO печени сига деаминировать гистамин [1] стала основанием для его использования в качестве возможного субстрата в представленной работе. Установлено, что MAO печени белуги деаминирует тирамин, серотонин, норадреналин, бензиламин, ФЭА, N-метилгистамин и не деаминирует гистамин, т. е. проявляет субстратную специфичность, характерную для классической MAO млекопитающих. Как известно [9], величина V наилучшим образом характеризует потенциальную активность фермента по отношению к каждому субстрату. Как следует из таблицы 2, соотношения величин V при деаминировании тирамина, серотонина, норадреналина, бензиламина, ФЭА и N-метилгистамина для фермента печени белуги составляет 100 : 129 : 108 : 9 : 6 : 5. Проведенный анализ показывает, что исследованный фермент со значительно большей скоростью деаминировал серотонин и норадреналин, чем бензиламин, ФЭА и N-метилгистамин. При этом активности при деаминировании субстратов MAO А – серотонина и норадреналина – близки между собой, то же наблюдалось для субстратов MAO Б – бензиламина, ФЭА и N-метилгистамина. Таким образом, MAO печени белуги проявляет более высокую активность по отношению к исследуемым субстратам MAO А, чем по отношению к субстратам MAO Б. Несомненно важным является тот факт, что фермент печени бе-

луги обладает активностью, которая почти в 3 раза выше активностей фермента печени севрюги *Acipenser stellatus*, осетра персидского *Acipenser persicus* и осетра русского *Acipenser gueldenstaedtii* по отношению к субстрату обеих форм MAO – тирамину [3]. Величина активностей MAO печени белуги при деаминировании тирамина, серотонина и бензиламина близка к соответствующим значениям для MAO печени тунца, при этом сходным было также соотношение активностей, которое составляет 1 : 1,3 : 0,09 для белуги и 1 : 0,87 : 0,03 для тунца [5]. Как следует из представленных результатов, каталитическая активность изученной MAO была ниже по сравнению с ферментом печени крысы – наиболее широко изученного представителя млекопитающих [6], эти отличия составляли при деаминировании тирамина 5 раз, серотонина – 1,3 раза, бензиламина – 14 раз и ФЭА – 16 раз. Выявленная энзимологическая особенность, по-видимому, свидетельствует о менее напряженной «барьерной» функции MAO в печени этого вида рыбы по сравнению с печенью крысы. Можно предположить, что в печени белуги процесс инактивации биогенных аминов, катализируемый MAO, вследствие ряда факторов протекает менее интенсивно, чем в печени млекопитающего. Необходимо отметить, что наибольшие отличия наблюдаются для субстратов формы MAO Б.

Величина K_M является сложным количественным параметром, характеризующим взаимодействие фермента с определенным субстратом, поскольку представляет собой соотношение констант скоростей всех парциальных реакций ферментативного процесса. Следует отметить, что в литературе нет единого мнения о физическом и кинетическом смысле этого параметра. Однако это, в определенном смысле, количественная энзимологическая характеристика, дающая возможность сравнительных сопоставлений. Различие в величинах K_M , полученных для ферментов разного происхождения при деаминировании одного и того же субстрата, говорит о том, что эти ферменты не идентичны. Именно такой вывод можно сделать при сравнении полу-

ченных результатов для MAO печени белуги с результатами для MAO печени крысы, отличие между величинами K_M составляет 5–15 раз в зависимости от субстрата [6]. Значительно меньшая разница в величинах K_M наблюдается при дезаминировании тирамина, серотонина, бензиламина и ФЭА под действием MAO печени двух рыб – белуги и сига, отличие составляет 1,1–3,6 раз [1]. Установлено [8], что в случае TMAO, значение K_M при дезаминировании серотонина было в 2 раза меньше, чем для MAO А человека, значения K_M при дезаминировании ФЭА было в 8 раз больше, чем для MAO Б человека. Для ZMAO при дезаминировании серотонина, кинурамина, дофамина и тирамина были получены [7] также значения K_M , отличные от соответствующих значений для MAO А и MAO Б человека. Нами были также рассчитаны значения величин V/K_M , характеризующие первую сорбционную стадию процесса ферментативного дезаминирования (в какой-то мере эта величина отражает сродство субстрата к ферменту). Наибольшие значения V/K_M были получены для серотонина и норадреналина, наименьшие – для бензиламина, ФЭА и N-метилгистамина. Разница в значениях, полученных для специфических субстратов формы MAO А и формы MAO Б составляет 9–44 раза. Таким образом, сорбционная способность специфических субстратов MAO А на активном центре исследуемых ферментов была выражена сильнее, чем сорбционная способность субстратов MAO Б.

Представленные данные изучения субстратной специфичности MAO печени белуги, вероятно, могут быть объяснены тем, что по аминокислотному составу субстрат-связывающие сайты изученного фермента более сходны с MAO А, чем с MAO Б млекопитающих. Для подтверждения этого предположения нужны дополнительные исследования. Полученные в настоящей работе результаты могут служить еще одним весомым аргументом в пользу правомочности существующего предположения [10] о том, что наличие формы MAO Б является проявлением эволюционной физиологической адаптации животных к наземному образу жизни.

Заключение

На основании результатов субстратно-ингибиторного анализа митохондриальной MAO печени белуги с использованием хлоргилина и депренила, а также данных кинетического анализа ферментативного дезаминирования шести классических субстратов MAO, высказано предположение о наличии в печени белуги одной формы MAO, более похожей на MAO А, чем на MAO Б наземных млекопитающих. По-видимому, MAO печени белуги представляет собой новый тип MAO или промежуточную форму MAO, характерную для данного таксона. Приведенные в настоящей статье данные представляют особый интерес для сравнительных биохимических исследований обширного семейства АО животных, стоящих на разных ступенях эволюционного развития.

Список литературы

1. Басова, И. Н. Каталитические характеристики моноаминоксидазы печени сига *Coregonus lavaretus ludoga* / И. Н. Басова, О. В. Ягодина // Ж. эвол. биохим. и физиол. – 2011. – Т. 47. – С. 272–277.
2. Северина, И. С. О возможном механизме избирательного торможения хлоргилином и депренилом активности митохондриальной моноаминоксидазы печени крыс / И. С. Северина // Биохимия. – 1979. – Т. 44. – С. 195–204.
3. Ягодина, О. В. Исследование моноаминоксидазной активности печени и мозга некоторых рыб Волжского бассейна / О. В. Ягодина, И. Н. Басова, А. Е. Хованских // ДАН. – 2006. – Т. 407. – С. 124–126.
4. Ягодина, О. В. Моноаминоксидазная активность печени кеты (*Oncorhynchus keta*). Субстратно-ингибиторная специфичность // О. В. Ягодина, И. Н. Басова / ДАН. – 2007. – Т. 414. – С. 120–122.
5. Ягодина, О. В. Моноаминоксидаза печени тунца полосатого (*Katsuwonus pelamis*). Субстратно-ингибиторный анализ / О. В. Ягодина, И. Н. Басова // ДАН. – 2008. – Т. 421. – С. 838–841.
6. Ягодина, О. В. Сравнительное исследование каталитических свойств моноаминоксидазы печени норки и крысы / О. В. Ягодина // Ж. эвол. биохим. и физиол. – 2008. – Т. 44. – С. 570–575.
7. Aldeco, M. Catalytic and inhibitor binding properties of zebrafish monoamine oxidase (z-MAO): Comparison with human MAO-A and MAO-B / M. Aldeco, B. K. Arslan, D. E. Edmondson // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. – 2011. – V. 159. – P. 78–8.
8. Chen, K. Cloning of novel monoamine oxidase cDNA from trout liver / K. Chen, H. F. Wu, J. Grimsby, J. C. Shih // Mol. Pharmacol. – 1994. – V. 46. – P. 1226–1233.

9. Moralev, S. N. Comparative Enzymology of Cholinesterases / S. N. Moralev, E. V. Rozengart // International University Lines. Biotechnology Series. – La Jolla. (Calif.), 2007 – N. 6.

10. Setini, A. Molecular characterization of monoamine oxidase in zebrafish (Danio rerio) / A. Setini, F. Pierucci, O. Senatori, A. Nicotra // Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. – 2005. – V. 140. – P. 153–161.

Новинка! Вышла в свет книга проф. Кудряшова А.А.

«ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ ЛОШАДЕЙ»

Данная книга является второй в серии «Ветеринарная патологическая анатомия», выпускаемой НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии». Как и первая книга «Патологоанатомическая диагностика болезней собак и кошек» (www.invetbio.spb.ru/Kudryashov-2011.htm), настоящее издание является учебным пособием как для студентов ветеринарных факультетов, так и для врачей-иппологов.

В книге изложены порядок вскрытия лошадей, составления протоколов, правила отбора материала для дальнейших исследований, даны детальные описания 40 наиболее часто встречающихся заболеваний лошадей. Подробно освещены этиология, патогенез, клинические проявления и патологоанатомические изменения. Особое внимание уделено дифференциальной диагностике. Книга иллюстрирована большим количеством авторских фотографий, а также рисунками со схемами.

Тираж: 1000 экз. **Формат:** А5 (145 x 205 мм), мягкий переплет, 184 с. с илл.

Розничная цена книги – 800 руб. (с учетом почтовых расходов – 1040 руб.).

По вопросу приобретения обращайтесь по тел. +7 921 095-89-27, e-mail: invetbio@yandex.ru

Форма on-line заказа: www.invetbio.spb.ru/form_kniga_Kudryashov-loshadi.htm

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ

ВСКРЫТИЕ ТРУПОВ ЛОШАДЕЙ

1. Место вскрытия и инструментарий
2. Техника безопасности
3. Некоторые анатомические особенности лошади
4. Определение возраста лошади
5. Масть лошади
6. Порядок вскрытия
7. Техника исследования отдельных органов
8. Протоколирование вскрытия (протокол вскрытия)
9. Отбор и сохранение патологического материала, предназначенного для лабораторных исследований

ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ ЛОШАДЕЙ

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

1. Сибирская язва
2. Злокачественный отек
3. Некробактериоз
4. Столбняк
5. Ботулизм
6. Сальмонеллез
7. Листерия
8. Лептоспироз
9. Моноцитарный эрлихиоз
10. Эпизоотический лимфангит
11. Язвенный лимфангит
12. Мыт
13. Кропянтнистая болезнь

14. Сап
15. Туберкулез
16. Бруцеллез
17. Инфекционная анемия
18. Герпесвирусные болезни
19. Грипп лошадей
20. Аденовирусная инфекция
21. Вирусные энцефалиты и энцефаломиелиты
22. Африканская чума однокопытных
23. Вирусный артериит
24. Бешенство
25. Болезнь Ауески
26. Оспа лошадей
27. Везикулярный стоматит
28. Коринебактериоз жеребят
29. Микотоксикозы
30. Идиопатический колит

ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

1. Бабезиоз
2. Трипаносомозы
3. Параскариоз
4. Деляфондиоз
5. Гастрофилез

НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

1. Паралитическая миоглобинурия
2. Острое расширение желудка
3. Метеоризм кишечника
4. Перекручивание и заворот кишок
5. Амилоидоз печени

ИЛЛЮСТРАЦИИ

УДК 547.943.7/541.127/128.24/577.161.6

Ключевые слова: каталитическое окисление липидов, экспресс-тестирование антиоксидантной активности, мицеллы, водно-эмульсионная среда

Key words: catalytic oxidation of lipids, rapid testing antioxidant activity, micelles, water-emulsion environment

Перевозкина М. Г.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ БИОМЕМБРАН В ПРИСУТСТВИИ АНТИОКСИДАНТОВ

MODELING OF PROCESSES OF OXIDATION OF LIPIDS IN BIOMEMBRANES IN THE PRESENCE OF ANTIOXIDANTS

ФГБОУ ВПО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

Адрес: 625003, Россия, г. Тюмень, ул. Республики, 7

State Agrarian University of North Zauralye. Address: 625003, Russia, Tyumen, Republic str., 7

Перевозкина Маргарита Геннадьевна, канд. хим. наук, старший преподаватель кафедры агрохимии
Perevozkina Margarita G., Ph.D. in Chemical Science, Senior Lecturer of Agricultural Chemistry Department

Аннотация. Разработана кинетическая модель экспресс-тестирования антиоксидантной активности (АОА) различных классов органических соединений в условиях, приближенных к биологическим средам. Показано, что скорость окисления модельных липидов в водно-эмульсионной среде в 1000 раз выше, чем в безводной среде. Подобраны оптимальные условия каталитического окисления эфиров высших ненасыщенных жирных кислот в водно-эмульсионной среде в зависимости от природы и концентрации солей металлов переменной валентности и поверхностно-активного вещества. Исследована АОА важнейших органических ингибиторов в сравнении со стандартными антиоксидантами дибунолом и α -токоферолом в водно-липидных катализируемых субстратах.

Summary. *Developed kinetic model of rapid testing antioxidant activity (AOA) of various classes of organic compounds in conditions close to biological environments. The rate of oxidation of lipids in model water-emulsion medium is 1000 times higher than in non-aqueous medium. Optimal conditions of catalytic oxidation of unsaturated esters of higher fatty acids in aqueous emulsion medium, depending on the nature and concentration of salts of transition metals valence and surfactant. Investigated AOA important organic inhibitors compared with standard antioxidants dibunol and α -tocopherol the water-catalyzed lipid substrates.*

Введение

В настоящее время развитие многих патологий связывают с активацией перекисного окисления липидов биомембран. При этом в организме нарушается баланс процессов образования и распада пероксидов, свойственный нормальным тканям. Увеличение концентрации пероксидов меняет физические и биологические свойства мембран. Поэтому терапию многих патологий связывают с применением антиоксидантов. Актуальной остается проблема предварительного тестирования их антиоксидантной активности. Поскольку большинство известных моделей для тестирования антиоксидантов являются гидрофобными, представлялось актуальным подобрать гидрофильную липидную систему и проверить ее эффективность на примере известных химических соединений, предположительно имеющих антиоксидантную активность, сравнить их действие со стандартными ингибиторами окисления. Известны

многочисленные работы по тестированию активности катионов металлов, которые относятся в основном к катализу гомогенных липидных систем [1, 2, 9, 10]. Эти результаты имеют ограниченное значение для описания процессов окисления, протекающих в мицеллах и живой клетке.

Целью данного исследования являлась разработка кинетического способа тестирования антиоксидантной активности различных классов органических соединений (фенолов, аминов, серосодержащих соединений) в условиях, приближенных к биологическим средам, изучение антиоксидантной активности ряда полифункциональных соединений в сравнении с реперными антиоксидантами дибунолом и α -токоферолом.

Материалы и методы

Антиоксидантную активность (АОА) изучали манометрическим методом поглощения кислорода в модифицированной установке

типа Варбурга при окислении модельного субстрата (метиллинолеата (МЛ), метилолеата (МО) и этилолеата (ЭО)) в присутствии триметилцетиламмоний бромид (ЦТМАБ) в качестве поверхностно-активного вещества (ПАВ) (10^{-4} – 10^{-2} М), с добавками растворов солей металлов в количестве (10^{-6} – 10^{-1} М) при $t = (60 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$. Соотношение воды и эфира составляло 3 : 1, а общий объем пробы 4 мл [7]. Кинетику поглощения кислорода в безводной среде изучали в среде инертного растворителя хлорбензола, процесс инициировали за счет термического разложения азо-бис-изо-бутиронитрилом (АИБН). Использовали термостатируемую окислительную ячейку объемом 2–5 см³, окисление проводили кислородом воздуха, температура опытов составляла ($60 \pm 0,2$) °С. Графическим методом определяли величину периода индукции (t_i), представляющей собой отрезок оси абсцисс, отсекаемый перпендикуляром, опущенным из точки пересечения касательных, проведенных к кинетической кривой. Эффективность торможения процесса окисления липидного субстрата определяется совокупностью реакций ингибитора и обозначает его антиоксидантную активность, количественно определяемой по формуле $\text{АОА} = t_i - t_s / t_s$, где t_s и t_i – периоды индукции окисления субстрата в отсутствие и в присутствии исследуемого АО соответственно, сравнивали с действием ингибитора, принятого за стандарт. Скорость инициирования определяли уравнением $Wi = f [\text{InH}] / t_i$, где f – стехиометрический коэффициент ингибирования, $[\text{InH}]$ – концентрация ингибитора, t_i – период индукции. Из наклона кинетических кривых определяли начальную ($W_{\text{нач}}$) и максимальную (W_{max}) скорости окисления липидного субстрата.

Антирадикальную активность (АРА) тестируют в системе инициированного окисления этилбензола хемилюминесцентным (ХЛ) методом совместно с к. х. н. И. Ф. Русиной [6]. Для измерения интенсивности свечения была использована фотометрическая установка, созданная в ИХФ им. Семенова РАН. Окисление этилбензола проводили в стеклянной ячейке, расположенной в светонепроницаемой камере фотометрической

установки, снабженной фотоумножителем ФЭУ-29. Ячейка имеет термостатируемую рубашку. Через ячейку пропускали очищенный от пыли и паров воды воздух. Исследуемое вещество вводили в окислительную ячейку по ходу реакции с помощью шприцевого устройства. Излучаемый свет фокусировался на фотоумножитель с помощью системы сферических зеркал. Окисление инициировалось АИБН в концентрации 3×10^{-3} М при температуре $t = (60 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$. Скорость зарождения свободных радикалов определялась экспериментально с помощью реперного ингибитора – хромана С – и составила $2,3 \times 10^{-8}$ М \times с⁻¹. Для усиления свечения использовался люминофор 9,10-дибромантрацен в концентрации 5×10^{-4} М, не оказывающий влияния на кинетику окисления. Концентрация ингибитора составляла $(1-5) \times 10^{-4}$ М. В ходе эксперимента были получены типичные S-образные кинетические кривые. Основной кинетической характеристикой ХЛ кривых является величина тангенса угла наклона касательной, проведенной в точке перегиба, пропорциональная максимальной скорости расходования антиоксиданта $[d(I_0/I)/dt]_{\text{max}}$. Указанную величину использовали для расчетов значения k_7 с учетом уравнения

$$[d(I_0/I)/dt]_{\text{max}} = (0,22 \pm 0,02) \times k_7 \times \sqrt{W_i} / \sqrt{k_6},$$

где k_6 – константа скорости рекомбинации перекисных радикалов (для этилбензола $k_6 = 4,1 \times 10^8 e^{-2100/RT}$).

Кинетику накопления гидропероксидов изучали при аутоокислении модельных субстратов (МО и линолевой кислоты (ЛК)) методом обратного йодометрического титрования в среде хлорбензола, $t = (60 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$. В качестве стандартных ингибиторов использовали α -токоферол и дибунол, при этом концентрации АО были сравнимыми. Критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ) ЦТМАБ изучали методом Ребиндера и рефрактометрическим методом.

Результаты исследований и обсуждение полученных данных

Разработка кинетического метода базировалась на исследовании активности солей переходных металлов: FeSO_4 , FeCl_3 , NiCl_2 ,

CoCl_2 , CuCl_2 в водно-липидных субстратах. С целью выбора наиболее эффективного катализатора изучали в сравнительном аспекте влияние упомянутых выше солей на процесс окисления МЛ.

На рисунке 1 представлены кинетические кривые (КК) поглощения кислорода в присутствии равных добавок (1×10^{-3} М) солей железа (II,III), никеля (II), кобальта (II) и меди (II). Из рисунка 1 видно, что в сравнимых концентрациях наиболее эффективным катализатором является хлорид меди (II). Для него отмечается наибольшая скорость процесса, оцениваемая из наклона кинетических кривых. При сопоставлении абсолютных значений максимальной скорости окисления (W_{max}) исследуемые катализаторы располагаются в следующем порядке: $\text{NiCl}_2 < \text{FeCl}_3 < \text{Fe}_2\text{SO}_4 < \text{CoCl}_2 < \text{CuCl}_2$.

Действие упомянутых выше солей было изучено в широком диапазоне концентраций для отбора среди них наиболее эффективных катализаторов. В результате исследований установлено, что аутоускоренный характер имеет кинетика окисления водно-липидных субстратов в присутствии катионов Fe^{2+} , Co^{2+} и Cu^{2+} . Характер кинетических кривых окисления липидных субстратов в зависимости от концентрации катионов позволил предполагать преобладающее участие Fe^{3+} , Ni^{2+} в обрыве цепей, участие Fe^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} в зарождении и разветвлении цепей. Зависимости скорости окисления метиллинолеата от концентрации солей металлов носят экстремальный характер, экстремумы проявляются в разных диапазонах. Скорости окисления липидных субстратов в присутствии солей NiCl_2 и FeCl_3 выходят на максимум при концентрациях $1,0 \times 10^{-3}$ М, далее с ростом концентрации их значение не меняется и составляет $(4,0 \pm 0,2) \times 10^{-5}$ М \times с $^{-1}$ и $(5,0 \pm 0,3) \times 10^{-5}$ М \times с $^{-1}$ соответственно. Максимальная скорость при окислении с добавками сульфата железа отмечается в диапазоне (0,1–1,0) М и составляет $(9,4 \pm 0,4) \times 10^{-5}$ М \times с $^{-1}$, при дальнейшем росте концентрации – остается постоянной и составляет $(6,0 \pm 0,2) \times 10^{-5}$ М \times с $^{-1}$. Зависимость W_{max} систем с добавками хлорида кобальта имеет «пик» при концентрации $(9–11) \times 10^{-3}$ М, при которой ее

величина составляет $(24,4 \pm 0,4) \times 10^{-5}$ М \times с $^{-1}$. Хлорид меди по своим каталитическим свойствам выделяется среди всех исследуемых веществ. Скорость окисления в присутствии хлорида меди выше в 5 раз, чем в присутствии других солей металлов переменной валентности и при концентрации 2×10^{-3} М составляет $(26,3 \pm 0,3) \times 10^{-5}$ М \times с $^{-1}$ (рис. 2).

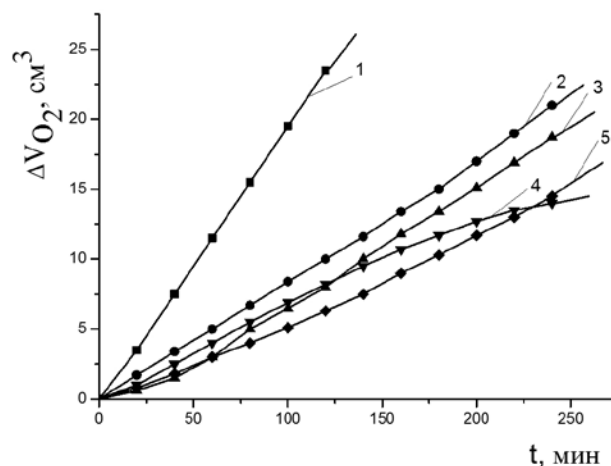


Рис. 1. Кинетика окисления МЛ в водно-эмульсионной среде в присутствии добавок солей металлов в концентрации 1×10^{-3} М : 1 – CuCl_2 , 2 – FeSO_4 , 3 – CoCl_2 , 4 – FeCl_3 , 5 – NiCl_2 , 1×10^{-3} М $\text{C}_{\text{ЦТМАБ}}$, $t = 60$ °С.

В нашем эксперименте каталитическая активность солей металлов уменьшается в ряду: $\text{Cu}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Co}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$. Ранее каталитическое действие металлов переменной валентности изучалось при окислении растительных масел и модельных липидных субстратов [1, 3, 4, 6]. Был получен ряд каталитической активности: $\text{Cu}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Cr}^{2+} > \text{Ni}^{2+} \gg \text{Zn}^{2+}$. Как видно из приведенных выше данных изученные соли вписываются в указанный ряд активности металлов, а хлорид меди обладает наибольшей каталитической активностью при наименьшей концентрации 2×10^{-3} М.

Следующим этапом создания модели для тестирования антиоксидантов был выбор концентрации ЦТМАБ. Известно [4], что скорость окисления в гомогенных системах ниже, чем в эмульсиях и зависит от степени ее дисперсности. В работе [2] установлено, что соотношение констант скорости роста и обрыва цепи при инициированном окислении кумола в эмульсиях и гомогенной системе соотносится как 5,5 : 1 и равно 110 и 20 соответственно.

Нами также было установлено, что скорость окисления МЛ в водно-эмульсионной среде ~ в 1000 раз выше, чем в безводной среде.

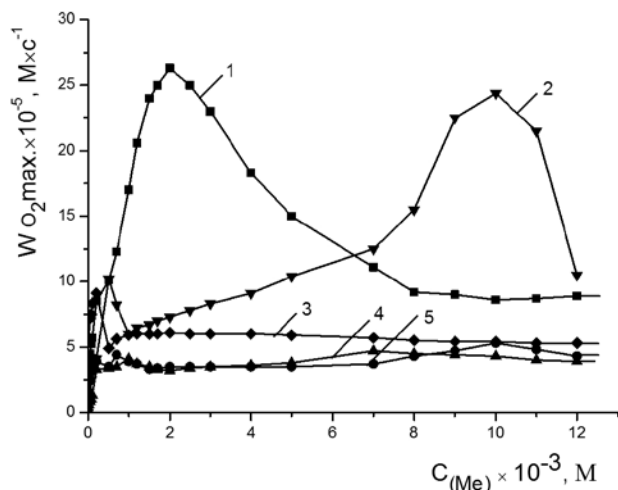
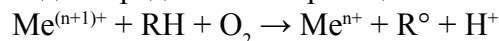


Рис. 2. Зависимость стационарных скоростей окисления МЛ в присутствии солей катализаторов от их концентрации, М: 1 – NiCl₂, 2 – FeCl₃, 3 – Fe₂SO₄, 4 – CoCl₂, 5 – CuCl₂, 1 × 10⁻³ М C_{ЦТМАБ}, t = 60 °С.

При выборе оптимальной концентрации ЦТМАБ исследовали диапазон (10⁻⁴–10⁻²) М. Установлено, что с ростом концентраций ПАВ скорость процесса проходит через максимум, соответствующий концентрации 1 × 10⁻³ М. Дальнейшее повышение концентрации ЦТМАБ приводит к снижению скорости окисления. Указанную концентрацию детергента, обеспечивающую наибольшую скорость реакции, можно рекомендовать для использования в гетерогенных моделях окисления. Методом Ребиндера и рефрактометрически была определена ККМ ЦТМАБ, равная (1,0±0,2) × 10⁻³ М, что соответствовало кинетическим данным.

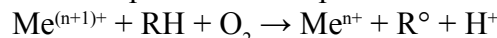
Механизм каталитического окисления липидов в водно-эмульсионной среде сводится к следующему: в присутствии ЦТМАБ формируются мицеллы. Добавки катионного ПАВ усиливают мицеллообразование, при этом катионы внедряются в промежутки между углеводородными «хвостами» и образуют двойной электрический слой. При образовании свободных радикалов высших жирных кислот катионы катализатора должны иметь доступ к гидрофобным хвостам субстрата. При низких концентрациях катионы катализатора имеют большую вероят-

ность донорно-акцепторного взаимодействия с эфирными группами субстрата, приводящего к образованию в присутствии катализатора свободных радикалов по реакции:

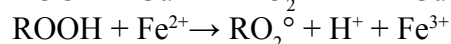
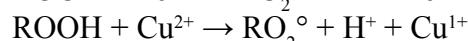
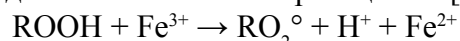


В соответствии с приведенной гипотезой, добавки 1 × 10⁻³ М ЦТМАБ являются оптимальными, обеспечивающими максимальный контакт катионов меди и кислорода с жирно-кислотными радикалами. Увеличение концентрации ПАВ снижает количество таких контактов и скорость процесса соответственно.

При низких концентрациях катионы катализатора имеют большую вероятность донорно-акцепторного взаимодействия с эфирными группами субстрата, приводящего к образованию в присутствии катализатора свободных радикалов по реакции:



Механизм действия металлов связывают с каталитическим разрушением гидропероксидов в соответствии с реакциями [2]:



Образующиеся при этом алкоксильные и пероксильные радикалы участвуют в дальнейшем в реакциях продолжения цепей окисления. Катионы металлов могут конкурентно участвовать в обрыве цепей, что должно приводить к замедлению процесса на глубоких стадиях окисления. Замедление процесса возможно также за счет перехода катиона металла в менее активную форму.

На основе проведенных исследований была предложена новая кинетическая модель для тестирования биоантиоксидантов. Модельный субстрат содержит 2 × 10⁻³ М хлорида меди (II), 1 × 10⁻³ М ЦТМАБ, липиды (ЭО, МО, МЛ) и воду, соотношение липиды – вода – 1 : 3.

