

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»

МИКРОБИОЛОГИЯ

Дармов И. В., Маракулин И. В., Погорельский И. П., Позологина Н. В.
Выделение и сравнительная характеристика штаммов лактобацилл – представителей нормальной кишечной микрофлоры поросят 3

ВИРУСОЛОГИЯ

Гусева М. Н., Кузнецова Е. Г., Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Шевченко М. А.
Метаболизм глюкозы при культивировании вируса ящера в суспензии клеток ВНК-21/2-17 11

Шустова М. А., Ханиюкова Е. Ю., Пяткина А. А.
Изучение способов дезагрегации клеточного монослоя, инфицированного вирусом герпеса индек 17

ЭМБРИОЛОГИЯ

Беляков А. А., Каниева Н. А., Грушко М. П., Федорова Н. Н.
Формирование жизненно важных органов шемаи (*Chalcalburnus chalcoides*) в первую неделю после выклева 21

ГИСТОЛОГИЯ

Ван Бэнь, Донкова Н. В.
Гистологические и гистохимические особенности печени овец при инвазиях 25

Володина В. В.
Анализ гистологического строения некоторых органов пищеварительного тракта каспийского тюленя (*Phoca Caspica Gmelin, 1788*) в плодный период 30

Сулейманов С. М., Павленко О. Б., Сапожкова О. А., Слободяник В. С., Грачева О. И.
Структура органов пищеварения и эндокринных желез при желудочно-кишечной патологии у новорожденных телят 35

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

Дандал А. Ш., Кулаков В. Ю., Сухарев В. Ю., Макаров В. В.
Патогенез инфекционного бронхита кур. Сообщение 2. Диссеминация вируса в организме цыплят по результатам ПЦР 41

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

Чумасов Е. И., Белова Л. М., Петрова Е. С.
Случай обнаружения микрофилярий в сердце обезьяны (*Macaca mulatta*) 46

ФАРМАКОЛОГИЯ

Павленко О. Б.
Влияние пробиотиков на молозиво и клиническое состояние новорожденных телят при терапии мастита у коров 51

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ

Кудряшов А. А., Балабанова В. И.
Структура причин смерти кошек за 3,5 года (2012-2015) по секционным данным 54

ИНФОРМАЦИЯ 60

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 11.06.2015. Дата выхода: 20.06.2015. 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, 2015

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

MICROBIOLOGY

Darmov I. V., Marakulin I. V., Pogorelsky I. P., Pozolotina N. V.
Isolation and Comparative Characteristics of Lactobacillus Strains Representatives
of the Normal Intestinal Flora of Pigs 3

VIROLOGY

Guseva M. N., Kuznetsova Ye. G., Lozovoy D. A., Mikhailishin D. V., Shevchenko M. A.
Glucose Metabolism in the Process of Foot and Mouth Disease (FMD) Virus Cultivation
in BHK-21/2-17 Cell Suspension 11

Shustova M. A., Khanyukova E. Ju., Pyatkina A. A.
Study of Methods for Desaggregation of Cell Monolayer Inoculated with Turkey Herpesvirus 17

EMBRYOLOGY

Belyakov A. A., Kanieva N. A., Grushko M. P., Fedorova N. N.
The Formation of Vital Organs of Shemaya (*Chalcalburnus Chalcoides*) During the First Week
After Hatching 21

HISTOLOGY

Wang Ben, Donkova N. V.
Histological and Histochemical Characteristics of Liver of Infested Sheep 25

Volodina V. V.
The Analysis of the Histological Structure of Some Organs of the Digestive Tract of the Caspian Seal
(*Phoca Caspica Gmelin, 1788*) in the Fetal Period 30

Suleymanov S. M., Pavlenko O. B., Sapozhkova O. A., Slobodyanik V. S., Gracheva O. I.
The Structure of Digestive Organs and Endocrine Glands in Newborn Calves with Gastrointestinal
Pathology 35

EPIZOOTOLOGY

Dandal A. Sh., Kulakov V. Ju., Sukharev O. I., Makarov V. V.
The Infectious Bronchitis Pathogenesis. Part 2. The Investigation by PCR of Virus Dissemination
in Chickens 41

PARASITOLOGY

Chumasov E. I., Belova L. M., Petrova E. S.
The Case of Microfilariae Finding in the Heart of Monkey (*Macaca Mulatta*) 46

PHARMACOLOGY

Pavlenko O. B.
The Effect of Probiotics on Colostrum and Clinical Condition of the Newborn Calves
in the Treatment of Mastitis in Cows 51

PATHOLOGICAL ANATOMY

Kudryashov A. A., Balabanova V. I.
Structure of the Causes of Death of Cats Within the Period of 3.5 Years (2012-2015)
According to Sectional Data 54

INFORMATION 60

Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumskaya st., 3-Б. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru
Signed for press on 11.06.2015. Issue date: 20.06.2015. 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, 2015

УДК 579.6

Ключевые слова: лактобациллы, нормофлора, антагонистическая активность, пробиотик, поросята
Key words: lactobacillus, normal flora, antagonistic activity, probiotic, pigs

Дармов И. В., Маракулин И. В., Погорельский И. П., Позолотина Н. В.

ВЫДЕЛЕНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ
ЛАКТОБАЦИЛЛ – ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ НОРМАЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ
МИКРОФЛОРЫ ПОРОСЯТ
ISOLATION AND COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF LACTOBACILLUS
STRAINS REPRESENTATIVES OF THE NORMAL INTESTINAL FLORA OF PIGS

ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет»
Адрес: 610000, Россия, г. Киров, Московская ул., 36
Vyatka State University
Address: 610000, Russia, Kirov, Moskovskaya str., 36

Дармов Илья Владимирович, д. м. н., проф., член-корр. РАЕН, зав. каф. микробиологии
Darmov Ilya V., Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member
of the Academy of Natural Sciences, Head of the Dept. of Microbiology
Маракулин Игорь Вадимович, д. м. н., проф. каф. микробиологии
Marakulin Igor V., Doctor of Medicine, Professor of the Dept. of Microbiology
Погорельский Иван Петрович, д. м. н., проф., член-корр. РАЕН, зав. каф. микробиологии
Pogorelsky Ivan P., Doctor of Medicine, Professor, Corresponding Member
of the Academy of Natural Sciences, Professor of the Dept. of Microbiology
Позолотина Надежда Владимировна, аспирант / Pozolotina Nadezhda V., Postgraduate

Аннотация. В статье представлены результаты изучения биохимических, антагонистических, адгезивных свойств штаммов лактобацилл, выделенных из кишечного содержимого здоровых молочных поросят. Показана пригодность выделенных штаммов лактобацилл для создания нового пробиотического препарата для лечения и профилактики дисбактериоза у поросят в доотъемный и отъемный периоды.

Summary. The publication presents the results of the study of biochemical, antagonistic, adhesive properties of lactobacillus strains isolated from the intestinal contents of healthy weaned piglets. The suitability of the selected lactobacillus strains in creation of new probiotic preparations for the treatment and prevention of dysbiosis in piglets during pre-weaning and weaning periods is shown.

Введение

Среди болезней сельскохозяйственных животных желудочно-кишечные инфекции занимают одно из лидирующих мест.

Для лечения и профилактики кишечных инфекций у молодняка свиней используются различные антимикробные препараты. Однако при неконтролируемом использовании антибиотиков возникают лекарственно-устойчивые штаммы патогенных микроорганизмов, представляющие еще большую опасность. Возможно возникновение дисбиотических состояний, которые без соответствующего лечения также могут привести к гибели животных.

Возможной альтернативой антибиотикотерапии являются пробиотики.

Известны и экспериментально подтверждены данные о том, что для профилактики

и лечения дисбактериоза молодняка свиней лучше использовать пробиотические штаммы лактобацилл, выделенные из организма здоровых поросят [6]. Это связано с тем, что выживаемость гомопробиотических лактобактерий в желудочно-кишечном тракте значительно выше, чем чужеродных, так как они более адаптированы к условиям существования по спектру вырабатываемых ферментов и структуре адгезивных рецепторов, обеспечивающих их длительную персистенцию в кишечнике. Поэтому использование биопрепаратов, основу которых составляют гомопробиотические лактобактерии, является эффективным для лечения и профилактики кишечных инфекций и дисбиозов [4].