В настоящей работе приведены результаты исследования кинетики каталитического окисления липидного субстрата в водно-эмульсионной среде в присутствии ряда полифункциональных соединений. Ряд производных фенола составили: парацетамол, осалмид. Ряд двухатомных фенолов представляли: адреналин, метилдофа.

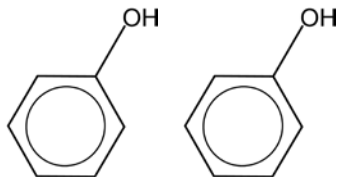
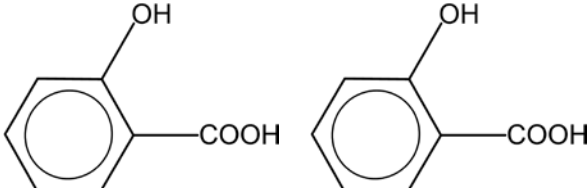
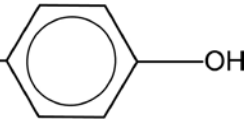
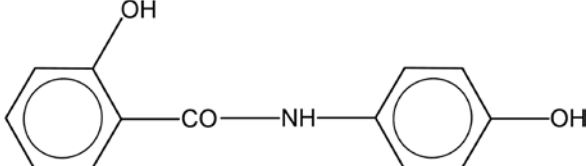
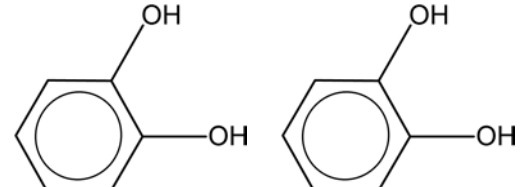
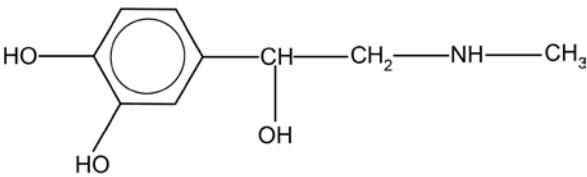
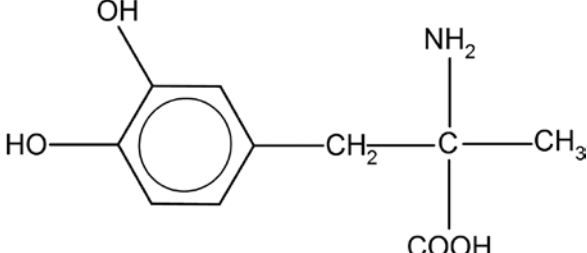
В качестве гетероциклических производных использовались: фентоламин, аллопуринол, эмоксипин. В качестве аминов исследовали: новокаин, коринфар. В качестве серосодержащего соединения изучали капотен. Реперными АО послужили α -токоферол и дибунол, а также фенол, са-

лициловая кислота, пирокатехин. Химические формулы изучаемых соединений приведены в таблице 1.

Для доказательства свободно-радикального механизма каталитического окисления липидного субстрата использован метод ингибиторов. Проведено исследование законо-

Таблица 1.

Химические формулы изучаемых антиоксидантов

№ п/п	Название АО	Формула
1	Фенол (гидроксибензол)	
2	Салициловая кислота (ортогидроксибензойная кислота)	
3	Парацетамол (пара-ацетаминофенол)	$\text{CH}_3\text{—CO—NH—}$ 
4	Осалмид (амид 1-(N-4'-гидроксифенил) салициловой кислоты)	
5	Пирокатехин (1,2-дигидроксибензол)	
6	Адреналин (1-(3',4'-дигидроксифенил)-2(N-метил)- аминоэтанол)	
7	Метилдофа (2-амино-2-метил-3-(3',4'-дигидрокси)- фенилпропановая кислота)	

8	<p>Фентоламин (2-[N-пара-толил-N-(мета-оксифенил)-аминометил]-имидазолина гидрохлорид)</p>	
9	<p>Аллопуринол (1,5-дигидро-4Н-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4-он)</p>	
10	<p>Эмоксипин (3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридин)</p>	
11	<p>Новокаин (2-(диэтиламино)этил-4-аминобензоат)</p>	
12	<p>Коринфар (2,6-диметил-4-(2'-нитро-фенил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоновой кислоты диметилловый эфир)</p>	
13	<p>Капотен 1-[(2S)-3-меркапто-2-метилпропионил]-L-пролин</p>	
14	<p>Дибунол (2,6-дитрет.бутил-4-метил-фенол)</p>	
15	<p>α-токоферол (2,5,7,8-тетраметил-2-(4,8,12-триметил-тридецил)-6-оксихроман)</p>	

мерностей окисления модельного субстрата (МЛ, ЭО) в присутствии добавок стационарных ингибиторов окисления дибунола и α -токоферола. По результатам эксперимента рассчитаны кинетические параметры окисления субстратов.

В нашем исследовании установлен идентичный характер кинетических кривых при окислении липидных субстратов в растворе хлорбензола в присутствии 6×10^{-3} М инициатора АИБН и водно-эмульсионной системе в присутствии 2×10^{-3} М хлорида меди при разных концентрациях дибунола (рис 3. а, б). На рисунке 3б показано, что в водно-эмульсионной среде дибунол проявляет себя как сильный ингибитор: наблюдается период полного торможения, период аутоускорения и достижение максимальной скорости окисления. Периоды индукции увеличиваются пропорционально увеличению концентрации дибунола. Наличие торможения в присутствии добавок дибунола является признаком радикально-цепного механизма процесса. По наклону прямой в координатах τ , $[\ln H]$ была рассчитана скорость иницирования в обеих системах, получены значения $6,2 \times 10^{-8}$ и $6,7 \times 10^{-5}$ М \times с $^{-1}$ в безводной и водно-эмульсионной системе соответственно. Сравнение максимальных скоростей окисления ЭО при $t = (60 \pm 0,2)$ °С в безводной и водно-эмульсионной средах, равных $1,3 \times 10^{-7}$ и $1,4 \times 10^{-4}$ М \times с $^{-1}$, соответствует различию скоростей иницирования \sim в 1000 раз.

Показано, что реперный биоантиоксидант α -токоферол в ВЭС проявлял слабые антиоксидантные свойства, в концентрациях свыше 1×10^{-3} М промотировал процесс окисления липидных субстратов (рис. 4, табл. 2). Полученные результаты указывают на более сложный механизм действия α -токоферола в катализируемом субстрате. Причиной ускорения процесса может быть комплексообразование ОН-группы α -токоферола с катализатором. В процессе окисления α -токоферол образует достаточно активные токофероксильные радикалы, способные участвовать в побочных реакциях продолжения цепей с молекулами субстрата (RH):

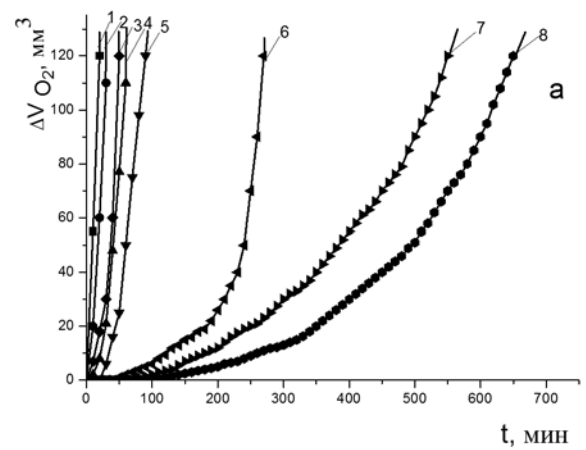
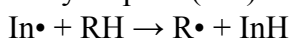


Рис. 3а. Кинетика окисления этилолеата в безводной среде в присутствии добавок дибунола, М: 1 – контроль, 6×10^{-3} М АИБН; 2 – 5×10^{-6} , 3 – 1×10^{-5} , 4 – 5×10^{-5} , 5 – 1×10^{-4} , 6 – 5×10^{-4} , 7 – $7,5 \times 10^{-4}$, 8 – 1×10^{-3} , $t = 60$ °С.

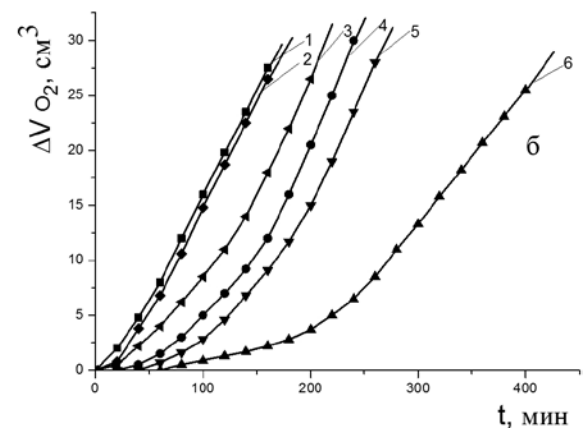


Рис. 3б. Кинетика окисления этилолеата в водно-эмульсионной среде в присутствии добавок дибунола, моль/дм³: 1 – контроль, 2×10^{-3} моль/дм³ CuCl_2 ; 2 – 1×10^{-6} , 3 – 2×10^{-5} , 4 – 5×10^{-5} , 5 – 1×10^{-4} , 6 – 5×10^{-4} , $t = 60$ °С.

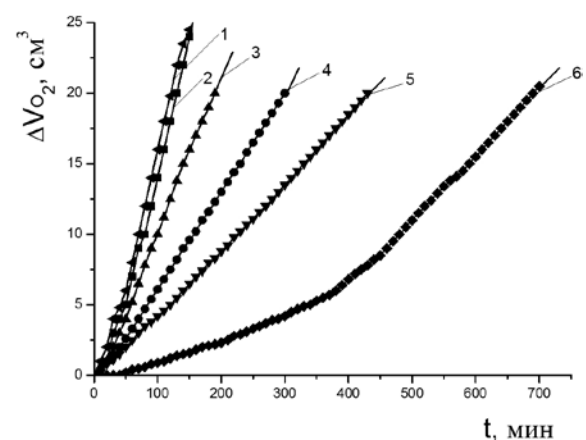


Рис. 4. Кинетика окисления этилолеата в водно-эмульсионной среде в присутствии добавок АО в концентрации 1×10^{-3} М: 1 – контроль; 2 – α -токоферол; 3 – салициловая кислота; 4 – фенол; 5 – парацетамол; 6 – осалмид; 2×10^{-3} М CuCl_2 , $t = 60$ °С.

Таблица 2.

**Кинетические параметры окисления липидных субстратов
в водно-эмульсионной среде в присутствии 2×10^{-3} М CuCl_2
в зависимости от концентрации АО, $t = 60$ °С**

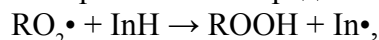
№ п/п	$C_{(АО)}, \text{М}$	$\tau, \text{мин.}$	$W_{\text{нач.}} \times 10^{-5}, \text{М} \times \text{с}^{-1}$	$W_{\text{max.}} \times 10^{-5}, \text{М} \times \text{с}^{-1}$
I Фенол				
1	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
2	1×10^{-4}	30	3,9	4,6
3	1×10^{-3}	50	2,5	4,0
4	1×10^{-2}	130	1,3	3,2
II Салициловая кислота				
5	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
6	1×10^{-4}	22	3,6	7,7
7	1×10^{-3}	35	5,1	11,9
8	1×10^{-2}	40	3,6	6,5
III Парацетамол				
9	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
10	1×10^{-4}	20	6,2	10,0
11	1×10^{-3}	40	2,5	3,1
12	1×10^{-2}	45	2,0	2,4
IV Осалмид				
13	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
14	1×10^{-4}	45	2,9	4,4
15	1×10^{-3}	350	0,6	2,7
16	1×10^{-2}	500	0,4	2,5
V Пирокатехин				
17	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
18	1×10^{-4}	9	12,0	17,3
19	1×10^{-3}	70	5,1	14,2
20	1×10^{-2}	120	1,9	16,8
V Адреналин				
21	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
22	1×10^{-4}	30	3,4	4,6
23	1×10^{-3}	40	2,1	4,5
24	1×10^{-2}	60	0,9	3,8
VI Метилдофа				
25	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
26	1×10^{-4}	30	6,8	8,8
27	1×10^{-3}	35	3,4	5,1
28	1×10^{-2}	60	0,9	2,4
VII Фентоламин				
29	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
30	1×10^{-4}	15	7,4	13,7
31	1×10^{-3}	20	6,8	13,8
32	1×10^{-2}	55	6,1	13,4

VIII Аллопуринол				
34	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
35	1×10^{-4}	50	3,7	5,3
36	1×10^{-3}	70	3,5	5,5
37	1×10^{-2}	80	2,6	5,6
IX Эмоксипин				
38	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
39	1×10^{-4}	40	2,1	4,3
40	1×10^{-3}	55	1,0	3,5
41	1×10^{-2}	90	0,7	2,6
X Новокаин				
42	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
43	1×10^{-4}	45	6,7	9,2
45	1×10^{-3}	50	6,5	7,6
46	1×10^{-2}	70	5,7	6,8
XI Коринфар				
47	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
48	1×10^{-4}	26	4,9	7,0
49	1×10^{-3}	50	3,9	5,0
50	1×10^{-2}	100	1,4	2,5
XII Капотен				
51	Контроль МЛ	5	14,4	26,3
52	1×10^{-4}	26	6,2	16,9
53	1×10^{-3}	45	3,6	17,6
54	1×10^{-2}	95	2,1	17,5
55	1×10^{-1}	395	0,6	17,4
XIII Дибунол				
56	Контроль ЭО	15	7,5	14,0
57	1×10^{-6}	40	7,3	13,6
58	1×10^{-5}	65	7,0	12,3
59	1×10^{-4}	140	2,1	8,7
60	2×10^{-4}	210	1,6	8,6
61	1×10^{-3}	600	1,0	8,0
XIV α -токоферол				
62	Контроль МЛ	5	14,4	26,3
63	1×10^{-8}	10	14,0	21,3
64	1×10^{-7}	15	11,0	21,1
65	1×10^{-6}	20	9,7	19,4
66	1×10^{-5}	25	6,8	18,3
67	1×10^{-4}	35	5,2	14,3
68	1×10^{-3}	15	14,6	32,2
69	1×10^{-2}	6	15,7	34,4
70	1×10^{-1}	5	16,8	57,3

Примечание: $p < 0,05$.

Поскольку известно [3, 5, 8], что в углеводородной среде увеличение АРА фенолов происходит под влиянием электронодонорных заместителей, рассмотрим полученные ряды соединений в зависимости от структуры. В соответствии с теорией, ингибиторы условно делятся на сильные и слабые [3]. Сильные ингибиторы эффективно тормозят окисление, участвуя только в реакциях обрыва цепей. Кинетика такого процесса характеризуется периодом полного торможения, аутоускорением и достижением максимальной скорости. Слабые ингибиторы способны не только обрывать цепи, но из-за высокой активности своих радикалов участвовать в реакциях продолжения цепей. Кинетика такого процесса характеризуется отсутствием периода полного торможения, достаточно высокими начальными скоростями, аутоускорением на определенном уровне окисления, достижением максимальной скорости. Алкилированные в *para*- и *ortho*-положения фенолы, двухатомные фенолы считаются сильными ингибиторами. Каждая алкильная или гидроксильная группа увеличивает АРА на определенную величину. Ингибитор тем эффективнее, чем меньше полярность и больше размер заместителя в *para*-положении.

Методом хемилюминесценции для некоторых исследуемых соединений была оценена величина константы скорости реакции k_7 АО с пероксильными радикалами [6]:



где InH – ингибитор окисления, $In\cdot$ – радикал ингибитора, $RO_2\cdot$ – пероксильный радикал.

Стехиометрический фактор ингибирования f , показывающий количество свободных радикалов, реагирующих с молекулой ингибитора, приведен в таблице 3. При исследовании кинетики изменения интенсивности ХЛ в присутствии исследуемых соединений было установлено, что все АО оказывают ингибирующее действие на процесс окисления модельного субстрата. Показано, что наибольшую активность в реакции с пероксильными радикалами проявляет осалмид (табл. 3), константа скорости реакции k_7 , которого обусловлена акцепторным характером заместителя в *para*-положении, наличием π - p -сопряжения между амино-группой и фенолом. АРА осалмида может складываться из активности двух гидроксильных групп. В эмоксипине в положении 2 и 4 по отношению к гидроксилу расположены донорные алкильные заместители, в парацетамоле донорный заместитель содержится в *para*-положении. В салициловой кислоте антирадикальная активность может снижаться за счет акцепторного характера карбоксильной группы. Сравнение констант скорости реакции k_7 исследуемых соединений и α -токоферола показывает, что основной природный АО более активен в реакции с пероксильными радикалами в 360 раз.

На рисунке 4 представлены КК окисления ЭО с равными добавками производных фенола. АОА салициловой кислоты всегда ниже, чем у фенола и уменьшается с увеличением ее концентрации (рис. 4, табл. 2). Такой характер влияния салициловой кислоты может быть обусловлен образованием салицилата

Таблица 3.

Значения константы скорости реакции АО с пероксильными радикалами $RO_2\cdot$

$$W_i = 2,3 \times 10^{-8} \text{ M} \times \text{c}^{-1}; C_{AO} = 1 \times 10^{-3} \text{ M}; t = 60 \text{ }^\circ\text{C}$$

№ п/п	Название фенола	$k_7 \times 10^4, \text{ M}^{-1} \times \text{c}^{-1}$	f
1	Фенол	0,24	2,7
2	Салициловая кислота	0,23	2,0
3	Парацетамол	4,00	2,4
4	Осалмид	6,86	2,4
5	Эмоксипин	0,61	2,0
6	α -токоферол	360	2,0
7	Дибунол	1,40	2,0

Примечание: $p < 0,05$.

меди. Показано, что все исследуемые концентрации осалмида и парацетамола уменьшали начальную и максимальную скорости окисления в 2–5 раз по сравнению с контролем (табл. 2). Исходя из концентрационных зависимостей, получаем ряд уменьшения АОА активности: дибунол > осалмид > парацетамол > фенол > салициловая кислота.

Установлено, что эффективность торможения при всех концентрациях пирокатехина существенно ниже, чем для подобных концентраций фенола (рис. 5, табл.4). Очевидно, что причину такого различия нельзя объяснить структурой фенолов и следует связывать с влиянием активности катализатора. Пирокатехин существенно тормозит окисление ЭО только при концентрациях 1×10^{-2} М и выше. При концентрации пирокатехина 1×10^{-4} М происходит ускорение, а при его концентрации 1×10^{-3} М – очень слабое замедление процесса (рис. 6). Вероятно, ускорение процесса обусловлено активацией катализатора за счет комплексообразования с солями меди. При концентрации пирокатехина 1×10^{-2} М его соотношение с катализатором составляет 5 : 1. В этих условиях большая часть пирокатехина не задействована в комплексообразовании и проявляет антиоксидантную активность.

Взаимосвязь между периодами индукции и концентрацией адреналина и метилдофы во всем изученном диапазоне положительная (рис. 5, табл. 2). Очевидно, что в производных пирокатехина *орто*-гидроксильные группы связаны комплексообразованием с солями меди. Поэтому высокая антиоксидантная активность адреналина и метилдофы, снижение максимальной скорости окисления может свидетельствовать об участии аминов в реакциях с гидропероксидами с образованием молекулярных продуктов.

Рассмотрим ряд гетероциклических производных: фентоламин, аллопуринол, эмоксипин. Фентоламин относится к аминам-фенолам первой группы, в присутствии которых при различных концентрациях происходит окисление мицеллярного субстрата без периода индукции и периода аутоускорения. Низкая АОА фентоламина может быть обусловлена нарушением сопряжения из-за

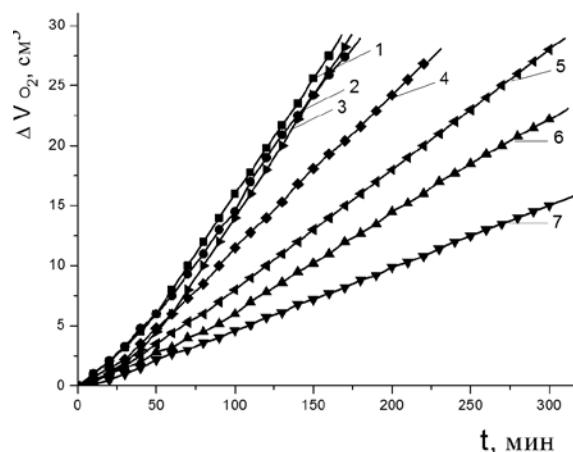


Рис. 5. Кинетика окисления этилолеата в водно-эмульсионной среде в присутствии добавок АО в концентрации 1×10^{-3} М: 1 – контроль, 2 – фентоламин; 3 – пирокатехин; 4 – новокаин; 5 – коринфар; 6 – аллопуринол; 7 – эмоксипин, 2×10^{-3} М CuCl_2 , $t = 60^\circ\text{C}$.

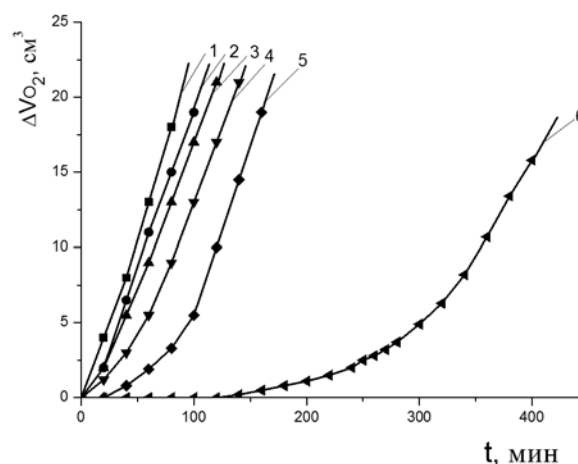


Рис. 6. Кинетика окисления метиллиолеата в водно-эмульсионной среде в присутствии капотена: 1 – контроль; 2 – 1×10^{-6} М; 3 – 1×10^{-4} М; 4 – 1×10^{-3} М; 5 – 1×10^{-2} М; 6 – 1×10^{-1} М, 2×10^{-3} М CuCl_2 , $t = 60^\circ\text{C}$.

объемного заместителя в положении 3. Показано, что при всех концентрациях эмоксипин тормозит начальные и максимальные скорости окисления. В присутствии аллопуринола и эмоксипина наблюдаются периоды индукции и периоды аутоускорения. Соединения относятся к аминам-фенолам второй группы. Вероятно, в этих условиях лимитирующей является реакция разрушения аминами гидропероксидов по молекулярному механизму. Зависимости периодов индукции от концентрации эмоксипина, аллопуринола и фентоламина приведены в таблице 2.

В качестве серосодержащего соединения в настоящей работе был изучен капотен.

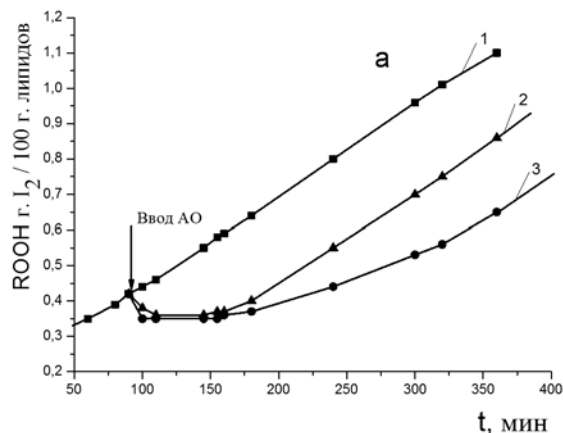


Рис. 7а. Кинетика накопления гидропероксидов при аутоокислении МО в присутствии равных концентраций АО: 1 – контроль, 2 – эмоксипин, 3 – капотен.

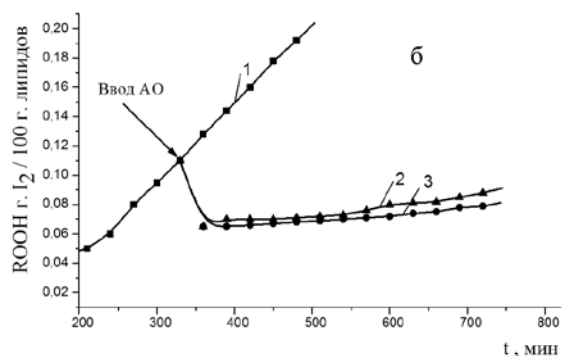
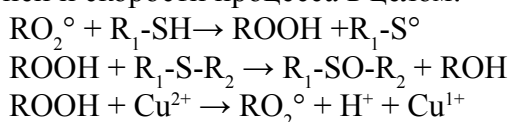


Рис. 7б. Кинетика накопления гидропероксидов при аутоокислении ЛК в присутствии равных концентраций АО: 1 – контроль, 2 – аскормид, 3 – парацетамол. Стрелкой показан вброс АО. $C_{(АО)} = 2 \times 10^{-4}M$, $t = 60^\circ C$.

Показано, что все добавки капотена тормозят процесс окисления, снижая начальную и максимальную скорости (рис. 6, табл. 2). Вероятно, капотен (R_1-SH) участвует в реакциях обрыва цепей, обеспечивая ингибирование процесса окисления, снижение скорости окисления обусловлено его конкурентным участием с катализатором в распаде гидропероксидов по молекулярному механизму, что влияет на снижение скорости разветвления цепей и скорости процесса в целом:



Общим в эффекте всех аминов и серосодержащего препарата капотена является снижение максимальной скорости процесса пропорционально увеличению концентрации. Эффект уменьшения начальной и максимальной скорости окисления отмечается

для всех АО, кроме пирокатехина и фентоламина, в наибольшей степени это влияние проявляется в действии эмоксипина, осалмида и парацетамола.

Для подтверждения гипотезы о возможном разрушении гидропероксидов под действием гибридных АО были проведены эксперименты по тестированию кинетики накопления гидропероксидов (ROOH) с добавками в частично окисленный субстрат каждого из исследуемых АО (рис. 7 а, б). После внесения ингибитора в течение первого часа наблюдалось снижение концентрации гидропероксидов, в контрольном опыте ROOH продолжали накапливаться. Установлено, что все исследуемые соединения способствуют разрушению гидропероксидов на 50–75 %.

Выводы

1. Разработана кинетическая модель тестирования биоантиоксидантов в водно-эмульсионной каталитической среде, выбраны оптимальные концентрации катализатора и поверхностно-активного вещества.
2. Получен ряд каталитической активности солей металлов переменной валентности: $Cu^{2+} > Fe^{2+} > Fe^{3+} > Co^{2+} > Ni^{2+}$.
3. Показан идентичный механизм действия стационарного антиоксиданта дибунола при окислении безводных и водно-эмульсионных липидных субстратов.
4. Получен ряд увеличения антиоксидантной активности полифункциональных соединений: фентоламин < салициловая кислота < новокаин < аллопуринол < пирокатехин < фенол < парацетамол < коринфар < адреналин < метилдофа < эмоксипин < капотен < осалмид < дибунол.
5. Константа скорости реакции антиоксидантов с пероксильными радикалами k_7 уменьшается в ряду: $3,60 \times 10^6 M^{-1} \times c^{-1}$ (α -токоферол) > $6,86 \times 10^4 M^{-1} \times c^{-1}$ (осалмид) > $4,00 \times 10^4 M^{-1} \times c^{-1}$ (парацетамол) > $1,40 \times 10^4 M^{-1} \times c^{-1}$ (дибунол) > $6,10 \times 10^3 M^{-1} \times c^{-1}$ (эмоксипин) > $2,40 \times 10^3 M^{-1} \times c^{-1}$ (фенол) > $2,30 \times 10^3 M^{-1} \times c^{-1}$ (салициловая кислота).
6. Установлено, что исследуемые соединения в процессе окисления способны как эффективно уничтожать пероксильные ра-

дикалы, так и разрушать гидропероксиды молекулярным путем. Вероятно, что антирадикальная активность ингибиторов обусловлена присутствием в их химической структуре фенольного гидроксила, а способность разрушения гидропероксидов связана с наличием amino-, амидной или сульфидной группы.

По результатам антиоксидантной активности ряда лекарственных препаратов различного фармакологического действия было выявлено наиболее эффективное соединение – осалмид. В Новосибирском институте органической химии (НИОХ) им. Н. Н. Ворожцова СО РАН на базе структуры осалмида была синтезирована группа замещенных амидов и сульфидов салициловой кислоты, имеющих в *орто*- и *пара*-положении экранирующие *трет*-бутильные заместители. Сравнительному тестированию ингибирующих свойств новых перспективных соединений с целью выявления среди них активных антиоксидантов будет посвящена отдельная работа.

Список литературы

1. Арутюнян, Р. С. Иницированное окисление кумола в водных эмульсиях / Р. С. Арутюнян, Дж. М. Налбандян, Н. М. Бейлерян // Кинетика и катализ. – 1985. – Т. 26. – Вып. 4. – № 6. – С. 1475–1477.
2. Владимиров, Ю. А. Митохондрии. Транспорт электронов и преобразование энергии / Ю. А. Вла-

димиров, Т. Б. Сулова, В. И. Оленев. – М.: Наука, 1976. – 109 с.

3. Денисов, Е. Т. Элементарные реакции ингибиторов окисления / Е. Т. Денисов // Успехи химии. – 1973. – Т. 42. – Вып. 3. – С. 361–390.

4. Паничева, Л. П. Мицеллярно-каталитическое окисление углеводородов. 1. Окисление кумола кислородом в водных растворах додецилсульфата натрия в присутствии сульфата меди / Л. П. Паничева, Н. Ю. Третьяков, С. А. Яковлева, А. Я. Юффа // Кинетика и катализ. – 1990. – Т. 31. – Вып. 1. – С. 96–101.

5. Рогинский, В. А. Фенольные антиоксиданты / В. А. Рогинский. – М.: Наука, 1988. – 247 с.

6. Русина, И. Ф. Хемилюминесцентные методы в исследовании ингибиторов окисления / И. Ф. Русина, канд. хим. наук. – М.: Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, 2011. – 22 с.

7. Ушкалова, В. Н. Разработка способа тестирования средств антиоксидантотерапии / В. Н. Ушкалова, М. Г. Перевозкина, Э. В. Барышников // В сб.: Свободно-радикальное окисление липидов в эксперименте и клинике. – Тюмень: Тюм. ГУ, 1997. – С. 77–82.

8. Эммануэль, Н. М. Механизм действия антиоксидантов. Современные представления / Н. М. Эммануэль // Нефтехимия. – 1982. – Т. 22. – № 4. – С. 435–447.

9. Allen, Y. C. A comparison between the metal-catalysed autoxidation of aqueous emulsions of linoleic acid, trilinolein and phospholipids 3 Symp. int. oxide lipides catalyses metaux / Y. C. Allen, P. Farag. – Paris, 1974. – P. 44–56.

10. Burton, G. W. Autoxidation of biological molecules. 1. The antioxidant activity of vitamin E and related chainbreaking phenolic antioxidant in vitro / G. W. Burton, K. U. Ingold // J. Amer. Chem. Soc. – 1987. – V. 103. – N 21. – P. 6472–6477.



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 телефону: (343) 214-76-30, 8-912-046-78-45.
Адрес редакции: 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а.
E-mail: vetklinika@uralbiovet.ru.

Уверенность в знаниях!



УДК 619:616.98:578.822.2-07

Ключевые слова: парвовирус типа I, крупный рогатый скот, ПЦР

Key words: parvovirus type I, cattle, PCR

Ефимова М. А., Гаффаров Х. З., Иванов А. В., Фаизов Т. Х., Хаммадов Н. И.

**ВЫЯВЛЕНИЕ ПАРВОВИРУСА ТИПА I
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ ПЦР
DETECTION OF PARVOVIRUS TYPE I OF CATTLE BY PCR**

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

Адрес: 420075, Россия, г. Казань, Научный городок-2. E-mail: vnivi@mail.ru

Federal Center of Toxicological, Radiation and Biological Safety

Address: 420075, Russia, Kazan, Nauchny gorodok-2. E-mail: vnivi@mail.ru

Ефимова Марина Анатольевна, к. в. н., ст. научн. сотрудник лаборатории вирусологии
*Efimova Marina A., Ph.D. in Veterinary Science, Senior Research Assistant of the Laboratory of Virology*Гаффаров Харис Зарипович, д. в. н., проф., зав. лабораторией вирусологии
*Gaffarov Kharis Z., Doctor of Veterinary Science, Professor, Head of the Laboratory of Virology*Иванов Аркадий Ваисльевич, д. б. н., проф., чл.-кор. РАН, директор
*Ivanov Arkadiy V., Doctor of Biology Science, Professor, Corresponding Member
of the Russian Academy of Agricultural Sciences*Фаизов Тагир Хадеевич, д. в. н., проф., зав. лабораторией биохимии и молекулярно-генетического анализа
*Faizov Tagir H., Doctor of Veterinary Science, Professor, Head of the Laboratory
of Biochemistry and Molecular-Genetic Analysis*Хаммадов Наиль Ильдарович, к. б. н., научн. сотрудник лаборатории
биохимии и молекулярно-генетического анализа
*Hammadov Nail I., Ph.D. in Biology Science, Research Assistant of the Laboratory
of Biochemistry and Molecular-Genetic Analysis*

Аннотация. Проведена индикация парвовируса типа I в образцах клинического и патологического материалов, полученных от животных из хозяйств, неблагополучных по желудочно-кишечным и респираторным инфекциям телят, а также по болезням репродуктивных органов маточного поголовья крупного рогатого скота. В результате методом NESTED-PCR из 12 образцов в 8 был обнаружен геном парвовируса типа I.

Summary. The indication of parvovirus type I was carried out in samples of clinical and pathological material from animals from farms affected by gastrointestinal and respiratory infections of calves, as well as by diseases of reproductive organs of breeding stock. As a result the genome of parvovirus type I was discovered in 8 samples out of 12 using the method of NESTED-PCR.

Введение

Парвовирусная инфекция крупного рогатого скота характеризуется нарушением воспроизводительной функции у коров и поражением органов дыхания и пищеварения телят [4, 6]. Возбудителем являются представители семейства *Parvoviridae*, принадлежащие трем родам: парвовирус КРС 1 (BPV1) – род *Bocavirus*, парвовирус КРС 2 (BPV2) – род *Dependovirus* и парвовирус КРС 3 (BPV3) – род *Erythrovirus* (1). Геном парвовирусов представлен единой односпиральной линейной молекулой ДНК с молекулярной массой 1,5–2,2 МД, которая составляет 19–32 % массы вирионы. В структуре вириона обнаружено 4 полипептида с молекулярной массой 80, 72, 62

и 60кД, соответственно обозначенные как VP1, VP2, VP3 и VP4. Основная масса вирионного белка (73–83 %) приходится на долю VP3 [2, 3]. Гены, кодирующие структурные белки, расположены в 5'-концевой половине, а ген, кодирующий неструктурный белок – в 3'-концевой половине ДНК [5]. Все известные штаммы парвовирусов крупного рогатого скота антигенно идентичны и отличаются от парвовирусов, изолированных от других видов животных.

Лабораторная диагностика парвовируса крупного рогатого скота, как и при других вирусных инфекциях, осуществляется путем выделения вируса в культуре клеток, обнаружения антигена непосредственно в пробах исследуемого материала (кишечник, фека-

лии, абортированный материал) или обнаружения вирусспецифических антител. Однако применяемые в настоящее время для этой цели лабораторные методы трудоемки, длительны и недостаточно чувствительны.

С развитием молекулярной биологии открылись новые возможности для совершенствования методов диагностики инфекционных болезней. Одним из таких перспективных методов, основанных на изучении генетического материала вирусов, является полимеразная цепная реакция (ПЦР), которая позволяет проводить индикацию и идентификацию возбудителей с высокой точностью и чувствительностью.

В предыдущих исследованиях нами в различных регионах Приволжского Федерального округа установлен факт циркуляции парвовируса типа I среди обследованного поголовья животных. Серопозитивность их по различным регионам к парвовирусу варьировала от 16,6 % до 57,1 %. В дальнейшем для молекулярно-генетических исследований использовали клинический и патологический материал, полученный от животных из хозяйств, неблагополучных по желудочно-кишечным и респираторным инфекциям телят, а также по болезням репродуктивных органов маточного поголовья.

Целью настоящего исследования была индикация генома парвовируса и реовируса с помощью полимеразной цепной реакции.

Материалы и методы

Для индикации парвовируса типа I исследованию подвергнуто 12 проб клинического и патологического материалов (смывы с носовой полости, сперма, кусочки селезенки, лимфатических узлов, легких, кишечника, органы абортированных плодов). Нуклеиновые кислоты выделяли из биологических образцов с использованием набора реагентов для выделения ДНК в соответствии с инструкцией к набору «Пробоподготовка универсальная».

Индикацию парвовируса типа I КРС проводили по схеме NESTED-PCR согласно методическим рекомендациям Кочеткова С. А. и др., (2009), используя праймеры:

BPV1F1: 5/-CAAGCACATCCAATCAACAG-3/,

BPV1R1: 5/-GATCATTTGTTGTAGACGGTCC-3/,

BPV1F2: 5/-AATTGAACTGGCGACTCGGTCC-3/,

BPV1R2: 5/-CCAGGTGTTGCCAGTCAATAGGA-3/.

Синтез олигонуклеотидных праймеров производился в ООО «Биотех-Индустрия» (г. Москва).

Аmplификацию проводили на программируемом термоциклере «Терцик». Результаты ПЦР регистрировали методом электрофореза в 2 % агарозном геле с бромистым этидием. Гели анализировали под ультрафиолетовым облучением ($\lambda = 254$ нм).

Результаты исследований

В результате постановки nested-PCR парвовирус типа I КРС обнаружен в 8 пробах из 5 хозяйств (табл. 1, рис. 1).

В результате амплификации со специфичной ДНК-матрицей парвовируса типа I накапливается ПЦР-продукт молекулярной массой 305 пар нуклеиновых оснований (п. о.). Образец №13 содержал в качестве ДНК-матрицы нуклеиновые кислоты нативного парвовируса (положительный контроль). После амплификации и электрофореза в треке, соответствующем положительному контролю (в результате воздействия ультрафиолета на гель, окрашенный бромистым этидием), видна полоса молекулярной массой 305 п. о. Все треки, имеющие подобную полосу (№№ 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9 и 10), являются положительными.

Следует отметить, что в сыворотке крови одного теленка выявлялись антигемагглютинины к антигену парвовируса в титре 1 : 320,

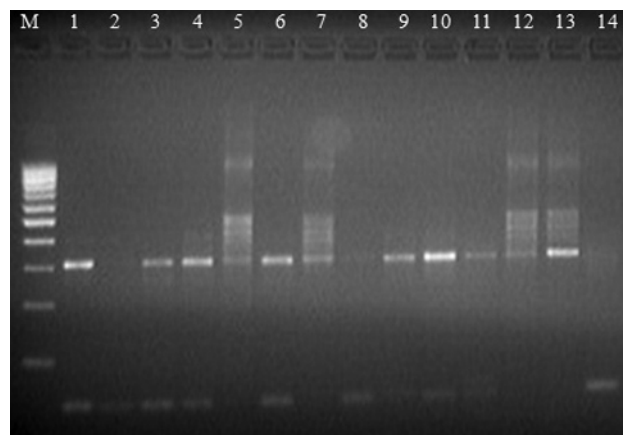


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации парвовируса. Обозначения: М – ДНК Маркер; 1–12 – испытуемые пробы; 13 – парвовирус типа I (положительный контроль); 14 – реовирус типа I (отрицательный контроль).

Таблица 1.

Индикация генома парвовируса и реовируса типа I

№ образца	Регион, из которого доставлен материал	Материал для исследований	Результат ПЦР к геному	
			парво-вируса I	рео-вируса
1	Арский р-н РТ	органы от абортированного плода № 1	+	-
2	Атнинский р-н РТ	органы от теленка 10-дневного возраста	-	-
3	Новоторъяльский р-н Марий Эл	органы от теленка 7-дневного возраста, титр антител в сыворотке крови к парвовирусу I – 1 : 320	+	-
4	Новоторъяльский р-н Марий Эл	1-й пассаж суспензии органов на первичной ПЭК	+	-
5	Параньгинский р-н Марий Эл	органы от теленка 10–20-дневного возраста	+	-
6	Тетюшский р-н РТ	3-й пассаж суспензии органов на МДВК	+	-
7	Рыбнослободский район РТ	органы от 3-месячного теленка	+	-
8	Тетюшский р-н РТ	органы от теленка 10-дневного возраста	-	+
9	Арский р-н РТ	жидкость грудной полости от абортированного плода № 2 на 6–7 месяце стельности от нетели	+	-
10	Кирово-Чепецкий р-н Кировская обл.	смыв из носовой полости теленка месячного возраста	+	-
11	Балтасинский р-н РТ	5-й пассаж образца спермы на к. кл. МДВК	-	-
12	Балтасинский р-н РТ	органы от теленка 20-дневного возраста	-	-
13	Парвовирус типа I	нативный вирус	+	-
14	Реовирус типа I	нативный вирус	-	+

у которого впоследствии в образцах органов методом ПЦР был обнаружен геном парвовируса типа I (рис. 1, трек №№ 3, 4).

Заключение

Полученные нами на предварительном этапе исследований данные о серопозитив-

ности крупного рогатого скота в отношении парвовируса типа I, а также результаты индикации генома вируса методом ПЦР в материале, полученном от больных и подозрительных по заболеванию животных, дает нам основание утверждать, что парвовирусная инфекция имеет определенное распростра-

нение среди поголовья крупного рогатого скота в регионе Среднего Поволжья.

Для дальнейшей идентификации обнаруженных нами изолятов и выяснения их таксономического положения требуется секвенирование ампликонов, полученных нами в ПЦР на данном этапе исследований. Изыскания в этом направлении будут продолжены.

Список литературы

1. Кочетков, С. А. Методические рекомендации по выявлению генома парвовирусов КРС 1, 2, 3 типа с помощью полимеразной цепной реакции / С. А. Кочетков, Л. Б. Чупин, В. А. Прохвятилова, В. В. Мищенко. – Владимир, 2009. – С. 10.

2. Орлянкин, Б. Г. Парвовирусные инфекции и их влияние на продуктивность животных / Б. Г. Орлянкин, В. А. Сергеев, С. П. Качанова // ВНИИТЭИСХ, М., 1985. – С. 33–35.

3. Самуйленко, А. Я. Инфекционная патология животных: В 2 т. / А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьева, Е. А. Непоклонова, Е. С. Воронина. – М. : ИКЦ Академкнига, 2006. – 1911 с.

4. Sandals, W. C. D. Prevalence and seroepidemiology of bovine parvovirus / W. C. D. Sandals // MSc Thesis, University of Guelph, 1989. – P. 432–437.

5. Siegle, G. Characteristics and taxonomy of Parvoviridae / G. Siegle, R. C. Bates, K. I. Berns // J. Intervirology. – 1985. – V. 23. – № 2. – P. 61–73.

6. Storz, J. Parvovirus infection in calves / J. Storz, R. C. Bates // J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1973. – V. 163. – P. 884–886.

КАК ОФОРМИТЬ ПОДПИСКУ НА ЖУРНАЛ?

А. Через подписные каталоги

Каталог	Подписное агентство	Индекс
Пресса России	Агентство «Книга-Сервис»	29447
Газеты. Журналы	Агентство «Роспечать»	33184

Б. Через редакцию журнала

Банковские реквизиты для оплаты подписки по безналичному расчету для юридических лиц:

НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии»

ИНН 7802196720 КПП 781301001

Р/с 40703810400000000022 в ЗАО АКБ «Горбанк», г. Санкт-Петербург

К/с 30101810200000000814 БИК 044030814

В поле «Назначение платежа» указать:

«Предоплата за подписку на журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» на 2014 г. согласно инф. письму б/н от 20.12.13 г. НДС не облагается. Адрес доставки: ...»

Стоимость редакционной подписки на 2014 год (четыре номера): **1600 рублей.**

Учредитель и издатель: НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии».

Адрес: Санкт-Петербург, ул. Ораниенбаумская, 3-Б.

Т./ф. (812) 232-55-92, т. 927-55-92. E-mail: virclin@mail.ru; www.invetbio.spb.ru

УДК 619:616.995.1

Ключевые слова: индекс формы, капсула, трихинелла, хищные животные

Key words: index of the form, capsule, Trichinella, carnivores

Андреянов О. Н.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ КАПСУЛ ЛИЧИНОК ТРИХИНЕЛЛ ОТ РАЗНЫХ ВИДОВ ХОЗЯЕВ

COMPARATIVE MORPHOLOGY OF CAPSULES OF LARVAE TRICHINELLA FROM DIFFERENT TYPES OF HOSTS

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина»

Адрес: 117218, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28

K. I. Skryabin All-Russian Research Institute of Helminthology

Address: 117218, Russia, Moscow, B. Cheremushkinskaya, 28

Андреянов Олег Николаевич, к. в. н., ст. научн. сотрудник проблемной лаборатории. Тел. (495) 124-56-55

Andreyanov Oleg N., Ph.D. in Veterinary Science, Senior Researcher of Basic Research Laboratory. Tel. +7 (495) 124-56-55

Аннотация. Представлены данные по морфологическим измерениям капсул личинок гельминта – трихинеллы, локализованных в мышечной ткани естественно инвазированных животных. У животных семейства псовых индекс капсулы V составил $0,90 \pm 0,02$ мкм (округлая форма), у куньих – $0,71 \pm 0,02$ мкм (овальная). При эколого-зоологических исследованиях личинок нематоды *Trichinella spp.* можно идентифицировать хозяина возбудителя трихинеллеза.

Summary. Data on morphological measurements of capsules of *Trichinella* larvae is submitted. The index of capsule V in animals of Canidae family came to $0,90 \pm 0,02$ microns (round shape), the one in animals of Mustelidae family came to $0,71 \pm 0,02$ microns (oval shape). The host of the causative agent of trichinellosis can be identified in the course of ecological and zoological research of the capsule of nematode *Trichinella spp.*

Введение

В связи с паразитированием нематоды *Trichinella spp.* у определенных семейств и видов млекопитающих личинки трихинелл в различной степени проявляют внутривидовую изменчивость. У гельминта отмечено непостоянство морфологических признаков, которые позволяют дифференцировать личинок как специализированные, экологические формы. Морфологическая изменчивость личинок и капсул трихинелл возникает под воздействием многих эколого-биологических факторов.

Так, В. А. Бриттов (1982) утверждает, что величина и форма капсулы зависит от вида трихинелл и в меньшей степени зависит от вида хозяина. Аналогичной точки зрения придерживается Н. А. Куликова (1992), которая увидела морфологические различия капсул между природными и лабораторными изолятами возбудителя трихинеллеза на лабораторных животных. Ю.А. Березанцев и В. Е. Ефремов (1966) отмечают, что капсулы личинок трихинелл могут иметь неодинаковые размеры у отдельных видов хозя-

ев, что обусловлено различиями в толщине волокон поперечно-полосатой мускулатуры и степенью развития личинок трихинелл. Ранее было показано, что размеры капсул личинок в мышцах различных видов хозяев, в том числе и у человека, имеют неодинаковые средние размеры. У человека ее величина $0,68 \times 0,37$ мм, а у мыши – $0,23 \times 0,13$ мм [1]. Исследованиями ученых прошлых лет было доказано, что возбудитель *T. spiralis* имеет овальную, лимоновидную или яйцевидную формы, а *T. native* – округлую [8].

Трихинеллы в каждом виде хозяина находят свойственные только этому хозяину условия обитания, адаптируясь к которым паразиты в различной мере и адекватно изменяют свой морфологический облик [9]. Характер изменчивости у определенных видов хозяев является однотипным. В результате чего в каждом хозяине формируются свои специфические морфы.

Капсулы личинок диких плотоядных животных чаще имеют округлую форму или немного вытянутую. Стенка капсулы состоит из 2 слоев: внутреннего (гиалинового – тол-

стого) и внешнего (соединительнотканного – тонкого). В капсуле личинка трихинеллы находится в спирально скрученном состоянии.

Цель исследования: изучение изменчивости формы капсулы личинок капсулообразующих трихинелл от спонтанно инвазированных диких животных.

Материалы и методы

Морфометрические исследования капсул личинок трихинелл в мышечной ткани естественных хозяев (по одной голове каждого вида животного) проводили на свежеполученных временных секционных препаратах. Для исследования брали мышцы, наиболее поражаемые личинками капсулообразующего возбудителя трихинеллеза – диафрагмы и ее ножки. После диагностического компрессионного исследования срезы мышечной ткани с наличием капсул и личинками помещали на предметное стекло, капали физиологический раствор и расправляли анатомическим пинцетом с наложением покровного стекла. Измерения исследуемых объектов проводили с помощью медицинского микровизора Vizo-101. Основные замеры длины (L) и диаметра (D) капсул проводили под увеличением $\times 40$ и $\times 80$. Индекс формы капсулы (V) вычисляли как отношение диаметра к ее длине ($V = D/L$). Изучаемый признак был принят зоологами-исследователями для оценки фор-

мы округлых объектов [6, 9]. Результаты измерений представлены в микрометрах (мкм).

В качестве контроля мы использовали два выделенных изолята личинок трихинелл *T. spiralis* и *T. nativa* от лисицы и лесной куницы, которых пассировали на лабораторных крыс и усыпили через 60 дней после инвазирования [10]. На территории Рязанской и Нижегородской областей, откуда были доставлены тушки животных, зарегистрированы два вида капсулообразующих трихинелл *T. spiralis* (у каменной куницы и енотовидной собаки) и *T. nativa* (у обыкновенной лисицы) [5].

Результаты и обсуждение

При детальном исследовании под микроскопом были оценены формы капсул трихинелл по одному морфологическому признаку – индексу формы (V). При этом были получены следующие результаты (табл. 1).

По полученным данным морфометрии капсул личинок можно видеть межвидовые различия возбудителя: так, у животных семейства псовых индекс формы V составил $0,89 \pm 0,02$ мкм (изолят от лисицы – *T. nativa*) и $0,92 \pm 0,02$ мкм (изолят от енотовидной собаки – *T. spiralis*). Формы капсул были почти округлыми. Показатель V у животных семейства куньих был иной: $0,70 \pm 0,02$ мкм (изолят от лесной куницы – *T. spiralis*) и $0,71 \pm 0,02$ мкм (неизвестный изолят от ка-

Таблица 1.

Морфометрические показатели капсул разных видов трихинелл от хищных млекопитающих, Хср. \pm σ

Вид животного (вид трихинелл)	n	Диаметр капсулы (D), мкм	Длина капсулы (L), мкм	Индекс формы (V), мкм
Лисица обыкновенная (<i>T. nativa</i>)	20	284,5 \pm 7,54	321,8 \pm 7,92	0,89 \pm 0,02
Собака енотовидная (<i>T. spiralis</i>)		352,7 \pm 9,26	385,6 \pm 9,14	0,92 \pm 0,02
Хср. \pm σ		-		0,90 \pm 0,02
Куница лесная (<i>Trichinella spp.</i>)		249,8 \pm 5,17	354,7 \pm 4,81	0,70 \pm 0,02
Куница каменная (<i>T. spiralis</i>)		259,4 \pm 6,73	367,2 \pm 5,51	0,71 \pm 0,02
Хср. \pm σ		-		0,71 \pm 0,02
Контроль, крыса белая (<i>T. spiralis</i> , лаб. изолят ВИГИС)		235,1 \pm 8,47	372,0 \pm 10,06	0,63 \pm 0,02
Контроль, крыса белая (<i>T. nativa</i> , природ. изолят)		189,3 \pm 2,39	327 \pm 5,51	0,58 \pm 0,02
Хср. \pm σ		-		0,061 \pm 0,02

Примечание: n – число измерений, Хср. \pm σ – средняя величина \pm ошибка средней.

менной куницы – *Trichinella spp.*), то есть форма капсулы была более вытянутой. В контроле личинка возбудителя *T. spiralis* у белой беспородной крысы имела индекс формы капсулы 0,63 мкм. Овальную форму капсулы мы наблюдали еще и во втором контроле у личинок возбудителя *T. nativa*, выделенного из лисицы и пассированного на грызуна. Индекс формы капсулы экспонированного природного изолята был $0,57 \pm 0,02$ мкм. Полученные данные согласуются с данными М. М. Бочаровой и др. [3] и Б. В. Ромашова с соавторами [9].

Благодаря цифровым технологиям, большей выборки измерений у разных видов хозяев возбудителя трихинеллеза, дополнительным исследованиям ПЦР-диагностики и сравнительным исследованиям капсул, вскоре можно будет дифференцировать виды трихинелл, определять возраст личинок по ультраструктуре капсул, размерам гиалинового и соединительнотканного слоев и другим морфологическим показателям.

Выводы

У животных семейства псовых средний показатель индекса капсулы V составил $0,90 \pm 0,02$ мкм (округлая форма), у кунных – $0,71 \pm 0,02$ мкм (овальная). При биологических, экологических, зоологических исследованиях морфологии капсул нематоды *Trichinella spp.* можно идентифицировать хозяина возбудителя трихинеллеза. Форма капсулы личинок возбудителей капсулообразующего трихинеллеза, возможно, зависит от комплекса особенностей: от вида трихинелл, структуры мышечных волокон специфического хозяина, может быть, от локализации личинки в определенных группах мышц и других факторов.

Список литературы

1. Березанцев, Ю. А. Тканевые реакции организма хозяина на паразитирование в нем трихинелл на всех

стадиях развития / Ю. А. Березанцев // Тр. 1-го Ленингр. сан.-гигиен. мед. ин-та и Ленингр. науч. общ-ва патологоанатомов. – 1963. – Т. 83. – С. 93–97.

2. Березанцев, Ю. А. Влияние вида хозяина на размеры инкапсулированных личинок трихинелл / Ю. А. Березанцев, В. Е. Ефремов // Материалы науч. конф. Всесоюзного об-ва гельминтологов. – М., 1966. – Ч. 1. – С. 37–40.

3. Бочарова, М. М. Фенотипическая пластичность капсулы трихинелл в экспериментально зараженных животных / М. М. Бочарова, З. М. Вазагова, Т. Г. Коцлов // Мат. докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – М., 2011. – Вып. 12. – С. 92–95.

4. Бритов, В. А. Возбудители трихинеллеза / В. А. Бритов. – М.: Наука, 1982. – 272 с.

5. Коняев, С. В. Молекулярно-генетические исследования *Trichinella spp.* в России: первые результаты / С. В. Коняев, А. В. Кривопапов, Т. Янагида, М. Накао, Я. Сако, А. Ито, А. В. Малкина, О. Н. Андреев, В. А. Однокурцев, Н. В. Есаулова, И. В. Середкин, А. Я. Бондарев, Л. В. Ткаченко // Материалы Международной научной конференции: «Современные проблемы общей паразитологии», 30 октября – 1 ноября 2012 г. – М., 2012. – С. 171–174.

6. Костин, Ю. В. О методике морфологических исследований и унификации описаний зоологических материалов / Ю. В. Костин // Методики исследования продуктивности и структуры видов птиц в пределах их ареалов. – Вильнюс, 1977. – Ч. 1. – С. 14–22.

7. Куликова, Н. А. Морфометрические показатели капсул трихинелл в мышцах животных Западного Подолья / Н. А. Куликова // Матер. докл. шестой науч. конф. по проблеме трихинеллеза человека и животных. – М., 1992. – С. 103–105.

8. Мирошниченко, Л. С. Некоторые отличительные признаки трихинелл разных видов / Л. С. Мирошниченко // Гельминтозоозы Дальнего Востока. – Хабаровск, 1976. – С. 52–56.

9. Ромашов, Б. В. Трихинеллез в Центральном Черноземье (Воронежская область): экология и биология трихинелл, эпизоотология, профилактика и мониторинг трихинеллеза / Б. В. Ромашов, В. В. Василенко, М. В. Рогов // Воронеж: Воронежский государственный университет, 2006. – 181 с.

10. Скворцова, Ф. К. Методика получения и наработки трихинеллезного антегена / Ф. К. Скворцова // Труды ВИГИС. – Т. 42. – М., 2006. – С. 600–608.



УДК 616.995.4/7-07:599.74

Ключевые слова: лабораторная диагностика, флотационная жидкость, саркоптоидозы, демодекоз, хейлетиеллез, триходектоз, плотоядные

Key words: laboratory diagnostics, flotation fluid, sarcoptoidosis, demodicosis, cheyletiellosis, trichodectosis, carnivorous animals

Гаврилова Н. А., Белова Л. М., Ширяева В. А.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ФЛОТАЦИОННОЙ ЖИДКОСТИ В ДИАГНОСТИКЕ АРАХНОЭНТОМОЗОВ ПЛОТОЯДНЫХ *THE USE OF UNIVERSAL FLOTATION FLUID IN THE DIAGNOSIS OF ARACHNOENTOMOSIS OF CARNIVOROUS ANIMALS*

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5. Тел. (812) 388-27-56

Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5. Tel. +7 812 388-27-56

Гаврилова Надежда Алексеевна, к. в. н., доцент каф. паразитологии

Gavrilova Nadezhda A., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor of the Parasitology Dept.