В настоящее время перечень отечественных ветеринарных пробиотических препаратов ограничен, импортные биопрепараты

сельскохозяйственного назначения имеют высокую стоимость, а наиболее часто применяемые в ветеринарии пробиотики обладают невысокой эффективностью, так как обычно содержат чужеродные пробиотические микроорганизмы, выделенные от людей, из кисломолочных продуктов или из окружающей среды.

В связи с этим актуальным является поиск новых гомопробиотических штаммов лактобацилл, обладающих высокой антагонистической и адгезивной активностями и перспективных для создания эффективных биопрепаратов для лечения и профилактики дисбактериозов у поросят.

Материалы и методы

В экспериментах использовали 5 изолятов микроорганизмов, выделенных при высеве на питательную среду MRS [3] из кишечного содержимого здоровых поросят-отъемышей. Посевы инкубировали в анаэробе при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$.

Ферментативную активность исследуемых культур лактобацилл оценивали с использованием коммерческого набора реагентов фирмы HiCarbo. Инкубирование инокулированных стрипов биохимической тест-системы осуществляли при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 суток. В качестве контроля использовали штамм *Lactobacillus plantarum* из коллекции ФГБОУ ВПО «ВятГУ».

Исследование способности культур выделенных изолятов расти в микроаэрофильных условиях проводили в газовой смеси следующего состава: CO_2 – 20 %, N_2 – 75 %, O_2 – 5 %. Для этого агаровые культуры штаммов лактобацилл высевали в концентрации 10^3 – 10^4 кл/мл на чашки с плотной питательной средой MRS. Посевы инкубировали при температурах $(15\pm 1)^\circ\text{C}$, $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ и $(45\pm 1)^\circ\text{C}$.

Оценку влияния исходной концентрации водородных ионов в питательной среде на способность лактобацилл к накоплению биомассы осуществляли в жидких и на плотных питательных средах MRS. Для этого суспензии суточных агаровых культур в концентрации $(4\text{--}4,5) \cdot 10^{10}$ кл/мл в объеме 0,1 мл вносили во флаконы с жидкой питательной средой MRS и на плотную питательную сре-

ду MRS с pH 5,0; 6,3; 8,0. По окончании инкубации культуру с поверхности питательного агара смывали физиологическим раствором хлористого натрия. Концентрацию микробов в полученной суспензии и в питательном бульоне определяли спектрофотометрическим методом.

Оценку адгезивных свойств лактобактерий осуществляли фотоколориметрическим экспресс-методом [3] и методом В. И. Брилиса [1]. Субстратом для адгезии лактобацилл служили эритроциты человека 0 (I) Rh+ группы крови и эритроциты свиньи. Лактобациллы выращивали в течение 24 часов на плотной питательной среде MRS при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Выросшие культуры отмывали в физиологическом растворе хлорида натрия и готовили суспензии с оптической плотностью, равной 1,0. В пробирки вносили по 1 мл взвеси трижды отмывтых эритроцитов с концентрацией 10^{12} кл/л и 2,5 мл суспензии исследуемых культур лактобактерий. Для приготовления суспензии микроорганизмов и эритроцитов использовали фосфатно-буферный раствор (pH 7,2–7,3). Контролем служили пробы, содержащие 2,5 мл суспензии микробных клеток и 1 мл фосфатно-буферного раствора (контрольная проба № 1); 1 мл суспензии эритроцитов и 2,5 мл фосфатно-буферного раствора (контрольная проба № 2). Опытные и контрольные пробы инкубировали при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 30 минут. Для осаждения эритроцитов пробы центрифугировали при 1000 об./мин. в течение 2 минут, затем отбирали надосадочную жидкость в объеме 2 мл и измеряли ее оптическую плотность. В каждой серии опытов выполняли по пять независимых определений.

Использовали следующие критерии оценки выраженности адгезивных свойств у лактобактерий в отношении человеческих и свиных эритроцитов: при показателе адгезии более 40 % – высокий уровень адгезивной активности, при показателе адгезии от 15 до 40 % – средний уровень адгезивной активности, при показателе адгезии от 5 до 15 % – низкий уровень адгезивной активности, при показателе адгезии менее 5 % степень адгезии бактерий считалась нулевой.

При определении адгезивных свойств лактобактерий по методу В. И. Брилиса [1] использовали приготовленную на фосфатно-буферном растворе взвесь эритроцитов с концентрацией 10^8 кл/мл. На предметное стекло наносили 0,02–0,03 мл буферного раствора, в котором суспендировали равный объем взвеси эритроцитов и суспензии лактобактерий.

Предметное стекло с эритроцитами и лактобациллами помещали во влажную камеру (экзикатор) на 30 мин. при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$, затем препарат высушивали при этой же температуре, фиксировали в пламени горелки и окрашивали фуксином Пфейффера в течение 2 минут.

Оценку адгезивных свойств исследуемых культур лактобактерий проводили под световым микроскопом путем определения среднего показателя адгезии, который равен среднему количеству лактобацилл, прикрепившихся к одному эритроциту.

Критерии оценки адгезивных свойств микроорганизмов по методу В. И. Брилиса были следующие: высокая степень адгезии – 4,01 и более бактерий, средняя степень адгезии – от 2,01 до 4,0 бактерий, низкая степень адгезии – от 1,01 до 2,0 бактерий, нулевая степень адгезии – 0–1,0 бактерия на поверхности одного эритроцита.

Оценку антагонистической активности штаммов осуществляли в условиях *in vitro* с помощью двухслойной методики по Фридрику. В качестве тест-штаммов был использован набор культур разных видов энтеробактерий, выделенных из кишечного содержимого поросят-отъемышей, отстающих в росте. Культуры лактобактерий выращивали на плотной питательной среде MRS в течение 24 часов при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в микроаэрофильных условиях. В качестве контроля использовали культуру штамма *E. coli* C 600, который является универсальным индикаторным штаммом и используется для оценки антагонистических свойств разных видов микроорганизмов.

Для выявления способности к кислотообразованию флаконы с 25 мл жидкой питательной среды MRS засеивали культурами лактобацилл и инкубировали при

температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 48 часов. По окончании инкубации определяли кислотообразующую активность лактобактерий титрометрическим методом Тернера. Каждую пробу культуральной жидкости объемом 10,0 см³ титровали 0,1 М раствором NaOH. При этом показатель pH раствора NaOH контролировали потенциометрически, значение его должно составлять $(8,5\pm 0,1)$ ед.

Результаты исследований

Для исследований были отобраны 5 изолятов молочнокислых бактерий, обозначенные №№ 13, 40, 41, 44 и 48. Все они представляют собой неподвижные грамположительные палочки. Отдельные бактерии изолятов №№ 40, 41 и 44 анилиновые красители воспринимают неоднородно, поэтому обнаруживаются метакроматическая зернистость и биполярные тельца. При выращивании на плотных питательных средах на вторые сутки культивирования при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в микроаэрофильных условиях исследуемые изоляты бацилл на плотной питательной среде MRS формируют колонии различной формы. Бактерии изолята № 13 формируют колонии диаметром 1–2 мм, непрозрачные, белого цвета, блестящие, круглые по форме с выпуклой бугристой поверхностью. Край колонии неровный. Колонии изолятов №№ 40, 41 и 44 непрозрачные, круглые, грязно-белого цвета. Поверхность колоний гладкая, матовая, края четкие и ровные. Большинство колоний выпуклые, некоторые имеют утолщения по краям в виде валика. Диаметр колоний 2–3 мм. Бактерии изолята № 48 формируют колонии диаметром 2–4 мм, непрозрачные, бежевого цвета. Форма колонии круглая, края четкие, но неровные. Поверхность колонии гладкая, матовая. Центр колонии конусовидный, плавно переходит в уплощенную периферическую часть. Все выделенные изоляты по отношению к кислороду являются микроаэрофилами. Спор и капсул не образуют, жгутиков не имеют.