Белова Лариса Михайловна, д. б. н., проф, зав. каф. паразитологии

Belova Larisa M., Doctor of Biological Science, Professor, Head of the Parasitology Dept.

Ширяева Вера Александровна, к. в. н., доцент каф. паразитологии

Shiryayeva Vera A., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor of the Parasitology Dept.

Аннотация. Для обнаружения возбудителей арахноэнтормозов применяют визуальные методы, микроскопию соскобов кожи, скотч-тесты, трихограмму. При невысокой интенсивности инвазии, а также после проведения симптоматического лечения, когда клиническое проявление болезни не выражено и паразитов обнаружить трудно, можно иметь затруднения в постановке диагноза. Учитывая тот факт, что при всех арахноэнтормозах животные могут при разлизывании кожи заглатывать клещей и насекомых, которые, имея прочный хитиновый покров, не разрушаются в желудочно-кишечном тракте и выходят с фекалиями из организма, для подтверждения диагноза возможно проведение флотационных копрологических методов. Применяя универсальную флотационную жидкость, состав которой разработан сотрудниками кафедры паразитологии ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», можно обнаружить в пробах фекалий не только имагинальные стадии развития клещей и насекомых, но и фазы их развития. Жидкость, являясь оригинальной композицией, позволяет усилить эффект четкости объекта, очищая пробы фекальных масс от сопутствующих артефактов, затрудняющих просмотр.

Summary. *Visual methods, microscopy of skin scraping, tape tests, trichogramma are used to detect pathogens of arachnoentomosis. At low intensity of invasion and after symptomatic treatment when clinical manifestation of the disease is not expressed and it's difficult to detect parasites one can have difficulty in making a diagnosis. Animals suffering from all kinds of arachnoentomosis can swallow mites and insects when licking skin. Mites and insects have strong chitinous integument which is not destroyed in the gastrointestinal tract so they come out with feces from the body. Given this fact, flotation coprological methods can be applied to confirm the diagnosis. Applying universal flotation fluid the composition of which has been developed by researchers of the Department of Parasitology of Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine one can find not only imaginal stages of mites and insects, but also the phases of their development in samples of feces. The fluid being an original composition allows to enhance the effect of the object definition cleaning fecal samples from the accompanying artifacts which obstruct the view.*

Введение

Арахноэнтормозы, вызываемые стационарными эктопаразитами, часто регистрируются у плотоядных. Паразитирование акариформных клещей и насекомых наносит значительный ущерб здоровью животных. Основными симптомами болезней являются зуд, расчесы, гиперкератоз, образование плотных корок, выпадение шерсти, истоще-

ние животных. Для подтверждения диагноза необходимо проведение лабораторных исследований, так как именно от точности их результатов зависит выбор препаратов для лечения животных и проведения профилактических мероприятий. Известны многочисленные способы обнаружения акариформных клещей, включающие взятие соскобов с пораженных участков кожи, приготовление

из них препаратов для микроскопии, последующую микроскопию, идентификацию и дифференциацию возбудителей. Диагноз на энтомозы подтверждается на основании клинических признаков, скотч-тестов, трихограммы. При невысокой интенсивности инвазии, особенно у животных с длинной шерстью, обнаружить насекомых визуальными методами сложно. Кроме того, после проведения симптоматического лечения, включающего применение антибиотиков, антигистаминных препаратов, клинические признаки становятся мало заметными, в соскобах паразитов найти трудно и это может привести к неверному диагнозу. Учитывая тот факт, что при всех арахноэнтомозах животные вылизывают зудящие места, заглатывая клещей и насекомых, которые, имея прочный хитиновый покров, не разрушаются в желудочно-кишечном тракте и выходят с фекалиями из организма, для подтверждения диагноза можно применять флотационные копрологические методы.

Материал и методы

Исследования проводили в ветеринарных клиниках г. Санкт-Петербурга, имеющих стационарное инфекционное отделение в течение 2013 года. За этот промежуток времени осмотрено 48 собак и 33 кошки с поражениями кожи, шерстного покрова, наличием эктопаразитов. Все животные ранее были безнадзорные и в клинику доставлены волонтерами. После осмотра у них брали соскобы кожи и отбирали пробы фекалий для дальнейшего исследования. Копрологическое исследование проводили в лаборатории по изучению протозоозов ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», используя универсальную флотационную жидкость для комплексных лабораторных исследований, разработанную и запатентованную сотрудниками кафедры паразитологии. Пробу фекалий массой 5–8 г помещали в керамическую ступку, заливая 50 мл воды, тщательно перемешивали с помощью пестика до равномерной взвеси. Взвесь фильтровали через слой марли в пробирку и центрифугировали 4 минуты при 2000 об./мин. Верхний слой

жидкости сливали, к осадку добавляли флотационную жидкость, имеющую плотность 1,33–1,36. Пробирку встряхивали для тщательного смешивания содержимого и центрифугировали в заданном режиме. Копрологической петлей снимали каплю с поверхности жидкости, помещали на предметное стекло, накрывали покровным и микроскопировали.

Результаты исследований

В результате осмотра животных и микроскопии соскобов кожи установили, что 6 собак больны саркоптозом (12,5 %), 25 – демодекозом (52 %), 4 – хейлетиеллезом (8,3 %). Микроскопическим исследованием содержимого из ушной раковины у 12 кошек (36,3 %) был подтвержден диагноз – отодектоз. Исследованием соскобов с кожи у двух кошек обнаружили клещей *Cheyletiella blakei* (6 %). При визуальном осмотре животных на теле 5 собак (10,4 %) и 1 кошки (3 %) установили паразитирование власоедов.

В результате флотационных исследований в пробах фекалий от собак и кошек были обнаружены фрагменты насекомых, которых по морфологическим признакам определили как *Trichodectes canis* и *Tr. subrostratus*. Насекомых находили в пробах фекалий не только от животных с установленным диагнозом – триходектоз, но и у собаки и двух кошек, при визуальном осмотре которых паразитов не обнаружили. Кроме того, у всех кошек, больных хейлетиеллезом, в пробах фекалий были найдены единичные клещи хейлетиеллы. У собак этих клещей не находили, так как хейлетиеллы часто локализуются в области дорсальной части шеи и туловища вдоль спины, повреждений глубоких слоев кожи обычно не происходит, выраженность зуда варьирует в зависимости от индивидуальных реакций животного и может быть слабой, поэтому практически отсутствует возможность слизывания этих клещей. Саркоптесы были обнаружены в двух пробах фекалий только у тех собак, которые имели обширные поражения кожного покрова и ярко выраженный зуд. У собак с локализованной формой демодекоза, проявляющейся поражением ограниченных участков кожи без признаков зуда, клещей и фаз их развития

в пробах фекалий не находили. Копрологическое исследование с использованием универсальной флотационной жидкости выявило не только имагинальные стадии, но и фазы их развития у всех собак с генерализованной формой демодекоза. Животные, имеющие большое количество очагов поражения, с появлением микробного и грибкового обсеменения часто расчесывают зубами зудящие места, слизывают и проглатывают клещей. Демодексы были обнаружены в пробах фекалий собак с хроническим течением болезни, так как при массовом поражении волосяных фолликулов и в результате длительного лечения животных клещи лимфогематогенным путем проникают во внутренние органы и выделяются с фекалиями. В соскобах у этих животных клещей не находили.

Заключение

Таким образом, использование универсальной флотационной жидкости в диа-

гностических исследованиях позволяет подтвердить, а в ряде случаев установить диагнозы путем выявления клещей, насекомых, их отдельных фаз развития в фекальных массах животных. При обнаружении демодексов копрологическими методами можно сделать выводы о длительности и характере инвазионного процесса, что важно учитывать при назначении препаратов, кратности и длительности их применения.

Список литературы

1. Новикова, Т. В. Лабораторная диагностика эндопаразитозов у собак и кошек : учеб.-метод. пособие / Т. В. Новикова, Э. М. Машаева, М. В. Шустрова, Н. А. Рыбакова, Е. Ю. Лабутина. – Вологда-Молочное, 2005. – С. 107.
2. Ларионов, С. В. Демодекоз животных / С. В. Ларионов // Ветеринария. – 1990. – № 8. – С. 41–43.
3. Шустрова, М. В. Хейлетиеллез собак / М. В. Шустрова // Ветеринария. – 1996. – № 10. – С. 48–49.



НОУ ДО «Институт Ветеринарной Биологии»

приглашает ветеринарных специалистов принять участие в новом обучающем семинаре

«КАРДИОЛОГИЯ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ»

1–5 сентября, 27–31 октября, 22–26 декабря 2014 г.

ПЛАН ЗАНЯТИЙ

Первый день. Морфология и физиология сердечно-сосудистой системы. Первичное клиническое исследование сердца.

Осмотр. Перкуссия. Аускультация. Измерение давления

Второй день. Лабораторная диагностика в кардиологии. Клиническое значение лабораторных исследований и интерпретация полученных результатов. Рентгенодиагностика органов грудной клетки, сердца и паракардиальных структур

Третий день. Кардиореспираторные синдромы и дифференциальная диагностика кардиореспираторных патологий от цереброваскулярных, нейрогенных и эндокринных нарушений. Электрокардиография. Формирование нормальной ЭКГ. Параметры нормальной ЭКГ. Техника снятия ЭКГ. Знакомство с устройством электрокардиографа

Четвертый день. Кардиопатологии. Оптимизация диагностического исследования

Пятый день. Тестово-практическое занятие. Описание рентгеновских снимков грудной клетки и составление рентгенологического протокола. Расшифровка ЭКГ и составление ЭКГ-заключения

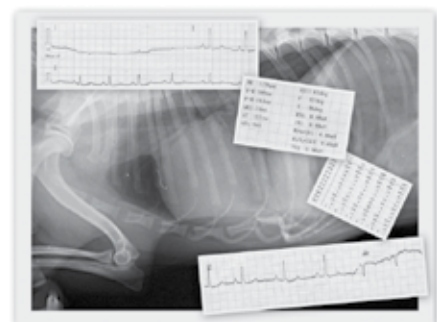
Место проведения: Санкт-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3, лит. Б

Стоимость участия: 25 000 р. (НДС не облагается); возможна оплата банковской картой в первый день семинара

Предварительная запись обязательна: по тел. +7 921 095-89-27, (812) 232-55-92
e-mail: invetbio@yandex.ru

Подробная информация о семинаре, форма on-line заявки:

www.invetbio.spb.ru/seminar_cardio.htm



УДК 619:616.995.1:636.2(470.12)

Ключевые слова: гельминтозы, крупный рогатый скот, эпизоотология, породы

Key words: helminthiasis, cattle, epizootology, breeds

Кряжев А. Л.

**ИНВАЗИРОВАННОСТЬ ГЕЛЬМИНТАМИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД В УСЛОВИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РФ
НА ПРИМЕРЕ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ**
*GHELMINTH INFECTION IN CATTLE OF VARIOUS BREEDS IN CONDITIONS
OF THE NORTHWEST REGION OF THE RUSSIAN FEDERATION CONSIDERING
THE CASE OF THE VOLOGDA AREA*

ФГБОУ ВПО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н. В. Верещагина»

Адрес: 160555, Россия, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, 2

*N. V. Vereshchagin Vologda State Dairy Farming Academy**Address: 160555, Russia, Vologda, Molochnoye, Shmidt str., 2*

Кряжев Андрей Леонидович, к. в. н., доцент

Krjazhev Andrey L., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor

Аннотация. Наиболее высокая зараженность гельминтозами установлена у крупного рогатого скота черно-пестрой породы, ниже – айширской и холмогорской, более низкая у голштинской и редкая инвазия отмечена среди животных ярославской породы.

Summary. *The level of helminth contamination of cattle registered in accordance with breeds is as follows: Black-motley breed – the highest, Aishirskaya and Holmogorskaya breeds – moderate, Golshtinskaya breed – rather low, Yaroslavskaya breed – the lowest.*

Введение

Доказано, что сложная и разнообразная специфичность гельминтов возникла в процессе их длительной эволюции. При этом гельминты различных систематических групп приспособились к определенным видам животных, возникли устойчивые морфологические формы, сложились свойственные жизненные циклы, сформировались механизмы передачи в популяции их хозяев и паразитоценотические отношения [1, 2, 3, 4]. В биологической цепи гельминтов большое значение имеют различные факторы, способствующие или, наоборот, препятствующие развитию тех или иных гельминтозов. Одним из таких важнейших факторов, но в то же время наименее изученным, является породность.

Материалы и методы

Для выявления степени зараженности гельминтозами представителей разных пород крупного рогатого скота, занимающих доминирующее положение на Вологодчине, исследования проводились в период 2008–2011 гг. в хозяйствах Вологодского, Грязовецкого,

Шекснинского, Вожегодского и Сокольского районов Вологодской области, содержащих черно-пестрый, холмогорский, айширский, ярославский и голштинский скот. В каждом обследованном хозяйстве применялась стойлово-пастбищная технология содержания животных. С учетом жизненных циклов биологического развития основных гельминтозов, встречающихся в изучаемом регионе (фасциолез, парамфистоматоз, мониезиоз, диктиокаулез, стронгилятозы ЖКК), проводили копроовоскопические обследования на выявление яиц и личинок гельминтов. Ежегодно на каждый указанный гельминтоз исследовали по 98–104 животных названных выше пород. В результате количество обследуемых животных составило 2013–2015 голов каждой породы.

Результаты исследований

Наибольшая инвазированность гельминтами была выявлена у коров черно-пестрой породы. За период 2008–2011 гг. инвазированность гельминтозами животных данной группы составила 15,0 % при интенсивности инвазии $64,1 \pm 5,2$ яиц / г фекалий. Заражен-

ность фасциолезом составила 22,1 % при интенсивности 26,5±3,9 яиц, парамфистоматозом – 18,9 % и 47,9±4,0 соответственно, мониезиозом – 9,4 % с интенсивностью инвазии 66,2±5,3 яиц / г фекалий, диктиокаулезом – 5,5 % и 51,2±5,5 соответственно, стронгилятозами ЖКК – 19,2 % при интенсивности 128,5±7,5 яиц (личинок) / г фекалий (табл. 1).

Умеренную степень инвазии регистрировали у коров:

– айширской породы. Зараженность животных данной группы гельминтами составила 6,9 %, а средняя ИИ – 41,2±4,4 яиц (лич.) / г фек. Инвазированность фасциолезом составила 10,9 % при интенсивности 15,6±3,0 яиц / г фекалий, парамфистоматозом –

Таблица 1.

Инвазированность гельминтами скота черно-пестрой породы по данным копроовоскопических исследований (2008–2011 гг.)

Гельминтозы	Всего			
	Исследовано (голов)	Инвазировано (голов)	ЭИ (%)	ИИ (экз. яиц / г фек.)
1. Фасциолез	403	89	22,1	26,5±3,9
2. Парамфистоматоз	403	76	18,9	47,9±4,0
3. Мониезиозы	403	38	9,4	66,2±5,3
4. Диктиокаулез	402	22	5,5	51,2±5,5
5. Стронгилятозы ЖКК	402	77	19,2	128,5±7,5
Всего	2013	302	15,0	64,1±5,2

Таблица 2.

Инвазированность гельминтами скота айширской породы по данным копроовоскопических исследований (2008–2011 гг.)

Гельминтозы	Всего			
	Исследовано (голов)	Инвазировано (голов)	ЭИ (%)	ИИ (экз. яиц / г фек.)
1. Фасциолез	403	44	10,9	15,6±3,0
2. Парамфистоматоз	403	21	5,2	7,1±2,8
3. Мониезиозы	402	26	6,5	58,7±5,3
4. Диктиокаулез	402	5	1,2	15,0±4,0
5. Стронгилятозы ЖКК	404	43	10,6	109,8±6,8
Всего	2014	139	6,9	41,2±4,4

Таблица 3.

Инвазированность гельминтами скота холмогорской породы по данным копроовоскопических исследований (2008–2011 гг.)

Гельминтозы	Всего			
	Исследовано (голов)	Инвазировано (голов)	ЭИ (%)	ИИ (экз. яиц / г фек.)
1. Фасциолез	408	74	18,1	20,4±3,5
2. Парамфистоматоз	401	56	14,0	55,7±4,3
3. Мониезиозы	400	29	7,3	58,6±5,8
4. Диктиокаулез	403	19	4,7	43,9±6,0
5. Стронгилятозы ЖКК	403	60	14,9	116,0±7,8
Всего	2015	238	11,8	71,2±5,5

Таблица 4.

Инвазированность гельминтами скота голштинской породы по данным копроовоскопических исследований (2008–2011 гг.)

Гельминтозы	Всего			
	Исследовано (голов)	Инвазировано (голов)	ЭИ (%)	ИИ (экз. яиц / г фек.)
1. Фасциолез	402	20	5,0	39,9±4,1
2. Парамфистоматоз	402	14	3,5	8,6±3,3
3. Мониезиозы	403	11	2,7	35,0±4,8
4. Диктиокаулез	401	3	0,7	7,2±2,3
5. Стронгилятозы ЖКК	405	22	5,4	95,2±7,8
Всего	2013	70	3,5	37,2±4,2

Таблица 5.

Инвазированность гельминтами скота ярославской породы по данным копроовоскопических исследований (2008–2011 гг.)

Гельминтозы	Всего			
	Исследовано (голов)	Инвазировано (голов)	ЭИ (%)	ИИ (экз. яиц / г фек.)
1. Фасциолез	402	8	2,0	5,5±1,8
2. Парамфистоматоз	402	-	-	-
3. Мониезиозы	404	4	1,0	14,0±1,5
4. Диктиокаулез	404	4	1,0	7,6±1,3
5. Стронгилятозы ЖКК	402	11	2,7	73,9±5,8
Всего	2014	27	1,3	20,2±2,1

5,2 % с интенсивностью инвазии 7,1±2,8 яиц, мониезиозом – 6,5 % и 58,7±5,3 соответственно, диктиокаулезом – 1,2 % и 15,0±4,0 лич. / г фек., стронгилятозами ЖКК – 10,6 % при интенсивности 109,8±6,8 яиц (лич.) / г фекалий (табл. 2);

– холмогорской породы. Инвазированность животных данной группы гельминтами составила 11,8 % при интенсивности инвазии 71,2±5,5 яиц (личинки) / г фекалий. Экстенсивность заражения фасциолезом составила 18,1 % с интенсивностью 20,4±3,5 яиц, парамфистоматозом – 14,0 % и 55,7±4,3 соответственно, мониезиозом – 7,3 % и 58,6±5,8 яиц, диктиокаулезом – 4,7 % при интенсивности 43,9±6,0 лич. / г фек., стронгилятозами ЖКК – 14,9 % и 116,0±7,8 соответственно (табл. 3).

Низкая степень инвазированности наблюдалась у животных голштинской породы. Экстенсивность инвазирования животных данной группы гельминтами составила 3,5 %

при интенсивности 37,2±4,2 яиц (личинки) / г фекалий. Экстенсивность фасциолеза составила 5,0 % при интенсивности инвазии 39,9±4,1 яиц, парамфистоматоза – 3,5 % и 8,6±3,3 соответственно, мониезиоза – 2,7 % с интенсивностью 35,0±4,8 яиц / г фекалий, диктиокаулеза – 0,7 % и 7,2±2,3 соответственно, стронгилятозов ЖКК – 3,5 % при интенсивности 95,2±7,8 яиц (личинки) / г фекалий (табл. 4).

Наиболее низкая зараженность гельминтами регистрировалась у животных ярославской породы. Зараженность животных данной группы гельминтозами составила 1,3 % при интенсивности инвазии 20,2±2,1 яиц / г фекалий. Экстенсивность фасциолеза составила 2,0 % при интенсивности 5,5±1,8 яиц, мониезиоза – 1,0 % и 14,0±1,5 соответственно, диктиокаулеза – 1,0 % с интенсивностью 7,6±1,3 личинки / г фекалий, стронгилятозов ЖКК – 1,3 % и 73,9±5,8 соответственно. Парамфистом не наблюдали (табл. 5).

Заключение

Наивысшая инвазированность гельминтами животных черно-пестрой породы объясняется тем, что данная порода в основном разводится в хозяйствах с удовлетворительным, а порой – неудовлетворительным состоянием в экономическом плане. В большинстве исследованных хозяйств не проводятся мероприятия по диагностике, терапии и профилактике гельминтозов, или проводятся в недостаточном объеме. Животные выпасаются на естественных пастбищах, в лесокустарниковой зоне, где не проводятся мероприятия по окультуриванию данных пастбищных угодий и т. д.

Хозяйства по выращиванию и воспроизводству животных айширской и холмогорской пород экономически более развиты, поэтому мероприятия по ликвидации и профилактике паразитозов регулярно проводятся, однако не в каждом из обследованных хозяйств, что объясняет умеренное распространение инвазий среди данной группы исследованных животных.


Животноводческие хозяйства Вологодской области, занимающиеся закупкой, разведением, воспроизводством животных голштинской породы, а также голштинизацией аборигенного поголовья скота, экономически развиты, ветеринарная служба большинства из этих хозяйств напрямую работает в сотрудничестве с учеными, занимающимися проблемами животноводства, в частности с сотрудниками нашей академии, проводящими исследования в области гельминтологии. Своевременно принимаемые меры по предупреждению и ликвидации гельминтозов в

результате дают картину сравнительно наименьшей инвазии поголовья данной группы.

Наименьшая экстенсивность и, соответственно, интенсивность инвазирования животных ярославской породы, по нашему мнению, связана с естественной устойчивостью данной породы скота к болезням инфекционной, инвазионной и незаразной этиологии. Сравнительно низкие проценты инвазированности коров ярославской породы можно объяснить не иначе как сформировавшимся в определенной степени иммунитетом, приспособленностью и приобретенной устойчивостью к внешним факторам среды, воздействующим на их организм, в том числе к возбудителям болезней, в частности, и к гельминтозам. Данная порода выведена из местного скота, следовательно коэволюция гельминтов с ней более древняя, чем у скота других пород иностранного происхождения, что и обуславливает их взаимоприспособленность.

Список литературы

1. Демидов, Н. В. Опыт проведения массовых мероприятий по борьбе с фасциолезом, диктиокаулезом и мониезиозом овец и крупного рогатого скота в Ярославском и Середском районах Ярославской области / Н. В. Демидов // Рукопись. — М. : ВИГИС, 1952.
2. Демидов, Н. В. Фасциолезы сельскохозяйственных животных (монографический обзор мировой литературы и собственные исследования) : автореф. дисс... докт. вет. наук / Демидов Н. В. — М., 1963. — 38 с.
3. Дольников, Ю. А. Изыскание антигельминтных средств и методов их применения : автореф. дисс... докт. вет. наук / Дольников Ю. А. — М., 1970. — 36 с.
4. Хренов, В. М. Усовершенствование копроскопической диагностики гельминтозов жвачных и свиней : автореф. дисс... канд. вет. наук / Хренов В. М. — М., 1978. — 18 с.



МОСКОВСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ВЕБ-ЦЕНТР

webmvc.com

Заболел Ваш домашний питомец? Не отчаивайтесь - посетите наш веб-центр!

У нас Вы найдете исчерпывающую информацию о болезни Вашего друга, лечении, профилактике и других вопросах ветеринарии. Также на нашем сайте Вы можете найти адрес ближайшей к Вам ветеринарной клиники, чтобы обратиться за помощью к специалистам.

Кроме этого, наш веб-центр располагает полным спектром информации по уходу за животными - будь то кошки или собаки, птицы или рыбы, черепахи или экзотические животные. Вы научитесь, как правильно разводить, кормить, дрессировать и воспитывать своих домашних питомцев. На страницах нашего сайта с Вами делятся опытом и советами признанные авторитеты в области ветеринарии и ухода за животными. К Вашим услугам - энциклопедические справочники и научные статьи о животном мире, фото и видеоматериалы, ежедневные новости и тематический форум.

Мы ждем Вас по адресу **www.webmvc.com**

УДК 593.17+636.32

Ключевые слова: эндобионтные инфузории, пищеварительный тракт, копытные животные

Key words: endobiontic infusoria, digestive tract, hoofed animal

Черная Л. В.

**ИНФУЗОРНАЯ ФАУНА ПРЕДЖЕЛУДКОВ ТОНКОРУННЫХ ОВЕЦ
ЛЕСНОЙ ЗОНЫ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ*****INFUSORIAL FAUNA OF PRESTOMACHS OF FINE-FLEECE SHEEP
OF A FOREST ZONE OF THE OMSK REGION***

ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия»

Адрес: 644043, Россия, г. Омск, ул. Спартаковская, 9

*Omsk State Medical Academy. Address: 644043, Russia, Omsk, Spartakovskaya, 9*Черная Лариса Владимировна, к. б. н., ассистент / *Chernaya Larisa V., Ph.D. in Biology Science, Assistant*

Аннотация. В работе представлены данные по сравнительному анализу инфузорной фауны преджелудков тонкорунных овец лесной зоны Омской области. С помощью стандартных методик выявлены сходства видовых составов инфузорной фауны у разных особей.

Summary. *The work presents data on comparative analysis of infusorial fauna of prestomachs of fine-fleece sheep of a forest zone of the Omsk region. By means of standard techniques similarities of specific structures of infusorial fauna at different animals are revealed.*

Введение

Фауна инфузорий, обитающих в желудочно-кишечном тракте различных травоядных животных, издавна привлекает внимание протозоологов. Наряду с многочисленными и подробными сведениями о жизнедеятельности инфузорий из рубца и сетки быков, коз, а также из толстой и слепой кишки свиней, лошадей, в научной литературе регулярно появляются данные об эндобионтной фауне домашних животных.

Относительное постоянство среды в рубце жвачных обеспечивает необходимые условия обитания микроорганизмов. Простейшие вместе с бактериями не только переваривают принятые животным корма, но и сами, перевариваясь, служат источником органических веществ, в том числе и белка для организма хозяина. Вместе с тем известно, что активная деятельность ферментов проявляется при определенном уровне рН. У жвачных животных в тех отделах желудка, в которых происходит брожение (рубец, сетка), реакция среды щелочная или нейтральная, в сычуге – кислая. А так как активность ферментов и жизнедеятельность симбионтных микроорганизмов находится в прямой зависимости от рН среды, то вопрос об изучении условий жизни эндобионтных инфузорий в отделах

желудка диких и домашних жвачных представляет интерес [3, 8].

Остается неизвестным ультраструктурное строение многих видов, описанных уже достаточно давно. Особый интерес вызывает участие инфузорий в биохимических процессах, происходящих в пищеварительном тракте жвачных и сложные взаимоотношения в системе микрофлора – микрофауна – хозяин, поскольку от этих отношений зависит физиологическое состояние животного и его продуктивность. *Ophryoscolecidae* являются уникальной группой организмов, где в пределах одного семейства прослеживается цепь эволюционных изменений, служащих приспособлением к эндобионтному образу жизни.

Изучение инфузорий пищеварительного тракта овец домашних вносит существенный вклад в разработку проблемы исследования протозойной фауны сельскохозяйственных животных и в решение проблемы характера взаимоотношений инфузорий и их хозяев.

Материалы и методы

Сбор материала проводился на территории лесной зоны Омской области в административных районах: Усть-Ишимском, Тевризском, Знаменском и Тарском. Из разных

отделов желудка 6 тонкорунных овец было собрано 60 проб, содержащих эндобионтных инфузорий. Дополнительно отбирались пробы из кишечника каждой особи овцы: слепой кишки, толстого кишечника, прямой кишки. Пробы фиксировали 4 % раствором формалина. Промежуток времени от забоя овец до взятия проб составлял не более 15–20 минут.

Всего было отобрано 1000 проб, полученные образцы были изучены с помощью микроскопа марки МБИ-6 с фазово-контрастным устройством и цифровой камеры Nikon-Coolpix (увеличение $\times 4500$). Определение видов проводилось по таблицам офриосколецид [1, 6, 7]. Для выявления морфологических признаков применяли цитохимические методики [5]. Подсчет численности инфузорий проводился методом «калпированной капли» [2, 4].