Данные по ферментативной активности выделенных нами культур лактобацилл, оцениваемой с помощью коммерческой биохимической тест-системы HiCarbo, представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Ферментативная активность изолятов молочнокислых бактерий

Наименование субстрата	Способность изолята № ... ферментировать субстрат					
	<i>L. plantarum</i> (контроль)	13	40	41	44	48
Лактоза	+	-	+	+	+	-
Ксилоза	±	-	+	-	-	-
Мальтоза	+	-	+	+	+	+
Фруктоза	±	+	+	+	+	-
Декстроза	+	+	+	+	-	-
Галактоза	+	-	+	+	-	+
Раффиноза	-	-	+	+	-	-
Трегалоза	-	±	+	+	+	-
Мелибиоза	-	-	+	+	+	+
Сахароза	-	-	+	+	+	+
L-арабиноза	+	-	+	-	-	-
Манноза	+	+	+	+	+	-
Инулин	+	+	+	+	-	-
Глюконат натрия	+	-	-	-	-	-
Глицерол	-	-	-	-	-	-
Салицин	+	-	-	-	-	-
Дульцит	-	-	-	-	-	-
Инозитол	-	-	+	-	-	-
Сорбитол	-	-	+	-	-	-
Маннитол	-	-	+	-	-	-
Адонитол	-	-	+	-	-	-
Арабитол	-	-	+	-	-	-
Эритрит	-	-	+	-	-	-
α-метил-D-глюкоза	+	-	+	+	-	-
Рамноза	+	-	-	-	-	-
Целлобиоза	+	-	-	-	-	-
Мелецитоза	±	-	-	-	-	-
Метил-D-маннозид	-	-	-	-	-	-
Ксилитол	-	-	-	-	-	-
Орто-нитропенил-β-галактозид (ONPG)	-	-	-	+	-	-
Эскулин	+	+	-	-	-	-
D-арабиноза	-	-	-	-	-	-
Цитрат	-	-	-	-	-	-
Малонат	-	-	-	-	-	-
Сорбоза	-	-	-	-	-	-

Примечание: «+» – бактерии ферментируют субстрат; «-» – бактерии не ферментируют субстрат; «±» – способность ферментировать субстрат в течение срока наблюдения (3 суток) переменна.

Одним из показателей, который используется при видовой идентификации лактобацилл, является их способность расти при температурах (15±1) °C и (45±1) °C.

Результаты исследования способности выделенных культур лактобацилл расти на плотной питательной среде MRS в микроаэрофильных условиях при разных темпе-

ратурах инкубирования представлены в таблице 2.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, изоляты №№ 40, 41, 44, 48 после 48 часов инкубирования характеризуются отсутствием роста при температуре (15±1) °C и наличием роста при температуре (45±1) °C. Контрольный штамм и изолят № 13 формируют нежный рост на вторые сутки инкубирования при температуре (15±1) °C. При температуре (45±1) °C бактерии изолята № 13 образовывали колонии на вторые сутки выращивания, а контрольного штамма – только на четвертые сутки.

По совокупности результатов изучения культурально-морфологических, тинкториальных, биохимических и генетических свойств была определена видовая принадлежность изолятов микроорганизмов: № 13 – *Lactobacillus*

paracasei (далее – *L. paracasei* 13), №№ 40, 41 и 44 – *Lactobacillus salivarius* (далее – *L. salivarius* 40, *L. salivarius* 41 и *L. salivarius* 44), и № 48 – *Lactobacillus reuteri* (далее *L. reuteri* 48).

В таблице 3 представлены результаты исследования способности выделенных штаммов лактобацилл к накоплению биомассы при различных показателях кислотности среды.

На следующем этапе исследований были изучены факторы специфической активности лактобацилл: способность к адгезии, антагонистическая активность в отношении разных видов энтеробактерий и уровень кислотообразования при выращивании в жидкой питательной среде.

Адгезивные свойства лактобактерий в отношении эритроцитов человека и свиньи

Таблица 2.

Способность изолятов лактобацилл к росту на плотной питательной среде MRS при температурах (15±1) °C и (45±1) °C

Время культивирования, ч	Наличие роста изолята номер ... при температуре ...											
	<i>L. plantarum</i> (контроль)	13		40		41		44		48		
		Температура культивирования, °C										
	15	45	15	45	15	45	15	45	15	45	15	45
24	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+
48	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+
72	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
96	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
120	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
144	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+

Примечание: «+» – наличие роста, «-» – отсутствие роста.

Таблица 3.

Способность штаммов лактобацилл к накоплению биомассы при различных значениях pH жидкой питательной среды MRS (n = 3, x±I₉₅)

Штамм	Оптическая плотность суспензии лактобактерий (OD540) при pH среды выращивания ..., ед.		
	5,0	6,3	8,0
<i>L. paracasei</i> 13	0,71±0,07	0,96 ± 0,05	0,93 ± 0,06
<i>L. salivarius</i> 40	1,11±0,09	1,13±0,05	1,12±0,08
<i>L. salivarius</i> 41	1,13 ± 0,06	1,16 ± 0,06	1,14 ± 0,07
<i>L. salivarius</i> 44	1,08 ± 0,08	1,04 ± 0,09	1,07 ± 0,08
<i>L. reuteri</i> 48	0,91 ± 0,05	0,85 ± 0,05	0,84 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> (контроль)	0,93 ± 0,06	1,08 ± 0,05	1,21 ± 0,07

оценивали по формуле:

$$ПА = \frac{D_{k1} + D_{k2} - D_{оп}}{D_{k1}} \cdot 100 \%$$

где ПА – показатель адгезии, D_{k1} – оптическая плотность надосадочной жидкости в 1-й контрольной пробе, D_{k2} – оптическая плотность надосадочной жидкости во 2-й контрольной пробе, $D_{оп}$ – оптическая плотность надосадочной жидкости в опытной пробе. Средние значения полученных результатов представлены в таблице 4.

В таблице 5 представлены результаты исследований адгезивных свойств изучаемых штаммов по методу В. И. Брилиса.

Результаты исследования антагонистической активности лактобацилл в отношении разных видов энтеробактерий представлены в таблице 6.

Известно, что антагонистические свойства лактобацилл в значительной мере обусловлены кислотообразующей активностью. В связи с этим представлялось целесообраз-

ным изучить это свойство у лактобактерий исследуемых штаммов по методике Тернера (табл. 7).

Расчеты производили по формуле:

$$T_0 = a \cdot K \cdot 100,$$

где a – объем 0,1 М раствора NaOH, пошедший на титрование, мл; K – поправка к титру NaOH; T_0 – градус Тернера, условная величина, выраженная в количестве щелочи, использованной при титровании 1,0 мл исследуемой суспензии.

Обсуждение результатов

Для видовой идентификации лактобактерий были изучены морфологические и биохимические характеристики. Известно, что лактобациллы характеризуются вариабельностью свойств, которые могут быть закодированы на плазидах. Поэтому для более точной идентификации был использован генетический метод, который позволяет дифференцировать фенотипически похожие

Таблица 4.

Адгезивные свойства лактобацилл в отношении эритроцитов человека и эритроцитов свиньи, определенные с помощью фотоколориметрического метода (n = 3, $x \pm I_{95}$)

Штамм	Показатель адгезии в отношении эритроцитов ..., процент	
	человека	свиньи
<i>L. paracasei 13</i>	56,48±7,63	50,79±3,44
<i>L. salivarius 40</i>	2,13±0,35	34,62±16,71
<i>L. salivarius 41</i>	6,01±0,87	22,96±2,42
<i>L. salivarius 44</i>	45,80±5,21	23,02±3,44
<i>L. reuteri 48</i>	20,67±1,53	15,71±4,89
<i>L. plantarum</i> (контроль)	56,42±7,54	10,06±1,03

Таблица 5.