Для сравнения эндобионтных инфузорий овец из разных районов лесной зоны Омской области использованы зоогеографические коэффициенты (коэффициент Жаккара – Малышева (Kj-м)) и индексы (индекс общности фаун Чекановского – Соренсена (Ics)).

Результаты и обсуждение

Впервые изучена инфузорная фауна пищеварительного тракта тонкорунных овец из разных хозяйств лесной зоны Омской области. Найдено 10 видов инфузорий, относящихся к 4 родам семейства *Ophryoscolecidae* Stein, 1859 и 2 родам семейства *Isotrichidae* Bütschli, 1889 (табл. 1).

Основу населения эндобионтных инфузорий овец по видовому разнообразию и частоте встречаемости составляют представители рода *Entodinium*, представленные 5 видами. Но полный состав рода отмечен только для овец из хозяйств двух районов лесной зоны: Усть-Ишимского и Знаменского (табл. 1).

Важнейшим показателем, характеризующим состояние и видовое многообразие фаун, является частота встречаемости, как общая для всех видов разных родов, так и встречаемость всех видов одного рода и отдельно каждого вида.

Из всех найденных у овец инфузорий по видовому разнообразию лидирует род *Entodinium* – 5 видов (табл. 1). Он же имеет

и высокую общую частоту встречаемости видов в пробах (от 16,7 до 100 %).

Три вида рода *Entodinium* – *E. nanellum*, *E. bursa* и *E. caudatum* – являются общими для овец хозяйств всех обследованных районов Омской области, поэтому их можно отнести к обычным видам. Два оставшихся вида: *E. simulans-dubardi* и *E. ovinum* встречены только у овец из хозяйств лесной зоны (Усть-Ишимского и Знаменского районов). Суммарно все виды рода имеют и высокую среднюю частоту встречаемости у овец – от 38,9 % (Тарский район) до 53,3 % (Тевризский район), а в пробах – от 28,6 % (Тевризский район) до 51,1 % (Тарский район). По частоте встречаемости у особей хозяина лидирующее положение занимает вид *Entodinium nanellum* – от 50,0 % (Тарский район) до 100,0 % (Усть-Ишимский район), а в пробах – от 22,0 % (Знаменский район) до 52,5 % (Усть-Ишимский район). Немного ему уступают виды *E. caudatum* и *E. ovinum*. Все остальные виды рода имеют средние или низкие показатели частоты встречаемости.

Род *Epidinium* представлен одним видом *E. ecaudatum*, обнаруженным у овец всех районов. Его средняя частота встречаемости у овец варьирует от 37,5 % (Усть-Ишимский район) до 80,0 % (Тевризский район), а в пробах – от 23,3 % (Тарский район) до 56,7 % (Усть-Ишимский район).

Род *Diplodinium* представлен 1 видом, общая частота встречаемости составляет от 25,0 % (Усть-Ишимский район) до 50,0 % (Знаменский район).

Род *Ophryoscolex* представлен 1 видом *Ophryoscolex caudatus*, частота встречаемости составляет от 20,0 % (Тевризский район) до 33,3 % (Тарский район).

Семейство *Isotrichidae* представлено двумя родами, которые имеют частоту встречаемости в пробах вдвое меньшую по сравнению с большинством видов семейства *Ophryoscolecidae*. Роды *Isotricha* и *Dasytricha* представлены каждый одним видом и их частота встречаемости и у овец, и в пробах в среднем ниже, чем у видов других родов.

У видов инфузорий, которые отмечаются в пробах редко, резких колебаний частоты встречаемости не отмечено ни у кого.

Таблица 1.

Видовой состав и средняя частота встречаемости эндобионтных инфузорий (%)

Виды инфузорий	Административные районы			
	Усть-Ишимский	Тевризский	Знаменский	Тарский
<i>Entodinium bursa</i>	25,0 ± 5,2	20,0 ± 4,3	16,7 ± 6,1	33,3 ± 3,4
	47,5 ± 1,9	30,0 ± 5,4	30,0 ± 5,0	75,0 ± 2,3
<i>E. nanellum</i>	100,0 ± 2,1	80,0 ± 2,5	83,3 ± 1,1	50,0 ± 2,1
	52,5 ± 1,2	32,5 ± 3,7	22,0 ± 1,2	33,3 ± 1,8
<i>E. caudatum</i>	75,0 ± 2,4	60,0 ± 2,1	66,7 ± 1,6	33,3 ± 3,4
	51,7 ± 1,6	23,3 ± 5,7	22,5 ± 1,3	45,0 ± 2,5
<i>E. simulans-dubardi</i>	25,0 ± 5,2	-	16,7 ± 6,1	-
	42,5 ± 2,8		50,0 ± 2,1	
<i>E. ovinum</i>	62,5 ± 2,7	-	33,3 ± 3,4	-
	30,0 ± 2,2		65,0 ± 1,5	
<i>Epidinium ecaudatum</i>	37,5 ± 3,1	80,0 ± 2,5	66,7 ± 1,6	50,0 ± 2,1
	56,7 ± 0,9	25,0 ± 4,9	30,0 ± 5,0	23,3 ± 2,0
<i>Ophryoscolex caudatus</i>	25,0 ± 5,2	20,0 ± 4,3	33,3 ± 3,4	-
	20,0 ± 4,3	30,0 ± 5,4	20,0 ± 6,1	
<i>Diplodinium bubalidis</i> <i>ssp. bubalidis</i>	25,0 ± 5,2	-	50,0 ± 2,1	33,3 ± 3,4
	40,0 ± 2,9		30,0 ± 5,0	25,0 ± 1,7
<i>Isotricha intestinalis</i>	12,5 ± 6,7	40,0 ± 3,2	16,7 ± 6,1	50,0 ± 2,1
	20,0 ± 4,3	25,0 ± 4,9	30,0 ± 5,0	23,3 ± 2,0
<i>Dasytricha ruminantium</i>	25,0 ± 5,2	-	33,3 ± 3,4	33,3 ± 3,4
	35,0 ± 1,9		25,0 ± 1,7	30,0 ± 5,0
Всего видов	10	6	10	7

Примечание: в числителе – средняя частота встречаемости в особях хозяев; в знаменателе – средняя частота встречаемости в пробах.

Заключение

Фаунистические и экологические исследования позволили провести оценку инфузорной фауны пищеварительного тракта тонкорунных овец из агрохозяйств лесной зоны Омской области, выявить особенности распределения видов инфузорий в преджелудках жвачных животных.

Сходство видового состава эндобионтных инфузорий у овец, обитающих в разных административных районах Омской области, связано, скорее всего, с географической близостью мест обитания разных особей, что делает вероятным контакт между ними.

Список литературы

1. Догель, В. А. Простейшие – Protozoa. Малоресничные инфузории – Infusoria Oligotricha. Сем. Ophryoscolecidae. Определитель по фауне СССР. [Текст] / В. А. Догель. – Л.: АН СССР, 1929. – 96 с.
 2. Иванов, А. В. Большой практикум по зоологии беспозвоночных [Текст] / А. В. Иванов, Ю. И. По-

лянский, А. А. Стрелков. – М.: Высшая школа, 1981. – 504 с.

3. Корнилова, О. А. История изучения эндобионтных инфузорий млекопитающих / О. А. Корнилова. – СПб.: ТЕССА, 2004. – С. 37–49.

4. Корнилова, О. А. Метод комплексного обследования фауны эндобионтных инфузорий [Текст] / О. А. Корнилова // Функции морф., экол. и жизн. циклы жив.: сб. научн. тр. каф. зоол. РГПУ им. А. И. Герцена. Вып. 4. – СПб.: ТЕССА, 2004. – С. 58–65.

5. Пирс, Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: ИИЛ, 1962.

6. Dehority, B. A. Rumen ciliate fauna of Alaskan moose (*Alces americana*), musk-ox (*Ovibos moschatus*) and Dall mountain sheep (*Ovis dalli*) / B. A. Dehority // J. Protozool. – 1974/21. – P. 26–32.

7. Lubinsky, G. Studies on the evolution of the Ophryoscolecidae: some evolutionary trends on the genus *Entodinium* / G. Lubinsky // Canad. J. Zool. 1957. – Vol. 35. – № 1. – P. 111–133.

8. Sladeczek, F. Ophryoscolecidae z bachoru jelena (*Cervus elaphus* L.), danka (*Dama dama* L.) a srnce (*Capreolus capreolus* L.) / F. Sladeczek // Vest. Ceskosl. Zool. Spol. – 1946, 10. – P. 201–231.

УДК 619:616.981.49

Ключевые слова: сельскохозяйственная птица, сальмонелла, антибактериальные препараты

Key words: poultry, salmonella, antibiotics

Глебова Е. В., Майборода О. В.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ САЛЬМОНЕЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ

THE STUDY OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN SALMONELLA ISOLATES FROM POULTRY

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»

Адрес: 61023, Украина, г. Харьков, ул. Пушкинская, 83

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

Address: 61023, Ukraine, Kharkiv, Pushkinskaya str., 83

Глебова Екатерина Валерьевна, к. в. н., зав. сектором

Glebova Ekaterina V., Ph.D. in Veterinary Science, Head of the Sector

Майборода Ольга Владимировна, аспирант / Maiboroda Olga V., Postgraduate

Аннотация. В статье рассматривается вопрос эпизоотического мониторинга по сальмонеллезу сельскохозяйственной птицы на территории Украины и изучение антибиотикорезистентности изолированных культур сальмонелл. Установлено, что среди водоплавающей птицы сальмонеллы были выделены от 12 % поголовья, в то время как от представителей отряда куриных сальмонеллы выделяли от 3,5 % исследованной птицы. Была установлена наибольшая устойчивость изолированных культур сальмонелл к антибактериальным препаратам группы макролидов, пенициллинов и тетрациклинов.

Summary. The article discusses the epizootic monitoring for salmonellosis of poultry in Ukraine and the study of antibiotic resistance in *Salmonella* isolated cultures. Found that among waterfowl *Salmonella* was isolated from 12 % of the population, while among galliformes it was isolated from 3.5 % of the studied birds. *Salmonella* isolated cultures showed the greatest resistance to antibiotics of macrolide, penicillin and tetracyclines.

Введение

На сегодняшний день одной из актуальных проблем ветеринарной и гуманной медицины остаются сальмонеллезы, возбудители которых в большинстве случаев сальмонеллы вида *Salmonella enterica* серотипов *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium*. Данные микроорганизмы вызывают сальмонеллез у животных и птиц, а также пищевые токсикоинфекции у человека. Известно, что основным источником сальмонелл для человека является контаминированная продукция птицеводства [5, 7]. После вступления ряда стран СНГ во Всемирную Торговую Организацию значительно расширились возможности экспорта и импорта продукцией птицеводства. На практике при осуществлении импортно-экспортных операций уделяется особое внимание контролю наличия возбудителей инфекций, передаваемых с пищевыми продуктами, в том числе сальмонеллеза. Программа государственного ветеринарно-санитарного контроля сальмонеллеза птицы, которая

осуществляется на всей территории Украины, охватывает более 100 птицеводческих предприятий. На сегодня в Украине поддерживается стабильная, контролируемая благополучная эпизоотическая ситуация в области птицеводства, в том числе по сальмонеллезам. Однако отмечаются случаи заболевания птицы сальмонеллезом. В связи с тем что сальмонеллы имеют устойчивость ко многим антибиотикам и значительную генетическую пластичность, Всемирная организация охраны здоровья животных, а также Всемирная организация здравоохранения не рекомендуют широко использовать их в борьбе с инфекцией, а в комплексе мер применять специфическую профилактику. Бесконтрольное необоснованное применение сверхвысоких концентраций антибиотиков критически ускоряет процесс формирования устойчивых штаммов. Использование антибактериальных препаратов должно базироваться на программе отбора проб для бактериологических исследований и результатах чувствительности к антибиотикам [2, 4].

Таким образом, целью нашей работы явилось изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных от разных видов сельскохозяйственной птицы.

Материалы и методы

Исследования проводились на базе сектора микоплазмозов и сальмонеллезов отдела изучения болезней птиц Национального научного центра «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» г. Харькова. Посевы из биологического материала (пробы последа) от птицы (куры яичных (n = 210) и мясных (n = 140) кроссов, гуси (n = 30), утки (n = 20), фазаны (n = 10), перепела (n = 10), голуби (n = 10)) были выполнены на жидкие неселективные и селективные обогащающие питательные среды, плотные дифференциально-диагностические среды. После микроскопии мазков, окрашенных методом Грама, проводили посев выделенных культур для определения биохимических свойств на дифференцирующий ряд для энтеробактерий, а также реакцию агглютинации с O-комплексными и O- и H-монорецепторными сальмонеллезными агглютинирующими сыворотками. Для выделенных культур сальмонелл (n = 21) определяли чувствительность к антибактериальным препаратам различных фармакологических групп методом диффузии в агар с применением стандартных бумажных дисков.

Результаты и обсуждение

Было установлено, что 4,8 % от общей численности поголовья птицы являлось носителем сальмонелл, причем число выде-

ленных культур сальмонелл вида *Salmonella enterica* серотипа *Enteritidis* (n = 12) превосходило в 1,3 раза число изолированных культур сальмонелл вида *Salmonella enterica* серотипа *Typhimurium* (n = 9). Среди водоплавающей птицы сальмонеллы были выделены от 12 % поголовья, в то время как от представителей отряда куриных сальмонеллы выделяли от 3,5 % исследованной птицы (табл. 1). Клинические проявления сальмонеллеза у птиц часто не типичны, что обусловлено ассоциативным процессом с другими представителями бактериальной микрофлоры, вирусами, а также возбудителями протозоозов [1].

Несомненно, что для установления диагноза «золотым» стандартом является бактериологические исследования и изоляция культур возбудителей. Только после получения результатов определения чувствительности выделенных бактериальных культур к антибактериальным препаратам возможен подбор и обоснованное назначение схемы лечебно-профилактической обработки птицы. Вместе с этим назначение и включение в схему лечения антибиотиков эмпирически имеет ряд недостатков, самый главный из которых – создание устойчивых штаммов к антибактериальным препаратам и, следовательно, уменьшение возможностей врача в борьбе с инфекцией. При выборе антибактериального препарата для птицеводства необходимо учитывать также способ (с водой или с кормом), курс и кратность его применения, жесткость питьевой воды. Немаловажным является также период каренции и индивидуальная переносимость препарата каждым видом птицы (табл. 2).

Таблица 1.

Культуры сальмонелл вида *Salmonella enterica*, выделенных от птицы

№ п/п	Вид птицы (n = 430)	Выделенные культуры сальмонелл (n = 21)
1	Куры яичных кроссов (n = 210)	<i>Salmonella Enteritidis</i> (n = 7)
2	Куры мясных кроссов (n = 140)	<i>Salmonella Enteritidis</i> (n = 4)
3	Гуси (n = 30)	<i>Salmonella Typhimurium</i> (n = 4)
4	Утки (n = 20)	<i>Salmonella Typhimurium</i> (n = 2)
5	Фазаны (n = 10)	<i>Salmonella Enteritidis</i> (n = 1)
6	Перепела (n = 10)	<i>Salmonella Typhimurium</i> (n = 1)
7	Голуби (n = 10)	<i>Salmonella Typhimurium</i> (n = 2)

Чувствительность выделенных культур сальмонелл вида *Salmonella enterica* к антибактериальным препаратам

№ п/п	Антибактериальные препараты	Культуры сальмонелл, чувствительность выделенных культур					
		<i>Salmonella Enteritidis</i> (n = 12)			<i>Salmonella Typhimurium</i> (n = 9)		
		+	±	–	+	±	–
1	Амоксициллин	1	4	7	1	3	5
2	Тетрациклин	2	1	9	1	4	4
3	Окситетрациклин	2	5	5	1	2	5
4	Доксициклин	5	3	4	2	1	6
5	Гентамицин	5	1	6	4	2	3
6	Стрептомицин	0	3	9	0	4	5
7	Спектиномицин	3	1	8	0	2	7
8	Азитромицин	1	2	9	0	2	7
9	Линкомицин	2	3	7	0	4	5
10	Клиндамицин	1	5	6	2	4	3
11	Эритромицин	0	5	7	0	2	7
12	Тилозин	0	1	11	0	0	9
13	Тилмикозин	0	0	12	0	0	9
14	Норфлоксацин	1	2	9	2	4	3
15	Офлоксацин	4	3	5	3	1	5
16	Энрофлоксацин	1	4	7	0	3	6
17	Ципрофлоксацин	1	4	7	2	3	4
18	Левифлоксацин	1	6	5	2	3	4
19	Гатифлоксацин	2	5	5	3	3	3
20	Колистин	5	5	2	4	1	4
21	Триметоприм	1	4	7	0	2	7
22	Флорфеникол	10	2	0	5	3	1

Примечания: + – культура чувствительна; ± – культура умеренно-устойчива; – – культура устойчива.

Как видно из таблицы 2, наибольшая устойчивость изолированных культур сальмонелл была установлена к антибактериальным препаратам группы макролидов (азитромицин, эритромицин, тилозин, тилмикозин), пенициллинов (амоксициллин) и тетрациклинов (тетрациклин, окситетрациклин). Наибольшая чувствительность изолированных культур сальмонелл была выявлена к препаратам группы фторхинолонов (офлоксацину, левофлоксацину, гатифлоксацину), колистину, флорфениколу, гентамицину. Очевидно, что бесконтрольное применение антибактериальных препаратов в птицеводстве уменьшает спектр выбора препаратов с каждым годом. Это, в свою очередь, приводит к изысканию антибиотиков нового поколения и, следовательно, к

существенным затратам на их разработку и производство [3, 6].

Заключение

Таким образом, проведенные исследования подтверждают необходимость постоянного контроля со стороны ветеринарной службы над циркуляцией возбудителей сальмонеллеза среди продуктивной птицы, а также над применением антибактериальных препаратов в современном промышленном птицеводстве.

Список литературы

1. Бессарабов, Б. Ф. Болезни птиц: учебное пособие / Б. Ф. Бессарабов [и др.] // СПб. : Лань. – 2007. – 448 с.
2. Булатов, А. С. Биологические особенности сальмонелл, выделенных с объектов птицефабрик /

А. С. Булатов, А. Б. Кононенко, И. Б. Павлова // Ветеринария. – 2003. – № 1. – С. 55–57.

3. Обуховская, О. В. Анализ эпизоотической ситуации по бактериальным болезням птицы в птицеводческих хозяйствах Харьковской области / О. В. Обуховская, Э. П. Петренчук, Е. В. Глебова, Н. В. Крюкова, А. М. Гонтарь, О. В. Гриненко // Проблемы зооинженерии и ветеринарной медицины: сб. науч. тр. / ХГЗВА. – Харьков, 2009. – Т. 1, Ч. 2, Вып. 19. – С. 123–128.

4. Пименов, Н. В. Антибиотикорезистентность сальмонелл, выделенных у домашних голубей / Н. В. Пименов, Н. В. Данилевская // Ветеринария. – 2006. – № 9. – С. 20–24.

5. Плитов, И. С. Индикация патогенных бактерий, циркулирующих в птицеводческих хозяйствах / И. С. Плитов // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2011. – № 1 (5). – С. 63–65.

6. Яковлев, С. С. Эпизоотическая ситуация по сальмонеллезам птиц в России / С. С. Яковлев и др. // Ветеринария. – 2006. – № 9. – С. 12–13.

7. Foley, Steven L. Population Dynamics of Salmonella enterica Serotypes in Commercial Egg and Poultry Production / Steven L. Foley, Rajesh Nayak, Irene B. Hanning, Timothy J. Johnson // Appl Environ Microbiol. – 2011. – № 77 (13). – P. 4273–4279.



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, и Вы найдёте много интересной и полезной информации!

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

УДК 639.3:615

Ключевые слова: витамины, аминокислоты, радужная форель, токсикоз, бактериальная инфекция

Key words: vitamins, amino acids, rainbow trout, toxicosis, bacterial infection

Нечаева Т. А.

ПРИМЕНЕНИЕ ВИТАМИННО-АМИНОКИСЛОТНОГО КОМПЛЕКСА ГЕМОБАЛАНС ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ *APPLICATION OF VITAMIN AND AMINO ACIDS OF THE COMPLEX HAEMOBALANCE IN RAINBOW TROUT REARING*

ГБУ Республики Карелия «Республиканская ветеринарная лаборатория»

Адрес: 185013, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, Шуйское шоссе, 26
State-Financed Institution of the Republic of Karelia "Republican Veterinary Laboratory"
Address: 185013, Russia, the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Shuiskoye highway, 26

Нечаева Тамара Алексеевна, к. б. н, ихтиопатолог
Nechaeva Tamara A., Ph.D. in Biology Science, Ichthyopathologist

Аннотация. Препарат Гемобаланс содержит витамины группы В, а также является источником необходимых для рыб биогенных элементов. Применение Гемобаланса при выращивании радужной форели разных возрастов способствовало значительному улучшению эпизоотического состояния. Отмечено повышение выживаемости и быстрое восстановление иммуно-физиологического статуса рыб, перенесших токсикоз, осложненный бактериальной инфекцией. Это позволяет рекомендовать Гемобаланс для применения в форелеводстве.

Summary. The drug Haemobalance contains vitamins of group B and is also a source of biogenic elements necessary for fish. The use of Haemobalance in cultivation of rainbow trout of different ages contributed to significant improvement of epizootic status. Noted improvement in survival and rapid recovery of the immune-physiological status of fish which had toxicosis complicated by bacterial infection. It allows to recommend Haemobalance for application in fish breeding.

Введение

В современных индустриальных рыбноводных хозяйствах разных типов все больше возрастает потребность в препаратах, содержащих витамины, аминокислоты и микроэлементы, необходимые для нормального роста и развития рыб. В условиях, когда применение антибиотиков все более ограничено в связи с особенностями технологического цикла выращивания, а также с высокой резистентностью, которую проявляют к ним болезнетворные микроорганизмы, использование витаминно-аминокислотных комплексов становится все более актуальным. Их применение позволяет усилить иммунитет рыб при сезонных вспышках бактериальных заболеваний, ухудшении качества воды и других стрессовых ситуациях, неизбежных в современном рыбоводстве.

Одной из важнейших групп витаминов, необходимых для нормальной жизнедеятельности рыб, являются витамины группы В. Они входят в состав основных ферментов, катализирующих различные реакции белкового, жирового и углеводного обмена. Буду-

чи водорастворимыми, витамины группы В, в отличие от жирорастворимых, не накапливаются в больших количествах в организме и должны постоянно поступать с пищей. Витамины группы В принимают участие в пластическом и энергетическом обмене, поэтому их дефицит вызывает снижение скорости роста и эффективности усвоения корма, а часто и повышенную смертность, особенно у молоди.

Недостаток витамина В₂ (рибофлавин) приводит к нарушению координации движений, потере аппетита и, как следствие, к снижению темпа роста. Очень характерным признаком при авитаминозе по витамину В₂ является поражение глаз у рыб: кровоизлияния и помутнение зрачка.

Витамин В₆ (пантотеновая кислота) играет ведущую роль в осморегуляции с поддержанием гидроминерального гомеостаза в жабрах и почках. При дефиците витамина В₆ возможны отеки жаберного эпителия и слипание жабр.

Витамин В₄ (холин) и витамин В₈ (инозитол) оказывают липотропное действие,

способствуя выведению лишних жиров из печени и предотвращают ее жировую дегенерацию. Поэтому их дефицит приводит к избыточному накоплению липидов в печени, что неоднократно отмечалось при выращивании радужной форели в искусственных условиях. Потребность в этих витаминах возрастает при повышенном содержании жира в корме, что характерно для кормов лососевых рыб.

Недостаток витамина В₇ (биотин) приводит к дегенерации жаберного эпителия, избыточному ослизнению покровов тела, анемии печени, нарушению синтеза жирных кислот и гликогена и т. д.

При дефиците витамина В₁₂ (цианкоболомин) наблюдают анемию, снижение содержания общего белка в крови, низкий гемоглобин [6]. В большом количестве отмечают также появление мелких незрелых эритроцитов, что в то же время свидетельствует о токсическом влиянии на организм [3].

Предполагается, что в современных искусственных кормах потребности рыб в необходимых витаминах удовлетворены за счет использования для их изготовления высококачественного сырья и витаминных премиксов [6]. Однако в процессе перевозки и хранения витамины могут разрушаться, в то время как у рыб в стрессовой ситуации или при заболевании потребность в тех или иных витаминах возрастает. Поэтому периодически на рыбоводных предприятиях возникает необходимость во введении в корм витаминов и витаминно-аминокислотных комплексов.

Препарат Гемобаланс содержит витамины группы В в количествах, приемлемых для лососевых рыб, поэтому может быть использован улучшения состояния рыб при стрессе, токсикозе и т. д.

Гемобаланс является источником необходимых для рыб биогенных микроэлементов, например кобальта. Этот биогенный элемент в пресных водоемах северо-запада России вообще не обнаружен либо найден в минимальных количествах. Между тем введение кобальта в корм повышает уровень гемоглобина и эритроцитов в крови рыб, стимулирует их рост. Форель проявляет большую

устойчивость к высоким температурам воды, что особенно важно в озерных садковых хозяйствах [6].

Целью нашей работы было изучение эффективности применения препарата Гемобаланс в форелеводстве при разных методах промышленного выращивания и у рыб разных возрастов.

Материал и методы

Исследовательская работа была проведена на базе ФГУП Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства (ФГУП ФСГЦР), Ленинградская область.

Сеголетки радужной форели, содержащиеся в модуле установки с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ) и двухлетки радужной форели, размещенные в бетонных бассейнах с водоснабжением из поверхностного водоема, регулярно подвергались ихтиопатологическому обследованию.

Температура воды за период наблюдения составляла 10–18 °С в бассейнах и 11–16 °С в УЗВ.

Ихтиопатологическое обследование проводили по методике Быховской-Павловской [1]. Бактериологические исследования были проведены специалистами Межобластной ветеринарной лаборатории (г. Санкт-Петербург). Диагностирование флавобактериоза в полевых условиях проводили по экспресс-методу Люмсен [8]. О физиологическом состоянии рыбы судили по уровню общего белка в крови и по состоянию форменных элементов крови (окраска мазков крови произведена по методу Романовского). Определение содержания общего белка в сыворотке крови проводили с помощью рефрактометра. Гидрохимические исследования воды проведены в лаборатории экологической токсикологии ГосНИОРХ (г. Санкт-Петербург).

Для проведения эксперимента были взяты две группы радужной форели разного возраста, содержащиеся в разных условиях.

Сеголетки радужной форели содержались в бассейнах модуля УЗВ. В середине июля у них были отмечены клинические признаки токсикоза и бактериальной инфекции, наиболее распространенной в форелевых хозяйствах – флавобактериоза (миксобактериоза).

В то же время было зафиксировано повышение смертности рыб. Среди сеголеток радужной форели были выделены подопытная и контрольная группы. Навеска в обеих группах составила 9,3 г. Количество рыб в опыте – 28 200 экз., в контроле – 28 386 экз.

В контрольной группе проведено кормление по стандартной схеме – витамин С в дозировке 1,5 г/кг корма в течение 10 дней.

В подопытной группе в корм введен Гемобаланс в дозировке 1 мл/кг корма и витамин С в дозировке 1,5 г/кг корма в течение 10 дней.

Двухлетки радужной форели содержались в бетонных бассейнах, куда вода поступала из головного пруда. В начале осени сильные дожди способствовали значительному загрязнению воды, поступающей в бассейны. В течение трех дней вода имела ярко выраженный коричневый оттенок за счет смыва большого количества органических веществ и взвесей. На поверхности воды отмечали наличие маслянистой пленки.

В этот период рыбы были не активны и плохо питались. Вскоре было отмечено повышение смертности среди двухлеток форели. Среди них были выделены подопытная и контрольная группы, содержащиеся в отдельных бетонных бассейнах. Навеска рыб в обеих группах была примерно одинаковой: 240–250 г. Ихтиомасса в контроле и опыте составляла 300 кг на бассейн, количество рыб в опыте – 1 250 экз., в контроле – 1 200 экз.

В контрольной группе проведено кормление по стандартной схеме – витамин С в дозировке 1,5 г/кг корма в течение 10 дней.

В подопытной группе в корм введен Гемобаланс в дозировке 1 мл/кг корма и витамин С в дозировке 1,5 г/кг корма в течение 10 дней.

Результаты исследования

Сеголетки форели

В начале эксперимента у рыб контрольной и подопытной групп наблюдали признаки как токсикоза, так и флавобактериоза. При выращивании рыбы в УЗВ риск бактериальных заболеваний и токсикозов значительно увеличивается [2].

О токсическом воздействии свидетельствовали ослизненные и отекавшие жабры. У отдельных особей наблюдали нарушения координации движений, оттопыренные жаберные крышки, учащенное дыхание. Содержание кислорода в воде составляло 12 мг/л, что соответствует нормативному при выращивании форели. Гидрохимические исследования воды выявили высокое содержание нитритов – 0,43–0,47 мгN/л (норматив – 0,02 мгN/л) и нитратов – 0,10–0,12 мгP/л (норматив – 0,02 мгP/л). В этот период уровень рН был повышен до 8,1–8,5, что в системах УЗВ способствует резкому возрастанию токсичности свободного аммония.

Гематологические исследования обнаружили изменения клинической картины крови, характерные для токсикоза. В мазках крови у сеголеток форели было отмечено большое количество незрелых безъядерных и разрушенных эритроцитов. В разной степени признаки токсикоза встречали у 5–10 % обследованных рыб. Токсическое воздействие вызывает нарушение эритропоэза, вследствие чего происходит нарушение дыхательных процессов в организме рыб, развивается гипоксия.

Кроме того, у сеголеток форели наблюдали также клинические признаки одной из форм флавобактериоза – бактериального холодноводного заболевания. У 10 % обследованных рыб обнаруживали анемию жабр, печени и почек, увеличение селезенки. Некротическое поражение плавниковых лучей отмечали единично. Микробиологические исследования выявили возбудитель бактериального холодноводного заболевания – *Flavobacterium psychrophilum*.

Необходимо отметить, что при попадании в установку с рециркулируемой водой рыбы, обсемененной условно-патогенными микроорганизмами, уровень накопления болезнетворного агента быстро возрастает и включается механизм его передачи здоровым особям. В условиях тесного контакта, неизбежного при выращивании рыб в УЗВ, скорость передачи потенциального возбудителя очень высока [4].

Основной причиной ухудшения эпизоотического состояния сеголеток форели,

по нашему мнению, послужил токсикоз, а затем на его фоне произошло развитие бактериальной инфекции. При выращивании в УЗВ патологические процессы у рыб часто развиваются подобным образом [7].

В конце июня отход в опыте и в контроле достигал 0,8–1 % от общей численности рыб. После принятия мер по улучшению работы УЗВ и проведения лечебно-профилактического курса гибель рыб в опыте снизилась до 0,2 % в сутки, а в контроле – до 0,3 % (рис. 1).

Исследования крови, проведенные в данный момент, позволяют говорить о нормализации состояния форменных элементов красной крови и нормальном течении эритропоэза. Восстановительные процессы более активно протекали у рыб в подопытной группе. У рыб в контроле обнаруживали большее (до 15 %) число незрелых безъядерных эритроцитов.

Клинические признаки миксобактериоза отмечали единично, в то время как признаки токсикоза по-прежнему наблюдали у 10 % рыб. Только снижение температуры воды до 11–12 °С и снижение уровня рН до 7,7–7,8 позволили нормализовать состояние рыб.

Двухлетки форели

В начале опыта у рыб контрольной и подопытной групп отмечали повышенное ослизнение жабр и поверхности тела, что, по всей вероятности, являлось следствием органического загрязнения воды. В тоже время у 30–40 % двухлеток наблюдали в разной степени некротическое поражение плавников и увеличение селезенки, что позволяет говорить о хроническом проявлении бактериальной инфекции. Содержание общего белка в крови у таких рыб составляло $2,75 \pm 0,5$ г%. Снижение содержания общего белка в крови ниже 3 г% свидетельствует об ухудшении физиологического состояния рыбы, что может быть вызвано инфекционной болезнью [5].

У рыб, состояние внутренних органов которых визуально соответствовало норме, содержание общего белка было $3,46 \pm 0,7$ г%, что для рыб такого возраста соответствует нижнему пределу нормы. Гибель рыб в контроле перед началом эксперимента составила 1,8 % от общей численности рыб, а в опыте – 5,5 %. Отход рыб в опыте изначально

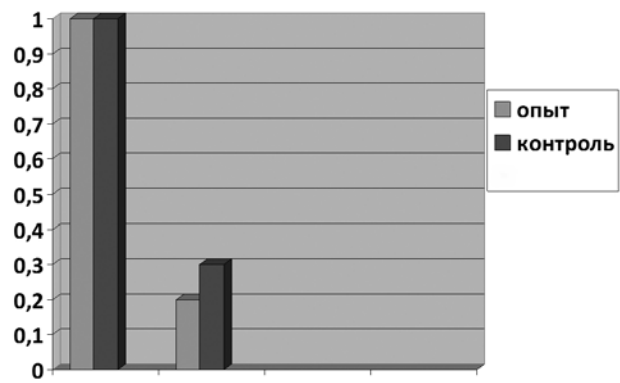


Рис. 1. Снижение гибели сеголеток радужной форели при проведении лечебно-профилактического кормления с препаратом Гемобаланс.

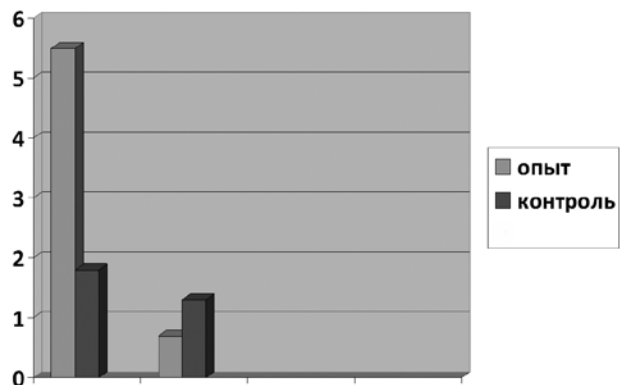


Рис. 2. Снижение гибели двухлеток радужной форели при проведении лечебно-профилактического кормления с препаратом Гемобаланс.

был в три раза выше, чем контроле, что свидетельствует об ухудшении их состояния по сравнению с особями контрольной группы.

После проведения курса лечебного кормления отход во второй декаде сентября снизился в подопытной группе до 0,7 %, а в контрольной – до 1,3 % (рис. 2) Состояние жабр, плавников и поверхности тела соответствуют норме у подавляющего большинства рыб в опыте и в контроле.

Признаки хронической бактериальной инфекции продолжали выявляться у отдельных рыб. Содержание общего белка в крови у таких особей составляет $3,10 \pm 0,6$ г%. У рыб, состояние которых соответствует норме, содержание общего белка в крови составляет $3,97 \pm 0,6$ в контроле и $4,15 \pm 0,5$ в опыте. Гибель рыб полностью прекратилась во второй половине сентября.

Результат воздействия препарата – снижение смертности рыб в опыте по сравнению с контролем – представлен в таблице 1.

Воздействие препарата Гемобаланс на снижение смертности радужной форели

Время	Возраст	Смертность рыб в опыте, %	Смертность рыб в контроле, %
Начало опыта	Сеголетки	1,0 – 0,8	1,0 – 0,8
Завершение опыта	Сеголетки	0,2	0,3
Начало опыта	Двухлетки	5,5	1,8
Завершение опыта	Двухлетки	0,7	1,3

Обсуждение результатов

Сеголетки форели

В ходе эксперимента наблюдали улучшение состояния рыб в контрольной и в подопытной группах. Разница в снижении гибели рыб в процентном соотношении к их общей численности минимальна (до 0,2 % в опыте и до 0,3 % в контроле). Нормализация работы УЗВ явилась главным фактором, способствовавшим оздоровлению сеголеток форели.

В то же время исследования крови позволяют предположить, что процесс восстановления нормального состояния форменных элементов красной крови и нормализации эритропоэза осуществляется активнее при введении в терапевтическую схему препарата Гемобаланс.

Так как появление большого количества мелких незрелых эритроцитов отмечено как при токсикозе, так и при дефиците витамина В₁₂, можно предположить, что при токсическом воздействии на организм рыб потребность в этом витамине и вообще в витаминах группы В возрастает. Поэтому введение состав лечебного корма препарата Гемобаланс способствует более активному восстановлению нормального кроветворения и всего организма.

Двухлетки форели

Перед началом эксперимента выявлено значительно худшее состояние у двухлеток контрольной группы, что выразилось, в большем, чем подопытных рыб, отходе. В дальнейшем наблюдали улучшение состояния рыб в обеих группах. Однако надо отметить, что восстановление нормального физиологического состояния (содержание общего белка в крови, снижение гибели рыб) более активно происходило в опыте, чем в контроле. По окончании лечебно-профилактического

курса кормления отход форели в подопытной группе был значительно ниже, чем в контроле – в 2,5 раза. Обращает на себя внимание и более высокое содержание общего белка в сыворотке крови подопытных рыб, соответствующее нормативному для рыб такого возраста и размера.

Необходимо отметить, что характерными признаками недостатка витамина В₁₂ у рыб являются анемия и снижение содержания общего белка в крови [6]. Здесь также можно предположить, что под влиянием токсического воздействия, осложняемого наличием хронической бактериальной инфекции, у рыб возрастает потребность в витаминах, в том числе и витаминах группы В. Таким образом, введение в терапевтическую схему препарата Гемобаланс способствует более быстрому восстановлению функций организма, и, соответственно, более высокой выживаемости форели.

Заключение

Проведенные нами исследования по оценке эффективности применения препарата Гемобаланс у сеголеток и двухлеток радужной форели при различных методах промышленного выращивания позволяют сделать следующие выводы.

1. Гемобаланс может быть рекомендован для введения в корм молоди форели, особенно при содержании ее в УЗВ. Можно предложить введение Гемобаланса как с лечебной, так и с профилактической целью в дозировке 1 мл/кг корма, длительность курса 10 дней.

2. Гемобаланс можно использовать для активизации восстановления организма после токсикоза и при наличии хронической бактериальной инфекции у рыб старших возрастов. Предлагаемая дозировка Гемо-

баланса – 1 мл/кг корма при длительности курса 10 дней.

3. Наиболее оптимально применение Гемобаланса совместно с витамином С. Эффект от воздействия такой терапевтической схемы лечения значительно усиливается по сравнению с использованием для лечебно-профилактического кормления рыб только витамина С.

Список литературы

1. Быховская-Павловская, И. Е. Паразитологическое исследование рыб / М.-Л. : АН СССР. – 1952. – 63 с.
 2. Васюков, И. И. Изучение микрофлоры форели в замкнутых системах / И. И. Васюков, Е. В. Авдеева // Биологические основы индустриальной аквакультуры : сб. науч. трудов КТИ. – Калининград. – 1984. – С. 54–59.
 3. Житенева, Л. Д. Основы ихтиогематологии (в сравнительном аспекте) / Л. Д. Житенева, Э. В. Макаров, О. А. Рудницкая. – Ростов-на-Дону, 2004. – 311 с.

4. Котлярчук, М. Ю. Зараженность карпа бактериями рода Aeromonas в установке с замкнутым циклом водообеспечения Калининградского морского рыбного порта и оценка их патогенности / М. Ю. Котлярчук // Гидробиология на рубеже веков и тысячелетий : сб. науч. трудов КГТУ. – Калининград. – 2001. – С. 182–187.

5. Лысанов, А. В. Взаимосвязь некоторых систем организма и их влияние на развитие заболеваний карпа при выращивании на теплых водах / А. В. Лысанов // Сборник научных трудов ГосНИОРХ. – СПб. – 311 в. – 1992. – С. 94–98.

6. Остроумова, М. В. Биохимия и основы питания рыб / М. В. Остроумова. – СПб., 2001. – 357 с.

7. Токсикозы рыб с основами патологии. Справочная книга ; составители Н. М. Аршаница, М. А. Перевозников. – СПб. – 2006. – 179 с.

8. Lumsden, J. S. Necrotic myositis in cage cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), caused by *Flexibacter psychrophilus* / J. S. Lumsden, V. E. Ostland, H. W. Ferguson // J. Fish Diseases. – 1996. – Vol. 19. – № 2. – P. 113–119.

ИНТЕРНЕТ - МАГАЗИН КНИГ
 ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ СПЕЦИАЛИСТОВ



www.invetbio.spb.ru/form_zakaz_knigi.htm

реклама

УДК 616-076.5:616.37-002

Ключевые слова: панкреатит, цитокины, диагностика, лейкоциты

Key words: pancreatitis, cytokines, diagnosis, leukocytes

Андреева С. Д.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ДИАГНОСТИКА ЦИТОКИНОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ДЕСТРУКТИВНОГО ПАНКРЕАТИТА

*IMMUNOLOGICAL ASPECTS AND DIAGNOSIS OF CYTOKINES
IN THE SIMULATION OF ACUTE DESTRUCTIVE PANCREATITIS*

ФГБОУ ВПО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»

Адрес: 610017, Россия г. Киров, Октябрьский пр., 133. Тел. (8332) 57-43-29

Vyatka State Agricultural Academy

Address: 610006, Russia, Kirov, October pr., 133. Tel. +7 8332 57-43-29

Андреева Светлана Дмитриевна, к. в. н., проф. РАЕ,

доцент каф. диагностики, терапии, морфологии и фармакологии

Andreeva Svetlana D., Ph.D. in Veterinary Science, Professor of the Russian Academy of Natural Sciences,

Associate Professor of the Dept. of Diagnosis, Therapy, Morphology and Pharmacology

Аннотация. При моделировании острого деструктивного панкреатита у экспериментальных животных определено содержание цитокинов в сыворотке крови, что может быть ценным диагностическим и прогностическим критерием оценки тяжести патологического процесса.

Summary. *In the simulation of acute destructive pancreatitis in experimental animals the content of cytokines in the blood serum was determined which can be a valuable diagnostic and prognostic criteria for assessing the severity of the pathological process.*

Введение

Острый деструктивный панкреатит (ОДП) принято относить к заболеваниям реаниматолого-хирургического профиля [3]. В своих исследованиях мы посчитали необходимым обратиться к характеристикам ОДП, позволяющим рассматривать его патогенез с позиций иммунологии:

1) бимодальность патологического процесса с высокой клинической значимостью гнойно-септических осложнений, являющихся главной причиной летального исхода;

2) закономерное развитие панкреонекроза определяет патологический иммунный ответ и имеет яркое клиническое выражение;

3) диагностическое значение различных иммунологических и биохимических «маркеров» (цитокины, рецепторы, иммунокомпетентные клетки и продукты их жизнедеятельности) позволяет производить объективную оценку тяжести ОДП, прогнозировать его течение, отвечать на важнейшие для клинициста вопросы (ожидаемая летальность, вероятность развития сепсиса, потребность в интенсивной терапии, хирургическом лечении и др.);

4) чувствительность больных ОДП к иммуноориентированной терапии (ИТ), которая способна решать как самостоятельные задачи (обеспечивать профилактику гнойных осложнений и генерализации инфекции), так и служить компонентом лечебного комплекса, улучшая переносимость хирургических вмешательств, эффективность санации деструктивных очагов, эрадикации патогенов и др. Прямое повреждение, задержки выделения панкреатического секрета, забрасывание в силу различных причин желчи (особенно инфицированной) в панкреатические протоки стимулирует активацию собственных протео- и липолитических ферментов и вазоактивных субстанций в самой железе. Активированный трипсин стимулирует процесс превращения других проферментов в активные агенты внутри железы, что индуцирует аутолиз паренхимы органа. К факторам защиты поджелудочной железы от самопереваривания можно отнести стойкую связь ферментов и ингибиторов, которая поддерживает энзимы в неактивном состоянии, а также синтез большинства ферментов в неактивном состоянии (трипсин,

химотрипсин, эластаза, карбоксипептидаза, фосфолипаза А и В); существование в крови неспецифических факторов инактивации протеолитических энзимов [3, 5].

В патогенезе ОДП панкреатическим ферментам отводится значительная, но не решающая роль. Повреждение мембранных структур и органоидов ациноцитов, в результате которого развивается дисхолия и парапедез зимогенных гранул, следует рассматривать как первичный аффект панкреатита, т. к. выход ферментов из ацинарных клеток и их внутрижелезистая активация являются первичным пусковым механизмом прогрессирующего патологического процесса [2].

Исходя из современных взглядов [1, 2, 5, 7], в основе острого панкреатита лежит переход локального воспаления в системную воспалительную реакцию (systemic inflammatory response syndrome (SIRS)). Она в своем развитии проходит стадию активации эндотелиоцитов и клеток, участвующих в обеспечении неспецифической резистентности, с местной, а затем и системной продукцией первичных провоспалительных цитокинов (ЦК) (IL-1- α , TNF- α). Последующее накопление медиаторов в крови по принципу обратной связи активирует макрофаги, тучные клетки и тромбоциты, вызывая вторичную экспрессию цитокинов, в т. ч. IL-6, и белков острой фазы. Финалом SIRS становится генерализация воспалительной реакции, развитие диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-состояние), полиорганной дисфункции, а в последующем и полиорганной недостаточности [3, 7].

Инициация и основные этапы развития воспалительного ответа контролируются, главным образом, цитокинами, которые представляют собой группу полипептидных медиаторов, выполняющих функции месенджеров межклеточных взаимодействий, регулирующих интенсивность и продолжительность иммуновоспалительного ответа [4]. Эти медиаторы, в первую очередь, регулируют развитие местных защитных реакций в тканях поврежденной поджелудочной железы с участием различных типов клеток системы крови, соединитель-

ной ткани и эпителиев, опосредуя свои биологические эффекты через специфические рецепторные комплексы на поверхности клеток-мишеней [6, 8].

Защитная роль провоспалительных цитокинов заключается в рекрутировании в зону повреждения эффекторных клеток (нейтрофилов, макрофагов), стимуляции их фагоцитарной и бактерицидной активности, индукции иммунного ответа, что в совокупности способствует элиминации детрита, а затем репарации поврежденной структуры тканей [10]. Избыточная и генерализованная продукция провоспалительных медиаторов приводит к развитию SIRS; дальнейшее нарастание концентрации служит причиной целого ряда патологических состояний, в частности полиорганной недостаточности, а это, в свою очередь, является причиной ранней летальности больных ОДП [5, 7, 9].

Расположение железы, тесная связь ее протоковой системы с желчевыводящей системой, прилегание к желудку и двенадцатиперстной кишке, крупным ветвям чревного ствола и воротной вене создают условия для вовлечения этих образований в патологические процессы [3]. Обширная сеть лимфатических сосудов, дренирующих интерстиций железы непосредственно в систему грудного лимфатического протока, способствует быстрому попаданию в циркулирующую кровь продуктов распада тканей, цитокинов, ферментов и других активных веществ. Еще один путь резорбции осуществляется через систему воротной вены: цитокины быстро поступают в портальный кровоток и по грудному лимфатическому протоку в системную циркуляцию, что способствует вовлечению печени в патологический процесс при острых и хронических заболеваниях и повреждениях ПЖ [10].

Среди медиаторов SIRS ведущую роль играют цитокины (ЦК) [2, 4, 5], что обуславливает особый интерес к ним как со стороны клиницистов, так и со стороны экспериментаторов. Однако при моделировании патологического процесса на мелких лабораторных животных объема полученной при взятии сыворотки крови зачастую недостаточно для выполнения всего комплекса исследований,

в связи с чем внимание ученых привлекают новые методы лабораторного анализа, основанные, в частности, на использовании мультиплексных технологий [6].

Материалы и методы

Мультиплексный анализ – тип медико-биологических аналитических подходов, позволяющих одновременно измерять многочисленные анализы в одном образце. Мультиплексные анализы предназначены для детектирования в биологическом образце различных биомолекул (от 10 до 1000) одного класса (ДНК, РНК или белков). В соответствии с типом детектируемых молекул, анализ базируется на использовании набора нуклеиновых кислот или белков. Например, мультиплексный иммунологический метод основан на применении латексных микрошариков, каждый из которых покрывается определенным типом антител и кодируется определенной комбинацией флуоресцентных квантовых точек. Метод позволяет проанализировать от 10 до 100 биологических маркеров в капле крови пациента в течение нескольких минут. Мультиплексная технология – очень перспективное направление в биологии. Она уже получила большое распространение в ПЦР-анализе (полимеразно-цепная реакция) и завоевывает ведущие позиции в проточной цитометрии. Мультиплексный анализ позволяет оценивать несколько растворимых аналитов одновременно в образце небольшого объема.

Принцип мультиплексной технологии состоит в том, что последовательные реакции иммунологического связывания (формирование «сэндвича») проводятся на искусственных микросферах. Имеются две группы мелкодисперсных микрошариков (микросфер), отличающихся по размерам, одна из них состоит из шариков диаметром 5,5 мкм, другую составляют шарики диаметром 4,4 мкм, внутри каждой группы шарики различаются по интенсивности красной флуоресценции. Проточный цитометр по размеру и интенсивности флуоресценции определяет принадлежность микросфер к одной из 10 групп.

Сначала на цитограмме светорассеивания происходит разделение частиц по размеру:

А (5,5 мкм) и В (4,4 мкм). На следующих цитограммах частицы размеров А и В рассматриваются отдельно. На цитограмме флуоресценции отображаются 5 групп частиц одного размера. ЦК идентифицируется по собственной красной флуоресценции микрошариков. Концентрация рассчитывается по средней интенсивности красно-оранжевой флуоресценции меток.

Для удобного и быстрого проведения всех этих расчетов набор включает в себя специальное программное обеспечение. Оно полностью исключает ручную калибровку и прочие вычисления. Результаты исследования выдаются в форматах XLS (Microsoft®Excel) и PDF (Adobe).

Таким образом, данная методика мультиплексного анализа, как уже отмечалось, чрезвычайно удобна для определения уровня ЦК в эксперименте, когда речь идет о мелких лабораторных животных (крысы, мыши), где зачастую для комплексных исследований требуется сыворотки больше, чем можно получить от животного.

В частности, нами был проведен опыт по моделированию острого деструктивного панкреатита на крысах с изучением целого ряда гистологических, иммунологических, биохимических, гематологических показателей, а также применена диагностика оценки цитокинового статуса сыворотки, полученной при взятии крови экспериментальных животных.

Исследование было выполнено на 25 белых беспородных крысах обоего пола массой 180–200 г, содержащихся в виварии факультета ветеринарной медицины Вятской государственной сельскохозяйственной академии (г. Киров).

Все операции проводили под эфирным наркозом, при создании модели панкреатита выполняли верхне-срединную лапаротомию, иммобилизовывали поджелудочную железу и орошали последнюю хлорэтилом в течение одной минуты. После оттаивания железу погружали в брюшную полость и ушивали рану.

Забой животных производили на 1, 3, 7 и 14 сутки после операции, при декапитации забирали кровь, затем отделяли сыворотку,

в которой оценивали концентрацию следующих ЦК: интерферона-гамма (INF- γ), фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α), интерлейкина-1-альфа (IL-1- α), интерлейкина-4 (IL-4), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1); единица измерения ЦК – пг/мл.

Анализ проводили на цитометре Becton Coulter EPICS® XL™ в Кировском институте гематологии и переливания крови Минсоцразвития РФ. Для исследования сыворотки был использован набор «Rat Cytokines 6plex Kit» (Bender MedSystems, Австрия).

Результаты исследования

При анализе полученных данных был определен цитокиновый статус опытных животных, который приведен в таблице 1.

TNF- α относится к классу провоспалительных ЦК, которые продуцируются и действуют на иммунокомпетентные клетки, инициируя воспалительный ответ. Динамика TNF- α в ходе ОДП показала резкое повышение уровня ЦК в 1 сутки (1,05±0,12); данный показатель оставался высоким в течение всего эксперимента (3 сутки – 2,1±0,1; 7 сутки – 2,9±0,41; 14 сутки – 1,9±0,5). Во все сроки наблюдения имеет место достоверность различий ($p \leq 0,05$) по сравнению с нормой (0,31±0,065).

Высокий уровень этого ЦК является отражением активности и тяжести патологического процесса. Превышение нормы почти в 6 раз данного показателя в последнем сроке

наблюдения, с одной стороны, свидетельствует о том, что даже через 2 недели после воспроизведения патологического процесса воспаление в поджелудочной железе не купировано. С другой стороны, лишь к этому сроку повышается до нормы IL-4, который является противовоспалительным ЦК и, соответственно, ограничивает развитие воспаления. Угнетение же данного показателя в более ранние сроки свидетельствует о том, что у экспериментальных животных в этот период времени катаболические процессы преобладали над анаболическими, что подтверждают и результаты морфологических исследований (наличие некрозов вплоть до последнего срока наблюдения). Динамика IL-4 следующая: 1 сутки – 0,04±0,01; 3 сутки – 0,02±0,017; 7 сутки – 0,001±0,005; 14 сутки – 0,07±0,09. Во все сроки наблюдения, кроме последнего, имеет место достоверность различий ($p \leq 0,05$ по сравнению с нормой (0,06±0,03)).

IL-1- α также относится к провоспалительным ЦК, как TNF- α , инициирует и регулирует воспалительные процессы, активирует Т-лимфоциты и обладает аутокринным и паракринным действием. Динамика IL-1- α в течение первой половины эксперимента была регрессивной (1 сутки – 0,6±0,06; 3 сутки – 0,3±0,14; 7 сутки – 0,27±0,08). Увеличение уровня ЦК IL-1- α ко 2 неделе свидетельствует о развитии воспалительного процесса (14 сутки – 1,4±0,9). Во все сроки, кроме первых суток наблюдения, имеет место достоверность различий ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактными животными (0,56±0,03).

Таблица 1.

Содержание цитокинов в сыворотке крови крыс при моделировании острого деструктивного панкреатита, $M \pm m$ ($n = 5$ животных в каждой группе)

Вид цитокина, пг/мл	Интактные животные	Этап эксперимента, сутки			
		1	3	7	14
TNF- α	0,31±0,065	1,05±0,12*	2,1±0,1*	2,9±0,41*	1,9±0,5*
IL-1- α	0,56±0,03	0,6±0,06	0,3±0,14*	0,27±0,08*	1,4±0,9*
IL-4	0,06±0,03	0,04±0,01*	0,02±0,017*	0,01±0,005*	0,07±0,09
MCP-1	22,75±4,85	28,7±1,9	33,2±4,7*	49,25±2,55*	47,6±1,68*
GM-CSF	1,4±0,2	1,9±0,4*	2,9±0,4*	2,3±2,8*	1,8±0,7*
INF- γ	0,025±0,008	0,05±0,03	0,05±0,03	0,05±0,01	0

Примечание: * – $p \leq 0,05$.

МСП-1 характеризуется как моноцит-специфический хемоаттрактант, в основном продуцируемый в ответ на широкий спектр цитокинов (TNF- α , IL-1- α). Повышение уровня данных ЦК свидетельствует о высокой тканевой инфильтрации моноцитами, что подтверждается гематологическими показателями (моноцитоз). В ходе эксперимента, начиная с первых суток (28,7 \pm 1,9), данный показатель ЦК неуклонно возрастал (3 сутки – 33,2 \pm 4,7; 7 сутки – 49,25 \pm 2,55). По окончании опыта МСП-1 остался выше, чем у интактных крыс в 2 раза (14 сутки – 47,6 \pm 1,68). Во все сроки наблюдения, кроме первых суток, имеет место достоверность различий ($p \leq 0,05$) по сравнению с нормой (22,75 \pm 4,85).

GM-GSF индуцирует рост и дифференцировку незрелых костно-мозговых клеток, а также ускоряет процесс созревания гранулоцитов и мононуклеарных макрофагов. Увеличение данного показателя прямо пропорционально развитию воспаления у экспериментальных животных. С началом ОДП его значение возрастает в 1,3 раза (1 сутки – 1,9 \pm 0,4); максимального значения GM-GSF достигает к 3 суткам (2,9 \pm 0,4) и остается высоким в течение последующих двух недель (7 сутки – 2,3 \pm 2,8; 14 сутки – 1,8 \pm 0,7). Во все сроки наблюдения имеет место достоверность различий ($p \leq 0,05$) показателя GM-GSF в сыворотке крови опытных животных по сравнению с интактными крысами (1,4 \pm 0,2).

INF- γ относится к интерферонам II типа. Он продуцируется макрофагами, NK и Th1-лимфоцитами непосредственно после их активации вирусными, бактериальными или паразитарными агентами, вызывающими воспаление. В нашем эксперименте панкреатит вызывался физическими методами, а не инфекционными агентами, поэтому уровень INF- γ незначителен (табл. 1). Во все сроки наблюдения нет достоверности различий ($p > 0,05$) по сравнению с нормой (0,025 \pm 0,008).