Адгезивные свойства лактобактерий в отношении эритроцитов человека и эритроцитов свиньи, определенные по методу В. И. Брилиса (n = 3, $x \pm I_{95}$)

Штамм	Показатель адгезии в отношении эритроцитов ...	
	человека	свиньи
<i>L. paracasei 13</i>	4,70±0,64	5,41 ± 1,31
<i>L. salivarius 40</i>	1,69 ± 0,45	2,91 ± 1,12
<i>L. salivarius 41</i>	1,77±0,44	2,14 ± 0,32
<i>L. salivarius 44</i>	3,54±0,53	2,25 ± 0,51
<i>L. reuteri 48</i>	2,07±0,71	1,85 ± 0,30
<i>L. plantarum</i> (контроль)	5,10±1,20	0,84 ± 0,21

Таблица 6.

Антагонистическая активность лактобацилл в отношении разных видов энтеробактерий (n = 3, $x \pm I_{95}$)

Вид энтеробактерий	Величина зоны задержки роста энтеробактерий разных видов культурой исследуемого штамма лактобацилл ..., мм					
	<i>L. plantarum</i> (контроль)	<i>L. paracasei 13</i>	<i>L. salivarius 40</i>	<i>L. salivarius 41</i>	<i>L. salivarius 44</i>	<i>L. reuteri 48</i>
<i>Escherichia coli</i>	15,3±2,6	42,3±5,2	44,3±6,1	28,7±5,4	29,7±5,2	24,1±7,7
<i>Serratia odorifera</i>	42,7±6,3	70,3±8,6	33,7±5,9	34,3±6,8	35,3±4,2	28,7±6,8
<i>Proteus mirabilis</i>	31,5±9,1	81,3±12,8	54,3±7,7	48,5±9,0	33,1±7,1	33,8±5,9
<i>Salmonella pilorum</i>	41,1±5,8	75,7±7,7	33,5±9,1	30,5±5,7	31,5±8,5	26,5±7,5
<i>Proteus vulgaris</i>	42,3±9,5	88,1±8,2	35,4±9,8	61,8±8,6	58,4±7,9	49,5±5,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32,5±6,7	40,1±5,5	41,8±8,2	33,4±7,1	35,3±8,5	32,7±6,9
<i>E. coli C600</i> (контроль)	38,2±14,1	49,5±11,8	25,5±12,1	30,7±4,8	34,7±17,1	36,1±13,5

Таблица 7.

Характеристика кислотообразующих свойств штаммов лактобацилл (n = 3, $x \pm I_{95}$)

Штамм	Показатель предельного кислотообразования, градус Тернера
<i>L. paracasei 13</i>	340,8±6,3
<i>L. salivarius 40</i>	382,7±5,2
<i>L. salivarius 41</i>	327,8±7,8
<i>L. salivarius 44</i>	338,4±7,7
<i>L. reuteri 48</i>	240,6±4,8
<i>L. plantarum</i> (контроль)	185,6±8,7

виды. Результаты видовой идентификации данных штаммов лактобацилл были подтверждены в лаборатории Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ГосНИИГенетики (г. Москва) путем изучения последовательностей генов 16S рРНК методом ПЦР.

Известно, что от содержания водородных ионов в питательной среде, на которой выращивают лактобактерии разных видов, существенно зависит выход их биомассы. Анализ представленных в таблице 3 результатов показал, что по оптической плотности бактериальные суспензии *L. salivarius 40*, *L. salivarius 41*, *L. salivarius 44*, и *L. reuteri 48*, выращенные в питательных средах с разными

значениями pH, достоверно не отличались друг от друга; для культур *L. paracasei 13* и контрольного штамма *L. plantarum* оптимальными для роста являются питательные среды со значением pH 6,3 и 8,0.

Адгезивная активность лактобактерий является одним из важных критериев при оценке перспективности использования штаммов в составе пробиотических препаратов, поскольку она непосредственно влияет на длительность персистенции лактобактерий в кишечнике. Анализ данных адгезивных свойств лактобацилл в отношении эритроцитов человека и эритроцитов свиньи, определенных с помощью фотоколориметрического метода, представленный в таблице 4,

свидетельствует о том, что бактерии штамма *L. plantarum* обладают высокой адгезивной активностью в отношении эритроцитов человека и низкой – в отношении эритроцитов свиньи. Бактерии штаммов *L. salivarius 40* и *L. salivarius 41* имеют низкую адгезивную активность в отношении эритроцитов человека и средний уровень показателя адгезии к эритроцитам свиньи. Бактерии штамма *L. paracasei 13* проявляют выраженную адгезивную активность как по отношению эритроцитам человека, так и по отношению к эритроцитам свиньи.

Результаты исследований адгезивных свойств изучаемых штаммов по методу В. И. Брилиса, представленные в таблице 5, полностью согласуются с данными, полученными при определении адгезивных свойств лактобактерий фотоколориметрическим способом.

Одним из важных критериев при оценке перспективности использования штаммов микроорганизмов для создания на их основе нового пробиотика является способность бактерий подавлять рост и размножение условно патогенных энтеробактерий. Тест-штаммы энтеропатогенных бактерий были выделены из кишечного содержимого молочных поросят, отстающих в росте, в одном из свиноводческих комплексов Кировской области; были изучены биологические свойства изолятов, проведена их идентификация по комплексу культурально-морфологических, тинкториальных и биохимических характеристик.

Анализ данных антагонистической активности, представленных в таблице 6, свидетельствуют о том, что все исследуемые штаммы лактобацилл обладают выраженной антагонистической активностью в отношении условно патогенных видов энтеробактерий. Наиболее значимые показатели были получены в отношении *L. paracasei 13*.

Как свидетельствуют данные по изучению уровня кислотообразования, представленные в таблице 7, наибольшей величиной предельного кислотообразования обладали бактерии штамма *L. salivarius 40*, наименьшей – лактобациллы контрольного штамма.

Все остальные штаммы обладали высоким уровнем кислотообразующей активности.

Заключение

Из кишечника здоровых молочных поросят выделено пять культур лактобацилл, которые были идентифицированы как *L. paracasei 13*, *L. salivarius 40*, *L. salivarius 41*, *L. salivarius 44*, *L. reuteri 48*. Полученные штаммы обладают высоким уровнем кислотообразования, на 20 – 45% превышающим уровень кислотообразования референс-штамма *L. plantarum*. По уровню антагонистической активности в отношении разных видов энтеробактерий выделенные штаммы превосходят контрольный на 5 – 40%, а по показателям адгезивной активности – на 150–500%. Полученные данные позволяют рекомендовать исследованные гомопробиотические штаммы лактобацилл для создания новых эффективных ветеринарных биопрепаратов для лечения и профилактики дисбактериозов у поросят.

Список литературы

1. Брилис, В. И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов [Текст] / В. И. Брилис, Т. А. Брилис, Х. П. Ленцнер, А. А. Ленцнер // Лабораторное дело. – 1986. – № 4. – С. 210–212.
2. Иванов, В. П. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника: информационное письмо [Текст] / В. П. Иванов, А. Г. Бойцов, А. Д. Коваленко и др. – СПб. : Центр госсанэпиднадзора, 2002. – С. 31.
3. Оборин, В. А. Бактериофиксирующая активность эритроцитов в отношении вакцинных штаммов возбудителей чумы, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза и обоснование ее роли в патогенезе данных заболеваний [Текст] : дис. ... д-ра мед. наук: 14.03.03 / В. А. Оборин. – Саратов, 2011. – 261 с. : ил.
4. Чичерин, И. Ю. Микроорганизмы пробиотиков и индигенной микрофлоры человека и животных. Характер взаимодействия при совместном культивировании на плотной питательной среде [Текст] / И. Ю. Чичерин, И. П. Погорельский, И. А. Лундовских, Е. А. Бессолицына, И. В. Дармов, М. Р. Шабалина // Кишечная микрофлора. – 2013. – № 2. – С. 54–60.
5. Шейко, И. П. Свиноводство / И. П. Шейко [Текст]. – Мн. : Новое знание, 2005. – 384 с. : ил.
6. *Lactobacillus Brevis* strain [Текст] : пат. № 60397654 США, № 2004/01266871; заявл. 22.07.2003 опубл. 08.04.2008. – 10 с.