Обсуждение

На основании приведенных данных мы можем сделать заключение о том, что высо-

кий уровень продукции провоспалительных цитокинов как феномена «цитокинового взрыва» и интенсивность развития панкреатита у экспериментальных животных находятся в прямой зависимости. Секретция интерлейкинов в раннем посттравматическом периоде носит защитный характер и направлена на усиление антипротеазной активности сыворотки крови [2]. Возникновение генерализованного деструктивного очага значительно ослабляет резервы макрофагальной системы, «обезоруживает» нейтрофилы, подавляет функции лимфоцитов. Запуск цитокинового каскада вызывает активизацию фибринолизина, комплемента и калликреинкининовой системы [5, 7]. Результатом активации этих систем является выброс гистамина, серотонина, брадикинина, вызывающих генерализованную вазодилатацию и разобщение межклеточных связей в эндотелии сосудов [1]. Это способствует увеличению проницаемости микроциркуляторного русла и миграции из сосудов жидкости и плазменных белков, повышенной экссудации в брюшную полость, а также формированию отека и воспаления поджелудочной железы и близлежащих органов. Таким образом, определение цитокинов в сыворотке крови может быть ценным диагностическим и прогностическим критерием оценки тяжести патологического процесса.

Выводы

1. При моделировании острого деструктивного панкреатита наблюдается гиперцитокинемия, что является одним из показателей развития полиорганных изменений.
2. В ходе эксперимента по созданию модели ОДП увеличивается концентрация провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1- α) как признак развития синдрома системной воспалительной реакции.
3. При остром деструктивном панкреатите в сыворотке крови крыс снижается уровень интерферона-гамма (INF- γ), что свидетельствует об угнетении пролиферации лимфоцитов и подавлении иммунитета животного.

Список литературы

1. Гринберг, Л. М. Сепсис и теория системной воспалительной реакции: попытка клинко-морфологи-

ческого консенсуса / Л. М. Гринберг, В. А. Руднов // Арх. патол. – 2007, № 4. – С. 56–59.

2. Долгих, Т. И. Роль фактора некроза опухоли, интерлейкинов-4 и 10 в развитии и прогрессировании воспаления у больных хроническим панкреатитом / Т. И. Долгих, Н. В. Ширина, Н. Г. Гордиенко и др. // Цитокины и воспаление. – 2003, т. 2, № 4. – С. 40–43.

3. Канаян, А. С. Патологическая анатомия и патогенез панкреатита (экспериментальное исследование) : автореферат дисс... докт. мед. наук / Канаян А. С. – 1985. – Москва. – 37 с.

4. Повешенко, А. Ф. Цитокины – факторы нейроэндокринной регуляции / А. Ф. Повешенко, В. В. Абрамов, В. В. Козлов // Успехи физиологических наук. – 2007 – № 3. – С. 40–46.

5. Салиенко, С. В. Иммунологические аспекты патогенеза острого деструктивного панкреатита и коррекция нарушений рекомбинантным IL-2 / С. В. Сали-

енко, Е. В. Маркелова, Б. А. Сотниченко // Цитокины и воспаление. – 2006, т. 5 – № 4. – С. 46–50.

6. Симбирцев, А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002– № 1. – С. 9–14.

7. Тарасенко, В. С. Особенности иммунного статуса при остром панкреатите / В. С. Тарасенко, А. И. Смолягин // Хирургия. – 2000. – № 8. – С. 51–55.

8. Юшков, Б. Г. От иммунофизиологии к иммунопатофизиологии / Б. Г. Юшков, В. Г. Климин // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2004 – № 4. – С. 101–104.

9. Bradley, JR. TNF-mediated inflammatory disease / JR. Bradley // J. Pathol. – 2008 – № 2. – P.149–0.

10. Sotnichenko, B. A. Application of interleukine-2 in all-inclusive treatment of acute destructive pancreatitis / B. A. Sotnichenko, S. V. Salienco, E. V. Markelova // Pacific Medical Journal. – 2003 – № 4. – P. 39–41.

**Ветеринарное Дерматологическое Общество стран СНГ
Российский ветеринарный журнал
Журнал JSAP /Российское издание**

Уважаемые коллеги!

Представляем вашему вниманию Российскую версию официального издания Европейского Общества Ветеринарной Дерматологии, Американской Академии Ветеринарной Дерматологии, Всемирной Ассоциации Ветеринарной Дерматологии – журнал «Veterinary Dermatology».

Главный редактор российского издания – Дипломант Европейского колледжа Ветеринарной Дерматологии, Президент Ветеринарного Дерматологического Общества стран СНГ, Заведующая дерматологическим отделением сети клиник «Белый клык» Кузнецова Е. С.

E-mail: info@logospress.ru
Тел/факс: (495) 220-4816, 689-0575



УДК 619:616:98:579.873.21.636.22/28

Ключевые слова: гиперчувствительность замедленного типа, микобактерии *M. bovis* BCG, ППД туберкулин, воспалительный процесс, инбредные морские свинки, рандомбредные морские свинки

Key words: *delayed type hypersensitivity, mycobacterium M. bovis BCG, PPD tuberculin, inflammatory process, inbreeding guinea pig, random breeding guinea pig*

Мясоедов Ю. М., Искандаров М. И.

РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ГРУПП МОРСКИХ СВИНОК, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕСТАХ ТУБЕРКУЛИНОВОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

THE DEVELOPMENT OF THE CRITERION OF FORMATION OF GUINEA PIG GROUPS USED IN TESTS FOR DELAYED TYPE HYPERSENSITIVITY TO TUBERCULIN

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я. Р. Коваленко» Российской академии сельскохозяйственных наук (ВИЭВ Россельхозакадемии)

Адрес: 109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1

Budgetary State Research Institution "Y. R. Kovalenko's All-Russian Institute for Experimental Veterinary Medicine" of the Russian Academy of Agricultural Science

Address: 109428, Russia, Moscow, Ryazansky pr., 24 k. 1

Мясоедов Юрий Михайлович, к. б. н.

Myasoedov Yury M., Ph.D. in Biology Science

Искандаров Марат Идрисович, д. в. н., гл. научн. сотр. сектора хронических инфекций

Iskandarov Marat I., Doctor of Veterinary Science, Chief Researcher of the Dept. of Chronic Infections

Аннотация. В статье изложены результаты изучения критерия, характеризующегося зависимостью между размером воспалительной реакции в месте внутрикожного введения микобактерий *M. bovis* BCG и размером воспалительной реакции в месте введения ППД туберкулина, значение которого выше на морских свинках, полученных близкородственным скрещиванием. Использование критерия позволяет формировать группы морских свинок для последующего использования в тестах гиперчувствительности замедленного типа.

Summary. *The article presents the results of studying the criterion characterized by the dependence between the size of inflammatory reaction in the place of intradermal injection of mycobacterium M. bovis BCG and the size of inflammatory reaction in the place of injection of PPD the value of which is higher in guinea pigs that have undergone closely related crossing. The use of the criterion allows to form groups of guinea pigs for subsequent use in delayed hypersensitivity tests.*

Введение

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ), развивающаяся в организме животных на введение микобактерий *M. bovis* и выявляемая в кожном тесте с ППД туберкулином, называется туберкулиновой [5]. Туберкулиновая ГЗТ лежит в основе ряда тестов, используемых при оценке иммуногенности разных доз вакцин против туберкулеза [8]; определении биологической активности ППД туберкулинов [1]; оценке свойства фармакологических препаратов подавлять туберкулиновую реакцию [2]. В свою очередь, при моделировании туберкулиновой ГЗТ преимущественно используются морские свинки, сгруппированные по критериям: пола, массы, возраста [1, 8], конвенциональности [3].

В ходе клинических наблюдений в гуманной медицине был разработан критерий, исполь-

зуемый во фтизиатрии, но не учитываемый при исследовании на животных – размер воспалительной реакции в месте внутрикожного введения микобактерий *M. bovis* BCG, характеризующийся положительной зависимостью с размером воспалительной реакции в месте введения ППД туберкулина [4]. Зависимость, выявленная в клинических исследованиях, предполагает наличие подобной корреляции и у морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis*, что может быть использовано как критерий при формировании групп морских свинок, используемых в тестах туберкулиновой гиперчувствительности замедленного типа. Принимая во внимание вышеизложенное, целью исследования была разработка критерия формирования групп морских свинок, используемых в тестах туберкулиновой гиперчувствительности замедленного типа.

Материалы и методы

В исследовании использовали самок морских свинок, альбиносов, полученных инбредным (брат × сестра) и рандомбредным способами массой 500–550 г, содержащихся на стандартном гранулированном корме со свободным доступом к воде.

В работе был использован туберкулин очищенный ППД для млекопитающих (производство ФГУП «Курская биофабрика») с содержанием 10000 МЕ/см³ (PPD-bovine). Разведения ППД туберкулина осуществляли на фосфатном буфере (рН 7,0).

В исследовании использован штамм микобактерий *M. bovis* VCG-1 (ФГУП «НПО «Микроген»), из которого приготавливали суспензию на фосфатном буфере для последующей внутрикожной сенсибилизации животных.

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили при помощи программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007 и методами вариационной статистики [6].

Результаты исследований

Исследование включало три этапа. При реализации первого этапа было проведено моделирование туберкулиновой ГЗТ с определением корреляционной зависимости между размером воспалительной реакции в месте внутрикожного введения разведений ППД туберкулина и воспалительной реакции в месте внутрикожного введения *M. bovis* у самок морских свинок, полученных близкородственным скрещиванием. Для чего была сформирована группа животных (n = 25), которым внутрикожно вводили микобактерии *M. bovis* в дозе 0,2 мг/0,1 см³. Спустя

месяц после сенсибилизации (период развития состояния туберкулиновой ГЗТ) всем животным в предварительно депилированный участок, с правой боковой поверхности, вводили ППД туберкулин в дозах: 25, 5, 1 МЕ. Через 24 часа после введения разведений ППД туберкулина был осуществлен учет реакций путем измерения продольного и поперечного размера воспалительных зон на введение разведений ППД туберкулина и воспалительного процесса в месте введения микобактерий *M. bovis*. После этого определена корреляционная зависимость между воспалительной реакцией в месте введения разведений ППД туберкулина и размером воспалительной реакции в месте введения *M. bovis*, а также между суммарным значением ГЗТ на дозы ППД туберкулина и размером воспалительной реакции в месте введения микобактерий *M. bovis*. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Результаты корреляционного анализа продемонстрировали, что зависимость между аллергической реакцией на дозы 25, 5, 1 МЕ и размером воспалительной реакции в месте введения *M. bovis* выше среднего. Максимальное значение коэффициента корреляции было выявлено между суммарным значением аллергической реакции на введение ППД туберкулина и размером воспалительной реакции в месте введения *M. bovis*. В свою очередь, значение зависимости, полученное между суммой аллергической реакции на введение ППД туберкулина и размером воспалительной реакции на введение *M. bovis*, может быть использовано для построения математической модели позволяющей прогнозировать значение аллергической реакции на введение ППД туберкулина по раз-

Таблица 1.

Определение корреляции между кожной аллергической реакцией ГЗТ на введение ППД туберкулина и воспалительной реакцией на введение *M. Bovis*

Показатели	Дозы ППД туберкулина			Сумма аллергической реакции ГЗТ на введение ППД туберкулина (мм)	Размер воспалительной реакции на введение <i>M. bovis</i> (мм)
	25МЕ	5МЕ	1МЕ		
r	0,55*	0,56*	0,63*	0,85*	-

Примечание: * – результат достоверен при $p < 0,05$.

меру воспалительной реакции на введение *M. bovis*, что составило второй этап исследования.

При реализации второго этапа исследования была использована техника построения вариационного ряда предполагающего распределение значений суммы аллергической реакции на введение разведений ППД для млекопитающих и воспалительной реакцией на введение *M. bovis*, по интервалам. Данный подход применим для формирования групп(-ы) морских свинок по размеру воспалительной реакции на месте введения *M. bovis*. Результаты расчетов представлены в таблице 2.

В результате проведенных расчетов было получено пять интервалов с различным распределением частоты: максимальным,

соответствующим номеру 3, и минимальным, соответствующим номерам 1 и 5, соответственно. Применение результатов расчетов, представленных в таблице 2, предполагают группирование животных по размеру воспалительной реакции в месте введения *M. bovis*, входящий в соответствующий интервал в зависимости от количества, необходимого для проведения исследований. Определение общего количества животных, необходимое для получения группы, осуществляется согласно формулы

$$N = n / f, \text{ где:}$$

N – количество животных, взятое для сенсibilизации;

n – общее количество животных, используемое для проведения исследования;

f – частота интервала (табличное значение).

Таблица 2.

Интервалы воспалительной реакции на внутрикожное введение *M. bovis* и ППД туберкулина

Номер интервала	Интервалы суммы аллергической реакции на введение ППД туберкулина (мм)	Интервалы воспалительной реакции на введение <i>M. bovis</i> (мм)	Частота интервала (f)
1	38,0–39,5	10,0–10,5	0,1
2	40,0–42,5	11,0–12,5	0,2
3	43,0–45,5	13,0–13,5	0,4
4	46,0–48,5	14,0–15,5	0,2
5	49,0–50,5	16,0–16,5	0,1

Таблица 3.

Вариация туберкулиновых реакций в группах морских свинок, сформированных стандартным способом и по размеру воспалительной реакции на введение *M. Bovis*

Группа сформированная стандартным способом (I), n = 12				
Дозы ППД	25 ME	5 ME	1 ME	Сумма аллергической реакции на введение ППД туберкулина
$M \pm m$	18 \pm 0,60	14,83 \pm 0,49	11,58 \pm 0,57	44,42 \pm 1,56
V	11,61	11,44	16,95	12
Группа сформированная по размеру воспалительной реакции на введение <i>M. bovis</i> (II), n = 12				
Дозы ППД	25 ME	5 ME	1 ME	Сумма аллергической реакции на введение ППД туберкулина
$M \pm m$	17,46 \pm 0,42	15,29 \pm 0,30	11,63 \pm 0,31	44,38 \pm 0,32
V	8,41	6,75	9,19	2,5

Так, например, для получения группы морских свинок в количестве 12 (n) среднего значения интервала № 3 (10,5–11,5 мм), сформированных по критерию воспалительной реакции в месте введения *M. bovis*, требуется сенсибилизировать 30 голов (N).

Третьим этапом исследования была проверка расчетной модели. При реализации данного этапа исследования использовали 42 головы морских свинок, подобранных по массе, полу, возрасту, из числа которых 12 животных были получены без использования инбридинга, а 30 получены в результате инбридинга. Все животные были внутрикожно сенсибилизированы *M. bovis* и через месяц использованы для проведения исследований.

Перед проведением исследований из числа животных второй группы были отобраны 12 голов интервала № 3 по размеру воспалительной реакции на месте введения *M. bovis*. После этого у животных двух групп морских свинок с боковой поверхности удаляли шерсть на площади размером 30 × 50 мм и вводили разведения ППД туберкулина в дозах: 25, 5, 1 МЕ. Через 24 часа были определены средние размеры реакций на введение ППД туберкулина и рассчитаны среднее арифметическое, ошибка среднего арифметического и вариация. Сравнение полученных результатов осуществлялось по коэффициенту вариации. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Из полученных данных видно, что коэффициент вариации на дозы 25, 5 и 1 МЕ ППД туберкулина является слабым ($V < 10\%$) и ниже в группе животных, сформированных по размеру воспалительной реакции, в месте введения *M. bovis*, в сравнении с группой животных, сформированных стандартным подходом, где варьирование соответствует среднему уровню ($V = 11–25\%$).

Обсуждение результатов

Исследованиями, проведенными у детей, вакцинированных *M. bovis* BCG против туберкулеза, была продемонстрирована зависимость между воспалительной реакцией на введение вакцины (поствакцинальный рубчик) с кожной реакцией ГЗТ на введение

ППД туберкулина [4]. Данная зависимость приобрела широкое клиническое распространение, так как позволяет оценить предрасположенность к туберкулезу, которая, в свою очередь, обусловлена генетически [5]. Предрасположенность к туберкулезу у лабораторных животных (морских свинок), как было показано, также детерминировано генетически и значительно варьирует в пределах различных линий [3]. Так, например, животные с генотипом а, е^p, s линия 2 относительно резистентны к туберкулезу, напротив, животные с генотипом а, е^p, s линия 13 являются более чувствительными к туберкулезу [3]. Различная линейная восприимчивость морских свинок к микобактериям туберкулеза учитывается при проведении различных исследований зарубежными специалистами [9, 10]. В то же время в Российской Федерации использование линейных морских свинок и выведение разных линий для проведения исследований в области ветеринарной фтизиатрии ограничено отдельными экспериментами. Учитывая широкое использование морских свинок для моделирования ГЗТ, выведение линий для решения конкретных задач, например, таких как использования в тестах туберкулиновой ГЗТ, является актуальным.

Предварительные исследования по определению зависимости между аллергической реакцией на введение ППД туберкулина и воспалительной реакцией на введение *M. bovis* рандомбредным морским свинкам продемонстрировало среднюю корреляционную зависимость $r = 0,4$ при $p < 0,05$ [7]. Принимая во внимание наличие положительной корреляционной зависимости и литературные данные относительно различной чувствительности линий морских свинок к туберкулезной инфекции [3], были предприняты попытки путем инбридинга получить совокупность животных, характеризующихся более высоким коэффициентом корреляции между аллергической реакцией на введение ППД туберкулина и воспалительной реакцией на введение *M. bovis*. В свою очередь, чем выше показатель корреляции, тем более прогнозируемая получится модель [6]. После получения достаточного количества животных методом близкородственного скрещивания

была сформирована группа в количестве 25 голов, подобранных по полу, массе и возрасту.

Проведение на данных животных последующих исследований выявило закономерность: коэффициент корреляции на дозы 25, 5, 1 МЕ ниже, чем на суммарное значение реакции на месте введения ППД туберкулина. Полученные результаты предполагают: при проведении исследований с использованием нескольких доз ППД туберкулина учитывать суммарное значение реакции.

Практическое использование полученных данных предполагает разработку подхода формирования групп(-ы) морских свинок с помощью статистических методов. Среди методов статистики, наиболее подходящих для решения данной задачи, является техника построения вариационных рядов, позволяющая рассчитать классовые интервалы, включающие весь диапазон размеров воспалительных реакций в месте введения микобактерий *M. bovis* у морских свинок. В результате расчетов было получено пять интервалов с различной частотой встречаемости (f) значений, входящих в заданный интервал, характеризующий отношение количества особей с размером воспалительной реакции на месте введения *M. bovis* данного интервала к общему числу животных.

Практическая проверка полученной модели осуществлялась по вариации, представляющей собой среднеквадратическое отклонение, выраженное в процентах от величины средней арифметической, которая характеризует воспроизводимость метода [6]. Оценка разработанной модели осуществлялась на группе животных, полученных как без использования инбридинга, где не предполагалась подборка по размеру воспалительного процесса на месте введения *M. bovis*, а также животных, полученных методом близкородственного скрещивания, где предполагалась подборка по размеру воспалительного процесса на месте введения *M. bovis*. Полученные результаты продемонстрировали меньшую вариацию в группе животных, полученных близкородственным скрещиванием в сравнении с контрольной группой животных.

Выявленная зависимость применима при оценке иммуногенности разных доз вакцин против туберкулеза, определении биологической активности ППД туберкулинов, оценке свойства фармакологических препаратов подавлять туберкулиновую реакцию в зависимости от объема проводимых исследований. Так, например, при проведении единичных сравнительных исследований целесообразно использование небольшого количества животных центрального номера интервала 3, обеспечивающего частоту интервала, равную 0,4. В свою очередь, при проведении масштабных сравнительных исследований целесообразным является сенсбилизация не менее 100 голов животных, что обеспечит получение в группах количества животных от 10 и более и все номера интервалов.

Выводы

1. Использование морских свинок, полученных близкородственным скрещиванием брат \times сестра позволяет получать животных, характеризующихся большей корреляционной зависимостью между аллергической реакцией в месте введения ППД туберкулина и воспалительной реакцией в месте введения *M. bovis* в сравнении с рандомбредными животными.

2. При исследованиях, сопряженных с моделированием туберкулиновой гиперчувствительности замедленного типа, наиболее целесообразным является использование групп морских свинок, полученных близкородственным скрещиванием и сгруппированных по размеру воспалительной реакции в месте введения *M. bovis*.

Список литературы

1. ГОСТ 16739-88. Туберкулин сухой очищенный (ППД) для млекопитающих. – М. : Изд-во стандартов. – 21 с.
2. Дейл, М. М. Руководство по иммунофармакологии / М. М. Дейл, Дж. К. Формен. – М. : Медицина, 1998. – 332 с.
3. Каркищенко, Н. Н. Основы биомоделирования / Н. Н. Каркищенко. – М. : Межакадемическое издательство ВПК, 2004. – 607 с.
4. Клименко, Л. И. Оценка качества вакцинации БЦЖ по развитию поствакцинального знака / Л. И. Клименко, Т. С. Полякова, И. Ю. Бучковская // Запорожский мед. журн. – 2012. – № 1 (70). – С. 86–88.

5. Кошечкин, В. А. Туберкулез / В. А. Кошечкин, З. А. Иванова – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 302 с.
6. Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – С. 50–51.
7. Мясоедов, Ю. М. Изучение корреляционных зависимостей между критериями оценки субклинической формы туберкулезного процесса / Ю. М. Мясоедов, С. В. Морозов // Материалы Межд. научно-практ. конф. посвященной 125-летию ветеринарии Курской области «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» 22–23.05.2008 г. – Курск. – С. 270–274.
8. Яблокова, Т. Б. Экспериментальное изучение препарата вакцины БЦЖ-М с уменьшенной анти-

генной нагрузкой / Т. Б. Яблокова, Н. Н. Писаренко, Д. Т. Леви и др. // Проблемы туберкулеза. – 1985. – № 6. – С. 52–55.

9. Kawahara, M. Intradermal and oral immunization with recombinant Mycobacterium bovis BCG expressing the simian immunodeficiency virus Gag protein induces long-lasting, antigen-specific, immune responses in guinea pigs/ M. Kawahara, K. Matsuo, M. Honda // Clin. Immunol. – 2006. – Apr. 119 (1). – P. 67–68.

10. Zhi, W. HBASAC-BCG combined vaccine for intracutaneous injection and preparation method and thereof : Patent # US 7,579,003 B2, Aug. 25, 2009.

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 19 500 руб.

**Заказать УМИ-05 можно по тел./факсу: (812) 927-55-92;
по e-mail: virclin@mail.ru. Подробности на сайте: www.invetbio.spb.ru**



УДК 591.1:612.829.34

Ключевые слова: тест «открытое поле», тест «вынужденное плавание», крысы линии WAG/Rij

Key words: open field test, compelled swimming test, rats of the WAG/Rij line

Садртдинова И. И., Хисматуллина З. Р.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ЛИНИИ WAG/RIJ С УЧЕТОМ ПОЛОВОГО ФАКТОРА

INVESTIGATION OF THE BEHAVIOR OF WAG/RIJ RATS CONSIDERING THE SEX FACTOR

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет» (БашГУ)

Адрес: 450076, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

The Bashkir State University

Address: 450076, Russia, the Republic of Bashkortostan, Ufa, Zaki Validi str., 32

Садртдинова Индира Илдаровна, аспирант / *Sadrtidinova Indira I., Postgraduate*

Хисматуллина Зухра Рашидовна, д. б. н., проф., зав. кафедрой физиологии человека и зоологии
Khismatullina Zukhra R., Doctor of Biology Science, Head of the Dept. of Human Physiology and Zoology

Аннотация. В данной работе приведены результаты сравнительного анализа поведенческих особенностей у крыс линии WAG/Rij в тестах «открытое поле» и «вынужденное плавание» с учетом полового фактора. В ходе эксперимента в тесте «открытое поле» мы наблюдали тревожную реакцию животных, которая проявлялась в том, что крысы обоего пола предпочитали двигаться по темным периферическим квадратам поля, нежели по центру. Самки крыс линии WAG/Rij показали большую двигательную активность и исследовательскую деятельность, чем самцы этой линии. В тесте вынужденного плавания по Порсолту самки крыс линии WAG/Rij проявляли симптомы депрессивноподобного поведения, что подтверждается повышенной иммобильностью и низким показателем общего времени плавания по сравнению с самцами. Анализируя количественные измерения компонентов поведения крыс линии WAG/Rij, нами выявлены достоверные различия в обоих поведенческих тестах.

Summary. In this work the results of the comparative analysis of behavioural features of the WAG/Rij line rats are given in the open field and the compelled swimming tests taking into account the sex factor. During the experiment in the open field test we observed disturbing reaction of animals as rats of both sex preferred to move rather on the dark peripheral squares of the field than in the center. Female rats of the WAG/Rij line showed greater physical and research activity than the males of this line. In the compelled swimming test by Porsolt the female rats of the WAG/Rij line demonstrated symptoms of depressive behavior which is confirmed by the increased immovability and the low indicator of the general time of swimming in comparison with the males. Analyzing the quantitative measurements of components of behavior of the WAG/Rij line rats we have revealed reliable distinctions in both behavioural tests.

Введение

В современной медицине и биологии одной из наиболее актуально изучаемых вопросов является проблема стресса, следствием которого является депрессия. Депрессивное расстройство – это психическое заболевание, которое значительно снижает качество жизни больных и их трудоспособность, требует больших экономических затрат на лечение, уход и восстановление. Более 15 % населения планеты переносит хотя бы один депрессивный эпизод в течение жизни [13]. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, к 2020 году депрессия выйдет на первое место среди заболеваний в мире, обогнав сегодняшних лидеров – инфекционные и сердечно-сосудистые заболевания. Исходя из вышесказанного, исследование де-

прессивных состояний является актуальным и имеет большое практическое значение.

Из клинической практики известно, что эпилепсии часто сопутствуют аффективные нарушения, среди которых депрессивные расстройства являются одними из наиболее частых.

Были получены данные, свидетельствующие о тревожности крыс линии WAG/Rij, которые являются генетической моделью absence – эпилепсии [9] и представляют собой экспериментальную модель депрессии [7].

Целью настоящей работы стало выявление половых особенностей поведенческой активности крыс линии WAG/Rij в тесте «открытое поле» и в тесте «вынужденное плавание» по Порсолту.

Тест «открытое поле» был впервые предложен К. Холлом в 30-е годы прошлого столетия [12] для изучения роли новизны в возникновении тревоги. Согласно классическим представлениям этот тест позволяет исследовать у крыс ориентировочную реакцию и эмоциональную реактивность в новых условиях среды [8]. Как правило, ориентировочно-исследовательская реакция крыс оценивается по горизонтальной и вертикальной двигательной активности [10]. В то время как эмоциональный статус животного оценивают по числу болюсов, уринаций, груминговой активности, времени выхода из центра и времени замирания [2].

Поведенческий тест «вынужденное плавание» впервые был предложен Р. Порсолтом в 1977 году [14]. Суть метода заключается в том, что крысы, вынужденные плавать в замкнутом пространстве без возможности выхода из стресс-ситуации, отказываются от активных действий, принимают позу «зависания», достаточную только для удержания головы на поверхности воды – стадия иммобилизации. Продолжительный отказ от активного плавания (иммобилизация, «поведение отчаяния» по R. Porsolt) является показателем депрессивного состояния, развивающейся в ситуации невозможности избежать опасности [5].

Материалы и методы

Эксперименты проведены на крысах линии WAG/Rij, м. т. 215–230 г ($n = 24$). Животные содержались в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20–22 °С) и уровнем влажности, с 12-часовым искусственным освещением (с 8:00 до 20:00). В течение всего эксперимента животные имели свободный доступ к корму и питьевой воде (за исключением времени измерения физиологических параметров). Содержание животных и эксперименты проводились согласно международным нормам и правилам работы с позвоночными животными (Страсбург, 1999).

С целью уменьшения анксиогенного влияния вспомогательных процедур эксперимента, таких как хэндлинг, посадка в пере-

носный ящик, транспортировка из вивария в экспериментальную комнату и обратно, животных адаптировали к ним в течение 5 дней до начала поведенческих исследований [9].

Тест «открытое поле». Круглое открытое поле представляло собой освещенную арену 1,5 м в диаметре с высотой стенок 0,8 м, дно которой было разделено на центральную и периферическую зоны. Животное помещалось в центр арены, т. е. в новое открытое пространство, выбраться из которого ему мешает огораживающая арену стенка, хвостом к экспериментатору. В течение 15 минут фиксировались следующие параметры: число пересеченных квадратов (передними и задними лапами) и количество вертикальных стоек в центральной зоне и на периферии поля, эпизоды груминга («чесательный рефлекс») и их продолжительность, латентный период, количество уринации и дефекаций (количество фекальных болюсов).

Эксперимент проводился в одно и то же время дня с 15:00 до 19:00 в затемненной комнате без постороннего шума и других раздражителей в течение 5 дней с помощью веб-камеры Logitech C 310 HD с автоматическим переносом видеозаписи на компьютер. После тестирования крысу помещали обратно в клетку, поле тщательно обрабатывалось спиртовым раствором и промывалось водой перед помещением следующей крысы. Количественные измерения компонентов поведения животных подвергались статистическому анализу.

Следующим этапом стало проведение теста «вынужденное плавание». Опыты проводились с 10:00 до 15:00. Животных помещали в цилиндрический сосуд (высота 70 см, внутренний диаметр 38 см), заполненный водой на высоту 33 см: в данных условиях крыса не может ни выбраться, ни найти опору в нем. Температуру воды поддерживали на уровне 25 ± 2 °С. Поведение регистрировали в течение 5 минут с помощью веб-камеры Logitech C 310 HD с автоматическим переносом видеозаписи на компьютер. Отмечали основные тестируемые параметры: длительность первого эпизода активного плавания (сек.) (энергичные гребковые движения все-

ми конечностями), количество фекальных болюсов, количество актов груминга, количество выпрыгиваний, суммарное время иммобилизации (сек.), общее время плавания (сек.).

Кроме того, вычисляли индекс депрессивности (ИД), определяемый отношением числа самых коротких периодов иммобилизации длительностью до 6 секунд к общему числу периодов активного плавания [1]. Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни, используя компьютерную программу «Statistica 5.0». Достоверными признавались различия при $p < 0,01$.

Результаты и обсуждение

Результаты тестирования крыс по регистрации поведения в тесте «открытое поле» представлены в таблице 1. Результаты проведенного исследования демонстрируют

различную динамику изменений поведения крыс линии WAG/Rij. По общей горизонтальной активности самки крыс наиболее подвижны, чем самцы: $266,83 \pm 9,86$ против $227,50 \pm 5,08$ ($p < 0,01$).

Показателем исследовательской деятельности является количество вертикальных стоек. За стойку принимали положение животного, когда оно отрывало передние лапы от пола и оставалось лишь на задних лапах. При этом животное вытягивало шею, часто поворачивая голову, и приноживалось. По общему количеству вертикальных стоек (а также в центре и по периферии) самки совершали почти в 2 раза больше стоек, чем самцы ($p < 0,01$).

При регистрации груминга (чесательная форма движений) учитывали частоту актов груминга животных и его продолжительность. Количество эпизодов груминга у самок равно $2,50 \pm 0,22$, у самцов – $6,67 \pm 0,33$.

Таблица 1.
Сравнительный анализ поведенческих показателей у самок и самцов крыс линии WAG/Rij в тесте «открытое поле» ($M \pm m$)

Поведенческие показатели		Самки	Самцы	t-критерий Стьюдента, p
Двигательная активность	В центре	48,17±2,73	42,17±2,01	p > 0,05
	По периферии	218,67±8,70	185,33±3,31	p < 0,01
	Общая	266,83±9,86	227,50±5,08	p < 0,01
Латентный период		51,17±2,89	51,00±1,26	p > 0,05
Количество вертикальных стоек	В центре	12,50±1,34	5,17±0,60	p < 0,01
	По периферии	55,00±2,52	29,33±1,38	p < 0,01
	общая	67,50±3,25	34,50±1,78	p < 0,01
Количество эпизодов груминга		2,50±0,22	6,67±0,33	p < 0,01
Длительность груминга, сек		9,50±0,22	29,83±1,17	p < 0,01

Таблица 2.
Сравнительный анализ поведенческих показателей у самок и самцов крыс линии WAG/Rij в тесте «вынужденное плавание» ($M \pm m$)

Поведенческие показатели	Пол животных		t-критерий Стьюдента, p
	Самки	Самцы	
Длительность иммобилизации	255,67±3,06	156,50±2,32	p < 0,01
Длительность 1-го эпизода активного плавания	5,83±0,48	10,83±1,14	p < 0,01
Общее время плавания	44,33±3,06	143,50±2,32	p < 0,01
Количество болюсов	5,50±0,43	2,17±0,31	p < 0,01
Количество актов груминга	4,33±0,61	0	p < 0,01
Количество выпрыгиваний	20,67±1,71	50,00±2,19	p < 0,01

У самцов они продолжительнее, чем у самок: $29,83 \pm 1,17$ против $9,50 \pm 0,22$. Реакция груминга в эмоциогенных ситуациях является смешанной реакцией, отражающей наличие эмоциогенного напряжения [2]. Акты дефекации во время регистрации поведенческих параметров не наблюдали. По продолжительности латентного периода между самками и самцами достоверных различий обнаружено не было.

Результаты эксперимента, полученные в тесте «вынужденное плавание», систематизированы в таблице 2.

Известно, чем больше время иммобильности, меньше общее время плавания и меньше длительность первого эпизода активного плавания, тем выше уровень депрессивности, и наоборот.

Сопоставление результатов опыта в тесте «вынужденное плавание» показало достоверные различия в поведенческих параметрах у самок и самцов. Самки крыс линии WAG/Rij в отличие от самцов проявляют более отчетливые признаки депрессивноподобного состояния: длительность иммобилизации выше в 1,6 раза, длительность 1-го эпизода активного плавания ниже в 1,9 раз и общее время плавания ниже в 3, 2 раза, причиной чему могут быть нейробиологические особенности.

У самок количество актов груминга составило $4,33 \pm 0,61$, тогда как у самцов его мы не наблюдали. Количество фекальных болюсов у самок было значительно выше в 2,5 раз, чем у самцов, что дополнительно указывает на тревожность животных.

Такие поведенческие параметры, как груминг и дефекация, характеризуют эмоциональность животных. Помимо прямой биологической функции, груминг часто встречается у грызунов как важный элемент поведения в естественных условиях, представляя собой своеобразный ритуал с определенной последовательностью поведенческих паттернов [3]. Известно, что именно у грызунов груминг специфически активизируется при действии стресса и поэтому считается одним из его поведенческих маркеров [11].

Динамика эмоционально-мотивационных нарушений у самцов и самок была различна,

что, по-видимому, обусловлено влиянием половых гормонов.

У самцов достоверно выше было количество выпрыгиваний, то есть попыток освобождения от воды: $50,00 \pm 2,19$ против $20,67 \pm 1,71$. Высокий показатель свидетельствует о низком уровне депрессии у животных.

Индекс депрессивности у самок достоверно выше, чем у самцов: $2,19 \pm 0,08$ против $0,40 \pm 0,06$ ($p < 0,01$).

Заключение

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что самки крыс линии WAG/Rij в тесте «открытое поле» показали большую двигательную активность и исследовательскую деятельность и подтверждают данные, полученные ранее [6]. При этом следует отметить, что и самки, и самцы предпочитают двигаться по периферии поля и редко посещают центр, что позволяет предполагать, что всем крысам линии WAG/Rij независимо от пола присуща тревожность. Активность самцов и самок крыс на периферии «открытого поля» достигала 81,7 %, а в центре – только 18,3 % от общего числа двигательных проявлений. Тот факт, что среди самок преобладают особи с высокой поведенческой активностью, объясняется тем, что большая исследовательская активность самок дает им преимущество в борьбе за выживание, воспитание детенышей и сохранения вида в целом [4].

Сравнение данных в тесте «вынужденного плавания», полученных на крысах обоего пола, демонстрируют повышенный уровень депрессивности у самок, чем у самцов, на что указывают выраженные различия в поведенческих показателях. Эти различия в поведении крыс линии WAG/Rij являются своеобразным показателем фенотипических особенностей нервной системы и подтверждают данные о влиянии фактора пола на поведение.

Список литературы

1. Батурин, В. А. Ритмическая организация принудительного плавания и ее связь с особенностями поведения крыс / В. А. Батурин, Г. И. Манжикова // Журн. высшей нерв. деят. – 1988. – Т. 37. – Вып. 2. – С. 293–297.

2. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. – М. : Высш. школа, 1991. – 268 с.

3. Калуев, А. В. Проблемы и методы изучения гурминга при анализе стрессорного поведения у грызунов / Центр физиолого-биохимических проблем. – Киев, Украина. URL: <http://nature.web.ru/db/msg.html>.

4. Кассиль, В. Г. Половой диморфизм в паттернах условнорефлекторной вкусовой аверзии и ориентировочно-исследовательского и пассивно-оборонительного поведения / В. Г. Кассиль, М. Ю. Бондаренко // Журн. высшей нерв. деят. – 1996. – Т. 46, № 1. – С. 63–71.

5. Козловская, М. М. Влияние гептапептида селанка на депрессию поведения высоко- и низкотрещивных мышей BALB/c и C57BL/6 и крыс с наследуемой депрессивностью поведения WAG/Rij / М. М. Козловская, К. Ю. Саркисова, И. И. Козловский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5. – Вып. 3. – С. 989–996.

6. Леушкина, Н. Ф. Исследование влияния фактора пола на поведение крыс с модификацией аллельной структуры гена рецептора дофамина второго типа (DRD2) / Н. Ф. Леушкина, А. В. Ахмадеев, Л. Б. Калимуллина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – № 4. – 2009. – С. 14–17.

7. Малышев, А. В. Реверсивное обучение у крыс линии WAG/Rij с депрессивноподобным поведением / А. В. Малышев, А. М. Захаров, К. Ю. Саркисова,

В. А. Дубынин // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2012. – № 5. – С. 580–590.

8. Подковкин, В. Г. Изменение показателей метаболизма коллагена у крыс с различным эмоциональным статусом при остром стрессе / В. Г. Подковкин, Д. Г. Иванов // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 11. – С. 17–21.

9. Саркисова, К. Ю. Тревожны ли крысы линии WAG/Rij с генетической absence-эпилепсией / К. Ю. Саркисова, М. А. Куликов, А. Б. Шацкова // Журнал Высшей нервной деятельности. – 2005. – Т. 55. – № 2. – С. 253–261.

10. Шаляпина, В. Г. Роль кортикотропин-релизинг гормона в нарушениях поведения после неизбежного стресса у активных и пассивных крыс / В. Г. Шаляпина, В. В. Ракицкая, Е. И. Петрова // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2005. – Т. 55. – № 2. – С. 241–246.

11. Celis, M. E. Measurement of Grooming Behaviour / M. E. Celis, E. Torre // In: Methods in Neurosciences, Ed Conn A., San Diego, New York: Academic Press, 1993. – P. 359–378.

12. Hall, C. S. // J.Comp. Psychol, 1934. – V. 22. – P. 345–352.

13. Horgan, D. Combination antidepressants – use by GPs and psychiatrists / D. Horgan, S. Dodd // Australian Family Physician. – 2011. – V. 40 (6). – P. 397–400.

14. Porsolt, R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R. D. Porsolt, M. Le Pichon, M. Jalfre // Nature. – 1977. – Vol. 266. – N 21. – P. 730–732.

реклама

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



5,9 кг

Переносные приборы с возможностями стационарных
Легкие (от 2,5 кг), компактные с автономным питанием. Кейс

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

Конвексные, линейные, полостные мультисекторные датчики высокой плотности. Рабочие частоты от 2,5 до 10 МГц. Секторные датчики анулярные двухчастотные



3,7 кг



130225

Планшетные приборы в брызгозащитном исполнении. Сенсорный экран. Ручка для переноски. Наплечный ремень

Организованы курсы ветеринарные УЗИ

НПП “РАТЕКС”

С 1991 года 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@rateks.com <http://rateks.com>

УДК 616.98:579.852.133:619

Ключевые слова: лечение, корова, отел, злокачественный отек

Key words: therapy, cow, parturition, malignant oedema

Кудряшов А. А., Никитин В. В., Беляева Е. В.

ЛЕЧЕНИЕ КОРОВЫ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ОТЕКА THE TREATMENT OF A COW WITH CLINICAL SIGNS OF MALIGNANT OEDEMA

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5. Тел. (812) 388-13-78

Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5. Tel. +7 812 388-13-78

Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., проф., зав. кафедрой патологической анатомии
Kudryashov Anatoliy A. – Doctor of Vet. Sci., Professor, Head of the Dept. of Pathologic Anatomy

Никитин Владимир Вячеславович, студенческое научное общество

Nikitin Vladimir V., Member of the Student Scientific Society

Беляева Екатерина Валерьевна, студенческое научное общество

Belyaeva Ekaterina V., Member of the Student Scientific Society

Аннотация. Описан случай послеродового заболевания и лечения коровы с клиническими признаками злокачественного отека. При лечении были использованы антибиотики в высоких дозах: пенициллин внутривенно, сакрально и в виде циркулярной блокады, бициллин-3 внутримышечно, а также внутривагинально мазь с левомеколом и трициллином. Инфекционный процесс удалось купировать, корова выздоровела, однако остались рубцы на вульве, анусе и коже молочной железы.

Summary. The case of puerperal disease and treatment of a cow with clinical signs of malignant oedema is described. In the course of the treatment high doses of the following antibiotics were used: penicillin by intravenous, sacral administration and as local circular block, bicillinum-3 intramuscularly and ointment containing levomycol and tricillinum intravaginally. The infectious process was successfully stopped. However, scars on vulva, anus and skin of mammary gland remained.

Введение

Послеродовый злокачественный отек коров sporadически встречается в животноводческих хозяйствах Ленинградской области в 1980–1990 годы [1, 2]. Эта болезнь часто заканчивается летально, несмотря на предписываемое лечение больных животных.

Летом 2013 года в одном из хозяйств Ленинградской области мы наблюдали послеродовое заболевание коровы с клинико-анатомическим проявлением злокачественного отека. Провести бактериологическое исследование не представилось возможным; было решено исключить рассечение тканей для взятия пробы, чтобы не занести возбудителя во внешнюю среду. В отличие от описываемых в литературе разрезов отеочной ткани при лечении животных со злокачественным отеком [3] нами были применены антибиотики и симптоматические средства.

Собственные исследования

Нетель с инвентарным номером 2778 (2011 года рождения) отелилась 14 июля

2013 г. Отел проходил тяжело, с разрывами слизистой оболочки родовых путей. Первые клинические признаки заболевания наблюдались 16 июля. Корова не встала на дачу сена, появились изменения в области половых губ, ануса, бедер: цианоз, отечность, уплотнение кожи, кровянистые выделения из вульвы (рис. 1–3). При пальпации тканей в отеочной области ощущалась крепитация. Температура тела поднялась до 40,5 °С. Постепенно отечность перешла на область промежности и молочного зеркала. Общее состояние оставалось тяжелым: глаза впалые, отсутствовал аппетит и жвачка, корова не реагировала на внешние раздражители, но часто вставала.

Проведено лечение:

1. Внутривенно: глюкоза 40 % – 200 мл; раствор Рингера-Локка – 400 мл; пенициллин – 3 г, разведенный раствором натрия хлорида 0,9 % – 10 мл, 2 раза в день, утром и вечером, 3 дня.

2. Циркулярная блокада: пенициллин – 2 г, разведенный раствором новокаина 0,25 % – 50 мл, 1 раз в день, 3 дня.

3. Сакрально (между остистыми отростками 1-го и 2-го хвостовых позвонков): пенициллин – 2 г, разведенный раствором новокаина 0,25 % – 30 мл, однократно.

4. Внутримышечно: бициллин-3 – 6 г, разведенный раствором новокаина 0,25 % – 10 мл, 1 раз в день, 3 инъекции через день.

5. Во влагалище: ватный тампон с левомеколевой мазью и с порошком трициллина, 1 раз в день, 3 дня.

В течение дня (16.07) состояние коровы не изменилось. Имели место большая зона поражения и общее неудовлетворительное состояние.

В следующие сутки (17.07) ночью корова встала на дачу сена, появилась жвачка. Отек пораженной области немного спал, кожа приобрела темно-серый цвет, что указывало на начало некроза. Температура тела в течение дня не превысила 39,3 °С. Общее состояние немного улучшилось.

Проведено лечение согласно назначению.

18.07: состояние прежнее, отмечалась вялость и апатия. Температура тела утром – 38,6 °С, вечером – 38,2 °С. Аппетит плохой, корова съела небольшую часть дневной нормы. Кожа в области ануса, половых губ и задней поверхности вымени – плотная. Половые губы грязно-серого и серовато-зеленого цвета. Из влагалища выделялась бурая, густая масса со зловонным запахом. Наблюдалась демаркационная зона – четко видны границы пораженной области (рис. 4). При пальпации крепитация почти не ощущалась.

Лечение – согласно назначению. Добавили подкожно раствор кофеина бензоата натрия 5 мл.

В течение 19.07–28.07 общее состояние постепенно улучшалось, появились хороший аппетит, жвачка. Корова начала давать молоко, хотя и немного – около 4 литров в день, стала реагировать на людей, других коров. Температура тела – в пределах нормы.

Наблюдался некроз тканей пораженной области: ануса, половых губ, области промежности, задней поверхности вымени – причем строго по демаркационной линии. Началось отторжение некротизированной ткани (струпа), сначала в области вымени, а затем на вульве (рис. 5, 6).

29.07: из-за мутиляции некротизированной кожи и подкожной клетчатки лежащая под ними грануляционная ткань (рис. 7) стала соприкасаться с внешней средой. Возникла необходимость обрабатывать открытые участки антисептиками, что и было сделано (рис. 8). Общее состояние коровы удовлетворительное.

Лечение:

1. Наружная обработка открытых участков 3%-м раствором перекиси водорода.

2. Нанесение на пораженные участки левомеколевой мази и порошка трициллина.

30.07 и далее: отторгнувшаяся некротизированная ткань на вымени стала свисать в виде «кармана», куда попадали подстилка, навоз. Отторгнувшаяся ткань удалена хирургическим путем (рис. 9–12). После этого открылась грануляционная ткань (рис. 13). Ее обрабатывали 3%-м раствором перекиси водорода, тетрациклином (спреем), наблюдая постепенное заживление (рис. 14).

Корова вскоре выздоровела. Кожа в месте воспаления и некроза на большей части поверхности полностью регенерировала, на небольших участках образовались рубцы.

Обсуждение результатов исследования

Необходимо отметить стадийность болезни, что свойственно злокачественному отеку. Сначала были поражены родовые пути, далее процесс перешел на промежность и вымя; пораженные ткани подверглись некрозу, а затем начали отторгаться.

Полагаем, что на выздоровление повлияли своевременная адекватная антибиотикотерапия и высокий иммунитет у молодой коровы. На достаточно высокий уровень иммунитета указывают и четкие границы между здоровыми и пораженными участками – демаркационное воспаление. По этим границам и произошла мутиляция некротизированных участков (мутиляцию в данном случае можно считать благоприятным исходом некроза). Таким образом, наряду с антибиотиками, организм животного «отделил» возбудителей и не дал им перейти на здоровые участки тела.

С экономической точки зрения проведенное лечение может оказаться малоэффективным, если корова будет непригодной для вос-



Рис. 1. Отек тканей в области вульвы, ануса, бедер.



Рис. 2. Кровянистые выделения из вульвы.



Рис. 3. Цианоз кожи в области отека.



Рис. 4. Четко видна демаркационная линия.



Рис. 5. Отторжение некротизированной ткани на вымени.



Рис. 6. Отторжение некротизированной ткани в области вульвы.



Рис. 7. Грануляционная ткань под струпом.



Рис. 8. Орошение ткани антисептиком.



Рис. 9. Удаление струпа, этап 1.



Рис. 10. Удаление струпа, этап 2.



Рис. 11. Удаление струпа, этап 3.



Рис. 12. Удаление струпа, этап 4.



Рис. 13. Дефект кожи, выполненный грануляционной тканью.



Рис. 14. Постепенное заживление дефекта.

производства, в силу возможных остаточных анатомических изменений в родовых путях.

С другой стороны, путем выбранного лечения удалось избежать заражения окружающей среды возбудителями болезни и спасти животное.

Заключение

1. При послеродовом злокачественном отеке у коровы не было проведено стандартное лечение, а именно первичное хирургическое вмешательство.

2. Медикаментозное лечение дало положительный результат. На выздоровление,

очевидно, повлияли как антибиотикотерапия, так и высокий иммунитет молодой коровы.

Список литературы

1. Кудряшов, А. А. Патоморфологические изменения у коров при злокачественном отеке / А. А. Кудряшов, Д. Н. Аршаница // Сборник научных трудов СПбВИ. – СПб, 1993. – № 120. – С. 48–52.

2. Кудряшов, А. А. Причины падежа крупного рогатого скота (анализ секционных данных) : материалы конференции, посвященной 190-летию высшего ветеринарного образования в России. Ч. 1 / А. А. Кудряшов, Л. Р. Алексеева, А. В. Павлова. – СПб., 1998. – С. 108–109.

3. Справочник ветеринарного фельдшера ; сост. Г. А. Кононов. – СПб. : Лань, 2007. – 896 с.

ANALLERGENIC

реклама



ИСКЛЮЧАЮЩАЯ ДИЕТА ПЕРВОГО ВЫБОРА

КРУГЛОСУТОЧНАЯ ГОРЯЧАЯ ЛИНИЯ: **8-800-200-37-35**
(для всех регионов России звонок бесплатный)

26–29 НОЯБРЯ
2014 ГОДА



ufi
Approved
Event

XXIII МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА ТОВАРОВ И УСЛУГ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ ЗООСФЕРА

*Крупнейшая выставка в России и Восточной Европе
250 участников из 21 страны, более 15 000 посетителей*

НЕ ПРОСПАТЬ БЫ
ВЫСТАВКУ...
ТАМ БУДЕТ МНОГО
НОВИНОК!

Deo

- Ветеринарная конференция
- Международный конкурс грумеров
- Галерея новинок
- Съезд владельцев клубов и питомников



www.zoosphere.expoforum.ru

0+


EXPOFORUM

Место проведения:
Конгрессно-выставочный центр «ЭКСПОФОРУМ»
Россия, Санкт-Петербург, пос. Шушары
Пулковское отделение, 44 лит. А, павильоны 1, 2
+7 812 240 40 40, доб. 230, 257, 258
s.hansen@expoforum.ru



В ритме моря

IX СОЧИНСКИЙ 11-13 ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФЕСТИВАЛЬ сентября

реклама



РЕГИСТРАЦИЯ
ОТКРЫТА!

Дорогие друзья, приглашаем вас посетить IX Сочинский Ветеринарный Фестиваль!

В меню Фестиваля – большая порция аппетитных знаний от поваров ветеринарного искусства, горячительный аперитив в виде развлекательной программы и бесподобный банкет от шеф-поваров Фестиваля!

ГДЕ

г. Сочи, санаторий «Южное Взморье» (www.uvzmorie.ru) – один из лучших санаториев черноморского побережья!

ЧТО В ПРОГРАММЕ

Два лекционных дня, финал конкурса «История болезни», море, развлечения, банкет, морская вечеринка! **Новинка:** в первый день Фестиваля вас ждут практические мастер-классы по самым актуальным темам ветеринарии.

Тематика лекций: дерматология, эндокринология, нефрология, стоматология, кардиология, инфекционные заболевания, анестезиология, гастроэнтерология.

По итогам Фестиваля выдается **сертификат**, который идет в зачет часов Программы последипломного образования ветеринарных специалистов.

СКОЛЬКО СТОИТ

Участие в Фестивале – **бесплатное!**

На проживание и питание **предусмотрены спеццены** для гостей Фестиваля:

2880 руб./сутки за проживание в двухместном номере с трехразовым питанием (вместо 5050 руб.)!

Ждем вас в Сочи!

Посетите сайт Фестиваля: www.vetseminar.ru/sochi

Страница мероприятия ВКонтакте: www.vk.com/sochi_vf

Партнеры:



ФАРМАСОФТ
ветеринарные препараты

Globalvet*
group



MSD
Animal Health

PURINA

Официальные спонсоры:



АлекеАнн

Api-San
Профессиональная ветеринария

Генеральный информационный спонсор:

Современная ветеринарная медицина

Спонсоры:

PharmBioMed
Новое поколение качества

BET MARKET

ABV
здоровые животные

Биопром-Центр
торговый дом

ГАЛА-ВЕТ
интернет-магазин для животных

Информационные спонсоры:



ANIMAL-ID.RU
Единая национальная база идентифицированных животных

ZOO WEB.RU

Ветеринарная клиника **ветеринарный ДОКТОР**

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ

ZOO MED BET

ЗООАФИША
МОСКВА

Организатор:



GLOBALVENTUM

Россия, 111399, Москва,
Федеративный пр-т, д. 9, корп. 2
+7 495 989-43-70

info@vetseminar.ru
www.vetseminar.ru/sochi

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 электронной почте: 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. Кроме того, материалы для публикации можно передать в редакцию по адресу: С.-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б. Тел. (812) 232-55-92. Факс (812) 232-88-61.

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 изображения с разрешением менее 300 dpi и размером менее 945 px 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 подготовки журнала к верстке символы, полученные с использованием нетипичных шрифтов (α , β , γ и пр.), а также некоторые специальные символы форматирования (\bullet , \rightarrow , \Rightarrow , ...) могут неверно интерпретироваться.

При изложении материала следует придерживаться стандартного построения научной статьи:

1. Введение.
2. Материалы и методы.
3. Результаты исследований.
4. Обсуждение результатов.
5. 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 соответ-

ствовать 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. 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 5) 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 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 подачи 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 член-корреспондентами 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. Ораниенбаумская, д. 3-Б) или по e-mail (virclin@mail.ru): направьте бланк заказа (в произвольной форме, с точным почтовым адресом получателя с индексом и контактным телефоном для уточнения информации) и копию документа об оплате. Журнал подписчикам будет доставляться заказной бандеролью.

Стоимость подписки на 2014 г. (четыре номера): для юридических и физических лиц – 1600 руб., для подписчиков из ближнего зарубежья – 1800 руб.

Юридические лица для получения счета на оплату подписки и других необходимых

документов могут обращаться по телефонам: (812) 232-55-92, 927-55-92 или по e-mail: virclin@mail.ru к главному бухгалтеру.

Физические лица могут оплатить стоимость подписки:

- в любом банке (для получения образца заполненной квитанции обращайтесь по e-mail: virclin@mail.ru);
- через платежную систему Яндекс-деньги: счет для оплаты 41001182195695 (в сообщении следует указать «Подписка на «АВВБ-2014», Ф.И.О. и почтовый адрес).

Полная информация о подписке на журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» – на сайте http://www.invetbio.spb.ru/journal/vb_podpiska.htm.

ПРИБРЕТЕНИЕ ЖУРНАЛА «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»

Вы можете заказать любой из предыдущих номеров журнала по тел.: (812) 927-55-92, или по e-mail: virclin@mail.ru, и мы вышлем Вам его наложенным платежом. Стоимость 1 экз. журнала выпуска до 2013 года – 200 руб., 2013 года – 400 руб., 2014 года – 500 руб. (без учета почтовых расходов).

АРТРОГЛИКАН (ARTROGLYCAN)

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

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

Фармакологическое действие

Артрогликан обладает хондропротекторным, умеренно анальгезирующим, противовоспалительным действиями, антиоксидантной активностью; укрепляет стенки капилляров.

Препарат стимулирует процессы регенерации и замедляет дегенерацию хрящевой ткани; способствует восстановлению суставной сумки и хрящевых поверхностей суставов; улучшает подвижность суставов; участвует в построении основного вещества костной и хрящевой ткани. Артрогликан участвует в синтезе протеогликанов и гиалуроновой кислоты, стимулирует образование хондроитинсерной кислоты, нормализует отложение кальция в костной ткани.

Препарат препятствует развитию дегенеративно-дистрофических изменений в сердечной мышце и скелетной мускулатуре; обладает гепатопротекторными свойствами.

Артрогликан восполняет дефицит витамина Е, кальция и селена.

Показания

Дегенеративные заболевания суставов и позвоночника, первичный артроз, межпозвоночный остеохондроз, остеоартрит, остеоартроз, спондилез, остеопороз, дисплазия суставов. Для улучшения качества жизни собак, кошек, крыс и хорьков старшей возрастной группы. Дополнительная информация: www.invetbio.spb.ru/farma/artroglycan.htm

Заказ Артрогликана

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;

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;

у производителя (от одной банки/пачки): ООО «Биоцентр «ЧИН», т. + 7 921 350-92-53;

e-mail: investbio@mail.ru