УДК 619:578.835.2:57.082.26:57.083.2:547.455.623

Ключевые слова: клетки ВНК-21/2-17, глюкоза, лактат, pH, ионы, вирус ящура

Key words: BHK-21/2-17 cells, glucose, lactate, pH, ions, FMD virus

Гусева М. Н., Кузнецова Е. Г., Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Шевченко М. А.

МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ВИРУСА ЯЩЕРА В СУСПЕНЗИИ КЛЕТОК ВНК-21/2-17

GLUCOSE METABOLISM IN THE PROCESS OF FOOT AND MOUTH DISEASE
(FMD) VIRUS CULTIVATION IN BHK-21/2-17 CELL SUSPENSION

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

FGBI "Federal Centre for Animal Health"

Address: 600901, Russia, Vladimir, Yurevets

Гусева Марина Николаевна, к. б. н., ст. научн. сотрудник. E-mail: guseva_mn@arriah.ru
Guseva Marina N., Ph.D. in Biology Science, Senior Researcher. E-mail: guseva_mn@arriah.ru

Кузнецова Елена Геннадьевна, к. б. н., вед. научн. сотрудник
Kuznetsova Yelena G., Ph.D. in Biology Science, Leading Researcher

Лозовой Дмитрий Анатольевич, к. в. н., временно исполняющий обязанности директора
Lozovoy Dmitry A., Ph.D. in Veterinary Science, Acting Director

Михалишин Дмитрий Валерьевич, к. в. н., зав. лабораторией профилактики ящура
Mikhailishin Dmitry V., Ph.D. in Veterinary Science, Head of the Laboratory for FMD Prevention

Шевченко Максим Александрович / Shevchenko Maxim A., Postgraduate

Аннотация. В статье приведены данные по изучению динамики потребления глюкозы клетками ВНК-21/2-17, определена корреляция между изменением количества глюкозы и некоторыми физико-химическими показателями питательной среды. Также представлены результаты исследований влияния различного количества глюкозы на репродукцию вируса ящура и выход иммуногенных компонентов.

Summary. Results of studying dynamics of glucose intake by BHK-21/2-17 cells are demonstrated and the correlation between a change in glucose amount and some physico-chemical showings of the nutrient medium is shown in the paper. Also, results of studying an impact of glucose amount on FMD virus reproduction and yield of immunogenic components are presented.

Введение

Одним из существенных компонентов питательной среды для суспензионного культивирования клеток является глюкоза. В концентрации 5–20 мМ она служит традиционным источником углерода в питательных средах [1, 8].

Потребность клеток в глюкозе, прежде всего, определяется ее энергетической ролью в обмене веществ. Кроме того, клетки используют глюкозу и в пластических целях – для синтеза некоторых заменимых аминокислот, а также жирных и нуклеиновых кислот [1, 8].

Метаболизм глюкозы происходит, главным образом, путем гликолиза, представляющего собой последовательность биохимических реакций, в результате которых глюкоза распадается на две молекулы пирувиноградной кислоты (пирувата) (аэробный

гликолиз) или две молекулы молочной кислоты (лактата) (анаэробный гликолиз).

Образующаяся молочная кислота не является конечным продуктом обмена веществ. Под действием лактатдегидрогеназы она окисляется снова, образуя пируват, который и участвует в дальнейших биохимических превращениях.

Таким образом, лактат представляет собой метаболический «тупик»: он не может утилизироваться в каких-либо других внутриклеточных реакциях и должен вновь превратиться в пируват или окислиться до CO₂ и H₂O в ходе реакций цикла Кребса. Результатом такой биохимической реакции является продукция энергии в форме аденозинтрифосфата (АТФ) и окисление NADH (никотинамидадениндинуклеотид-фосфата) в NAD (никотинамидадениндинуклеотид). В присутствии кислорода и ос-

новых кофакторов лактат превращается в пируват; он не накапливается и поддерживает равновесие с последним.

Поскольку лактат может элиминироваться только путем превращения в пируват, концентрация лактата тесно связана концентрацией пирувата, являющегося ключевой промежуточной субстанцией на пересечении нескольких важных путей метаболизма. Основным источником пирувата является гликолиз, в ходе которого он образуется при окислении глюкозы, а также трансминирование – процесс, при котором формирование пирувата происходит при участии аминокислот, особенно аланина [5].

При поддержании кислотно-щелочного равновесия ионы водорода сначала связываются с бикарбонатом и другими буферами, а затем поглощаются при утилизации лактата через глюконеогенез (процесс синтеза глюкозы из веществ неуглеводной природы) или окисление [5].

Энергетический эффект анаэробного гликолиза по сравнению с аэробным – небольшой: образование двух моль лактата из глюкозы сопровождается синтезом всего двух моль АТФ. Это объясняется тем, что восстановленная форма NADH·H⁺, полученная при окислении глицероальдегидфосфата, не используется дыхательной цепью, а акцептируется пируватом.

Пируват также может окисляться в цикле лимонной кислоты с образованием CO₂ и воды. Накопление в среде молочной кислоты (лактата), особенно характерное для эмбриональных и трансформированных клеток, свидетельствует о нарушениях в функционировании цикла лимонной кислоты [10].

Если количество глюкозы падает ниже критического уровня, то источником энергии могут служить аминокислоты [5, 10].

Исключение глюкозы из состава культуральной среды ведет к прогрессивным изменениям эпителиальных клеток. Это было исследовано на примере клеток крысиного сердца [4]. Кроме того, концентрация глюкозы оказывает большое влияние на содержание витамина С, гликопротеиновый и инсулиновый метаболизм; что доказано на примере эпителиальных клеток сердца

эмбриона коровы. Концентрация глюкозы в культуральной среде 2 г/дм³ вызывает 5-кратное снижение усвоения аскорбиновой кислоты эпителиальными клетками [10].

Повышение концентрации глюкозы, также как и ее дефицит, вызывает увеличение ее потребления растущими клетками и образование молочной и пировиноградной кислот, токсичных для клеток, при этом наблюдается зернистость клеток и меньший прирост их числа [10].

Присутствие глюкозы в количестве 0,2 % в сбалансированном солевом растворе обеспечивает высокое накопление вируса ящура в клетках ВНК-21 (10⁸ БОЕ/см³) [9].

В задачу наших исследований входило изучение динамики потребления глюкозы клетками ВНК-21/2-17, определение корреляции между изменением количества глюкозы и некоторыми физико-химическими показателями в питательной среде, а также изучение влияния различного количества глюкозы на репродукцию вируса ящура.

Материалы и методы

В работе использовали:

- суспензионную культуру клеток ВНК-21/2-17;
- культиваторы стеклянные (КС) рабочим объемом до 30 дм³ (Россия);
- культиваторы металлические (КМ) рабочим объемом до 1800 дм³ (Россия).

Питательную среду для выращивания клеток готовили согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура различных типов».

Качественный и количественный состав питательных сред определяли на различных (последовательных) этапах культивирования клеток ВНК-21/2-17 на протяжении всего производственного цикла. Первые 3 пассажа проводились в КС, 4–6 пассажи – в КМ.

Концентрацию клеток ВНК-21/2-17 в суспензии учитывали с помощью камеры Горяева для счета форменных элементов крови, модель 851, которая соответствует ТУ 64-1-816-84.

Содержание глюкозы, лактата, ионов, давление кислорода и углекислого газа, а также насыщение воздухом и CO₂ в процентах

определяли при помощи биохимического анализатора BioProfile 400 (США).

Интенсивность пролиферации (ИП) определяли по кратности прироста клеток за 48–72 часа (отношение конечной концентрации клеток к исходной в пределах одного пассажа). Минимальная кратность прироста для данной культуры – не менее 4.

Для воспроизведения стандартных условий культивирования (объемы культивируемой клеточной суспензии; барботаж, рН) исследования проводились на протяжении шести пассажей.

Суспензионную культуру клеток выращивали и заражали вирусом согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура различных типов». Для заражения клеток использовали культуральный вирус штаммов «А /Киргизия/07 №2045» и «О₁ 1618».

Для обработки результатов исследований использовали статистические методы, применяемые в биологии [3].

Известно, что корреляция – это статистическая взаимосвязь двух или нескольких случайных величин.

Коэффициент корреляции (R) может принимать значение от +1 до -1 в зависимости от тесноты связи. При полной прямой корреляции R равен +1, при полной обратной – -1. Когда корреляция отсутствует, коэффициент близок к 0. Обычно считают, величина R в интервале 0,20–0,30 свидетельствует о наличии слабой, в интервале 0,50–0,60 – средней, а в интервале 0,80–0,90 – сильной (тесной) корреляции между признаками [3].

Результаты и обсуждение

С помощью биохимического анализатора BioProfile 400 измеряли содержание глюкозы, лактата, давление кислорода в исходной питательной среде и в динамике во всех пассажах производственного цикла культивирования клеток ВНК-21/2-17. Результаты проведенных исследований представлены на рисунках 1 и 2.

Результаты исследований, представленные на рисунке 1, позволяют говорить о том, что в каждом рассматриваемом пассаже производственного цикла – от размораживания

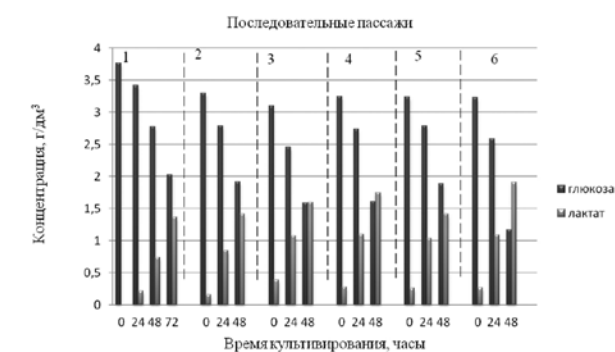


Рис. 1. Динамика изменения содержания глюкозы и лактата в питательной среде в процессе культивирования клеток ВНК-21/2-17.

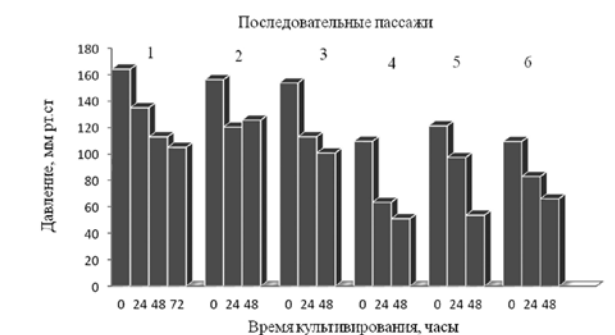


Рис. 2. Динамика изменения давления кислорода в питательной среде в процессе культивирования клеток ВНК-21/2-17.

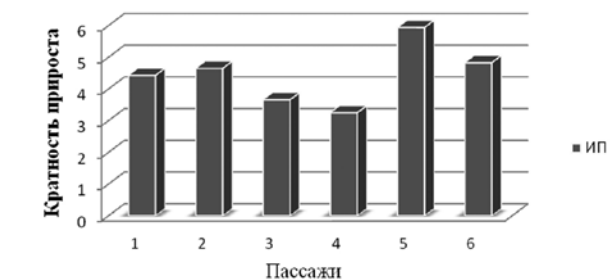


Рис. 3. Интенсивность прироста клеток ВНК-21/2-17 в различных пассажах.

(1-й пассаж) до получения производственного объема клеточной суспензии (6-й пассаж) – идет активная утилизация глюкозы клетками ВНК-21/2-17, т. е. ее содержание постепенно понижается от начала культивирования до окончания (48 часов) в каждом последовательном пассаже. Так, количество глюкозы уменьшалось в 1,86 раз в первом пассаже до 2,76 раз – в шестом (различия существенны, p < 0,001). В то же время в каждом пассаже производственного цикла наблюдается увеличение содержания лактата в питательной среде от начала культивирования до окон-

чания культивирования (48 часов) в каждом последовательном пассаже. Количество лактата возрастало от нуля до 1,37 г/дм³ (более чем в сто раз) в первом пассаже и в 8,88; в 4,1; в 6,25; в 5,5; в 7,1 раз во 2–6 пассажах, соответственно (различия существенны, $p < 0,001$).

Было отмечено (рис. 2), что, начиная с 4-го пассажа, парциальное давление кислорода в среде падало в 1,4–2,1 раз по сравнению с первыми пассажами (различия существенны, $p < 0,001$). Первые три пассажа, вероятно, происходит адаптация клеток после криоконсервирования, с чем и связано более высокое потребление кислорода по сравнению с последующими пассажами. В 4-м пассаже заметно уменьшалась интенсивность прироста клеток (рис. 3): в 1,36 раз по сравнению с первым и в 1,83 – с пятым. Предположительно, это напрямую связано с соотношением воздушной и водной фазы. В 4-м пассаже суспензии клеток ИП упала в 1,7–1,9 раз, а в 5 и 6 пассажах – в 1,25 и в 1,18, соответственно. Это зависело от условий культивирования в каждом конкретном пассаже (соотношений воздушной и водной фазы, барботажа, pH и т. д.).

Проведенный нами анализ полученных результатов показал наличие тесной корреляции между содержанием глюкозы и парциальным давлением кислорода ($R = 0,697$). Коэффициент корреляции между количеством лактата и давлением кислорода также был достаточно высок и составлял 0,7597 (табл.).

Так как в процессе выращивания клеток образуется лактат (молочная кислота), то можно предположить, что имеет место анаэробный гликолиз, который происходит при недостаточном количестве кислорода. Кроме того, лактат интенсивно закисляет клеточные суспензии.

Поскольку молочная кислота может элиминироваться только путем превращения в пируват, то концентрация лактата тесно связана с метаболизмом пирувата [5]. Так, из литературных данных известно, что ионы водорода сначала связываются с бикарбонатом и другими буферами, а затем поглощаются при утилизации лактата через глюконеогенез. Таким образом, поддерживается кислотно-щелочное равновесие [5].

Обратная корреляция содержания лактата с парциальным давлением кислорода ($R = -0,76$) и с количеством ионов HCO_3^- ($R = -0,77$) (табл.) является косвенным доказательством глюконеогенеза, т. е. дальнейшей утилизации лактата.

Известно, что ионы калия играют большую роль в белковом синтезе, гликолизе, функционировании натрий-калиевого насоса и других процессах. Важность натрий-калиевого насоса определяется тем, что непрерывное откачивание из клетки натрия и нагнетание в нее калия необходимо для осуществления многих жизненных процессов: осморегуляции, сохранения клеточного объема, поддержания разности потенциалов по обе стороны мембраны, поддержания элек-

трической активности в нервных и мышечных клетках, для активного транспорта через мембраны других веществ (сахаров, аминокислот).

Примерно треть всей АТФ, расходуемой животной клеткой в состоянии покоя, затрачивается именно на поддержание работы натрий-калиевого насоса. Если каким-либо внешним воздействием подавить дыхание клетки, т. е. прекратить поступление кислорода и выработку АТФ, то ионный состав внутреннего содержимого клетки начнет постепенно меняться, затем он придет в равновесие с ионным составом среды, окружающей клетку, и в этом случае наступает ее смерть [6].

В представленной таблице показана корреляция между содержанием глюкозы, лактата и различными физико-химическими показателями среды. Так, коэффициент корреляции между содержанием глюкозы и количеством ионов K^+ составил 0,83; содержанием ионов Na^+ – минус 0,68. Это является косвенным доказательством участия данных ионов в процессе гликолиза.

Коэффициент корреляции (R) между количеством глюкозы и ионами аммония составил минус 0,97, что говорит о расходовании различных аминокислот на нужды клетки путем гликолиза. Таким образом, можно предположить, что клетки использовали глюкозу для синтеза некоторых заменимых аминокислот, а также жирных и нуклеиновых кислот.

На следующем этапе работы мы изучали репродукцию вируса ящура в среде с различным содержанием глюкозы. Результаты исследований представлены на рисунках 4, 5, 6.

В результате проведенных исследований было установлено, что высокий выход иммуногенных компонентов при репродукции вируса ящура в КС наблюдался при концентрации глюкозы 0,2, 0,4 и 0,8 % ($0,68 \pm 0,014$, $0,65 \pm 0,020$ и $0,62 \pm 0,038$ мкг/см³, соответственно) (рис. 4). При снижении концентрации глюкозы до 0,1 % повышалось значение pH на 0,2–0,4 единицы и снижался выход иммуногенных компонентов в 2,75 раза; различия существенны, $p \leq 0,001$. Кроме того, при понижении концентрации глюкозы было

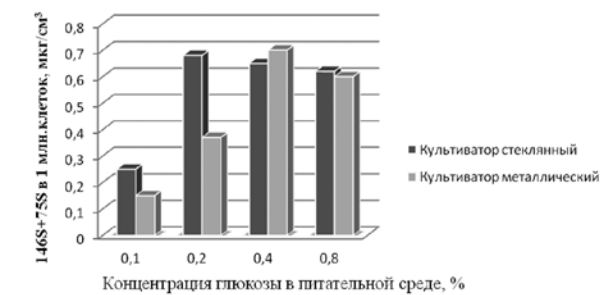


Рис. 4. Количество иммуногенных компонентов вируса ящура в 1 млн клеток ВНК-21/2-17 при репликации в среде с различным содержанием глюкозы.

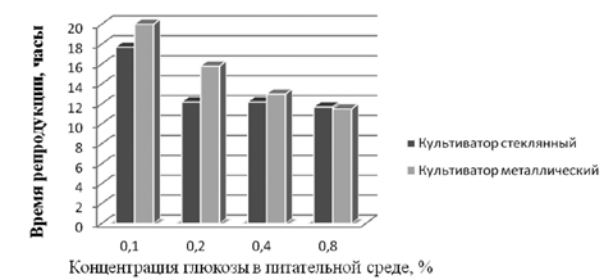


Рис. 5. Время репродукции вируса ящура в среде с различным содержанием глюкозы.

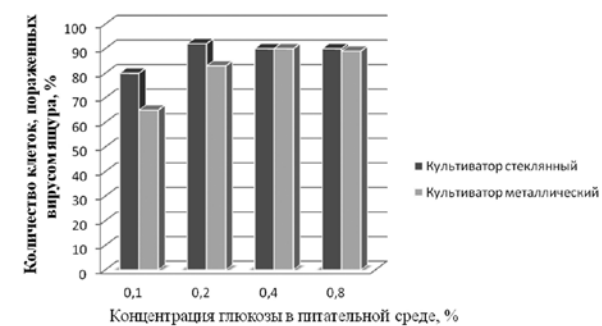


Рис. 6. ЦПД вируса ящура при репликации в среде с различным содержанием глюкозы.

замечено увеличение времени репродукции вируса на 5–6 часов и уменьшение процента пораженных клеток на 13–15 % (рис. 5, 6).

При репродукции вируса ящура в металлических культиваторах с концентрацией глюкозы также были замечены различия. Так, при концентрации 0,1 % и 0,2 % в 4,50–1,62 раза уменьшался выход иммуногенных компонентов, количество пораженных клеток снижалось, время репродукции вируса увеличивалось (рис. 4, 5, 6), также наблюдалось уменьшение величины pH на 0,2–0,5

Изучение корреляции между содержанием глюкозы, лактата и различными физико-химическими показателями среды (N = 19)

№	Физико-химические показатели	Коэффициент корреляции	
		Глюкоза	Лактат
1	Парц.давление O ₂	0,6970	-0,7597
2	Парц.давление CO ₂	0,2588	-0,390
3	HCO ₃ ⁻	0,6719	-0,7733
4	NH ₄ ⁺	-0,9748	0,9672
5	pH	0,708	-0,8152
6	Na ⁺	-0,6752	0,5893
7	K ⁺	0,8291	-0,7969
8	Осмоляльность	-0,8521	0,8192
9	Конц. клеток	-0,9689	0,9265

Таблица.

единиц. Известно, что вирус ящура наиболее стабилен при pH 7,4–7,7. Сдвиги pH в кислую сторону ведут к изменению свойств вируса, распаду его капсиды на 12S частицы и разрушению незащищенной РНК [2].

Механизм репродукции вируса заключается в том, что инфицированная вирусом клетка служит источником энергии и предшественником для синтеза вирусных компонентов, а также предоставляет весь аппарат (рибосомы, тРНК, ферменты, и т. д.), необходимый для синтеза вирусных белков [7], а так как глюкоза является основным и наиболее универсальным источником энергии для обеспечения метаболических процессов клетки, то, вероятно, ее недостаток способствовал уменьшению выработки вирусных компонентов.

Заключение

В ходе проведенных исследований была изучена динамика потребления глюкозы клетками ВНК-21/2-17. Отмечено, что количество глюкозы уменьшалось от 1,86 раза в первом пассаже до 2,76 раз в шестом (различия существенны, $p < 0,001$). Количество лактата возрастало в 4,10–8,88 раза в зависимости от пассажа (различия существенны, $p < 0,001$).

Была найдена корреляция между содержанием глюкозы и парциальным давлением кислорода ($R = 0,6970$), ионами K^+ ($R = 0,8291$), Na^+ ($R = -0,6752$), HCO_3^- ($R = 0,6719$), что косвенно подтверждало процессы гликолиза и глюконеогенеза, происходящие в клетках ВНК-21/2-17.

Мы считаем, что при культивировании клеток ВНК-21/2-17 сначала начинался процесс анаэробного гликолиза, а затем – процесс глюконеогенеза.

Корреляция между количеством глюкозы и ионами аммония ($R = -0,97$) указывала на

процессы использования глюкозы для синтеза некоторых заменимых аминокислот, а также жирных и нуклеиновых кислот.

При исследовании репродукции вируса ящура в средах с различным содержанием глюкозы установлено, что наиболее высокий выход иммуногенных компонентов при культивировании в КС был отмечен при концентрации глюкозы от 0,2, до 0,8 %. При работе вируса в металлических культиваторах также наблюдали различия: оптимальные результаты были получены при концентрации глюкозы 0,4 %.

Таким образом, для данного метода культивирования оптимальным является содержание глюкозы 0,4–0,8 %.

Список литературы

1. Биотехнология клеток животных / ред. Р. Е. Спирер, Дж. Б. Гриффитс. – М. : Агропромиздат, 1989. – Т. 1. – 365 с.
2. Бурдов, А. Н. Ящур / А. Н. Бурдов, А. И. Дудников, П. В. Малярец [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1990. – 320 с.
3. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц – М. : Практика, 1999. – 459 с.
4. Животная клетка в культуре (Методы и применение в биотехнологии) / ред. Л. П. Дьяконов. – М. : Компания Спутник+, 2009. – 656 с.
5. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера Т. 2. Биоэнергетика и метаболизм / Д. Нельсон, М. Кокс. – М. : Бино, 2011. – 633 с.
6. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. – М. : МИА, 2004. – 566 с.
7. Рюкерт, Р. Р. Пикорнавирусы и их репликация / Р. Р. Рюкерт // Вирусология. – М., 1989. – Т. 2. – С. 190–256.
8. Самуйленко, А. Я. Биотехнология: учебник для вузов / А. Я. Самуйленко, Ф. И. Василевич, Е. С. Воронин [и др.]; ред. А. Я. Самуйленко. – 2-е изд., перераб. – М., 2013. – 746 с.
9. Сергеев, В. А. Вирусы и вирусные вакцины / В. А. Сергеев, Е. А. Непоклонов, Т. И. Алипер. – М. : Библионика, 2007. – 523 с.
10. Фрешни, Р. Я. Культура животных клеток. Практическое руководство / Р. Я. Фрешни. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 691 с.

УДК 619:578.825.1:636.592:57.082.26

Ключевые слова: болезнь Марека, вирус герпеса индеек, дезагрегация монослоя, фибробласты эмбрионов кур (ФЭК)

Key words: Marek's disease, turkey herpesvirus, monolayer disaggregation, chicken embryo fibroblasts (CEF)

Шустова М. А., Ханюкова Е. Ю., Пяткина А. А.

ИЗУЧЕНИЕ СПОСОБОВ ДЕЗАГРЕГАЦИИ КЛЕТОЧНОГО МОНОСЛОЯ, ИНФИЦИРОВАННОГО ВИРУСОМ ГЕРПЕСА ИНДЕЕК STUDY OF METHODS FOR DESAGGREGATION OF CELL MONOLAYER INOCULATED WITH TURKEY HERPESVIRUS

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

FGBI "Federal Centre for Animal Health"

Address: 600901, Russia, Vladimir, Yurevets

Шустова Мария Алексеевна, вед. биолог, аспирант. E-mail: shustova@arriah.ru

Shustova Maria A., Leading Biologist, Postgraduate. E-mail: shustova@arriah.ru

Ханюкова Елена Юрьевна, вед. биолог, аспирант

Khanyukova Elena Ju., Leading Biologist, Postgraduate

Пяткина Алла Александровна, к. б. н., ст. научн. сотрудник

Pyatkina Alla A., Ph.D. in Biological Sciences, Senior Research Scientist

Аннотация. Приведены результаты исследований влияния различных способов дезагрегации монослоя культуры клеток фибробластов эмбрионов кур (ФЭК), инфицированного герпесом индеек, на инфекционную активность вируса. Выявлено, что диспергирование монослоя ФЭК, зараженного герпесом индеек, при помощи трипсина обеспечивает максимальное сохранение инфекционной активности вируса.

Summary. The results of the study of the effect caused by different techniques of disaggregation of HVT-infected CEF cell monolayer on virus infectivity are presented in the paper. It was established that disintegration of HVT-infected CEF monolayer using trypsin ensures the maintenance of the maximum virus infectivity.

Введение

При монослойном культивировании вирусов важным этапом является отделение инфицированных клеток от субстрата. В настоящее время для дезагрегации инфицированных культур клеток (КК) применяют физический, химический, энзиматический (ферментативный) и биологический методы. К физическим методам относят механическое соскабливание клеток с рабочей поверхности специальным скребком, криодеструкцию и другие способы. Клетки, растущие в монослое на стекле или пластике, агрегируются между собой и прикрепляются к субстрату с помощью внеклеточного матрикса – мукопротеидов или коллагена. В связи с этим для отделения клеток с поверхности носителя (стекла) энзиматическим способом используют растворы различных протеаз, таких как трипсин, химотрипсин, проназа, коллагеназа и другие ферменты. К химическому методу можно отнести дезагрегирующее воздействие детергентов

(версен), а также различных солей, кислот, щелочей и хелатирующих агентов [1, 4]. Биологическая дезагрегация может быть результатом воздействия на монослой КК лимитирующих факторов культивирования клеток и вирусов (истощение питательной среды, снижение pH, изменение ионной силы среды, воздействие латентной инфекции и т. д.).

Результатом дезагрегации монослоя КК любым способом может быть не только разрушение межклеточных связей, но и повреждение клеточных оболочек и внутриклеточных структур, следствием которого становится гибель клеток [3, 4].

Источником получения вируса герпеса индеек (ВГИ) в производстве вакцин против болезни Марека (БМ) является инфицированная культура клеток фибробластов SPF-эмбрионов кур (ФЭК). Процедура отделения инфицированных клеток от субстрата является технологическим этапом, на котором происходят потери инфекционной активности вирусосодержащего материала, что нега-



Наши подписные индексы в каталогах:
Пресса России - 29447, Газеты. Журналы (Роспечать) - 33184

тивно сказывается на эффективности вакцин. Следовательно, выбор метода дезагрегации монослоя клеток, обеспечивающего минимальное снижение титра вируса, представляется актуальным.

Целью настоящих исследований было изучение зависимости инфекционного титра ВГИ от способа дезагрегации инфицированного клеточного монослоя.

Материалы и методы

Вирус. Вакцинный производственный штамм «Владимир № 124-Деп» ВГИ культивировали в первичной культуре клеток фибробластов SPF-эмбрионов кур.

Культура клеток. Первичную культуру клеток ФЭК получали путем трипсинизации 11-суточных SPF-эмбрионов кур фирмы Lohmann (Германия). Культуру клеток выращивали в пластиковых флаконах фирмы Corning (25 см²) и роллерных сосудах (V = 3 дм³) при температуре (38,5±1) °С. Средняя посевная концентрация клеток была (1,0±0,3) млн/см³, объем засеваемой суспензии на сосуд – (270±30) см³, на культуральный пластиковый флакон – 10 см³. Образование монослоя происходило в течение 48–72 ч.

Получение вирусного материала. Инфицирующая доза вируса составляла 10⁵ ФОЕ/см³ на сосуд. Для энзиматического и физического способов дезагрегации монослоя процесс считали завершенным через 48 ч., когда цитопатическое действие вируса охватывало не менее 75 % площади монослоя. Для биологической дезагрегации клеточного монослоя культивирование продолжали до проявления ЦПД вируса более чем на 90 % площади монослоя.

Способы дезагрегации инфицированного монослоя клеток. Для дезагрегации монослоя энзиматическим методом использовали трипсин. Дезагрегацию физическим способом проводили путем замораживания с последующим оттаиванием. Для этого роллерные сосуды с инфицированным монослоем помещали на 1 час в холодильную камеру (минус 50 °С), после чего размораживали при комнатной температуре. Сущность биологического способа заключалась в длительном культивировании ВГИ до появления призна-

ков естественной дегенерации монослоя (лимитирующих факторов культивирования), в результате чего клетки отделялись от стекла путем интенсивного встряхивания. После дезагрегации инфицированного клеточного монослоя образцы вирусосодержащего материала, полученные различными способами, концентрировали центрифугированием с последующим ресуспендированием осадков в равных объемах питательной среды.

Определение инфекционной активности вируса. Инфекционный титр вируса определяли по числу фокусообразующих единиц (ФОЕ) в монослое клеток КФ, выращенных во флаконах для культивирования КК. Использовали метод последовательных разведений вирусосодержащей суспензии. Для оценки титра вируса устанавливали наименьшее разведение, при котором число ФОЕ было максимальным, без слияния фокусов. Величину титра определяли по следующей формуле:

$$T = \{(b_1 + b_2 + \dots + b_n) / n\} \times 10^a / V,$$

где T – титр вируса, ФОЕ/см³;

b₁, b₂, ... b_n – количество фокусов во флаконе;

n – количество используемых флаконов;

V – объем суспензии вируса, внесенный во флакон, см³;

a – показатель степени разведения вирусосодержащего материала.

Растворы и реактивы. Использовали питательную среду, состоящую из равных частей сред 199, Игла и гидролизата лактальбумина на солевом растворе Хенкса (ГЛАХ). Для дезагрегации монослоя применяли 0,25 % раствор трипсина на солевом растворе Хенкса. К ростовой среде добавляли 10 % сыворотки крови крупного рогатого скота, а для поддерживающей среды концентрация сыворотки составляла 2–5 %. Величина рН ростовой и поддерживающей сред составляла 6,9–7,2.

Обработка результатов экспериментов. Использовали общепринятые методы вычисления средних значений и стандартных ошибок (±m) выборок варьирующих переменных [2].

Таблица.
Установление существенности контраста между инфекционными титрами ВГИ в соответствии со способом дезагрегации инфицированного монослоя КК ФЭК

Сравнение инфекционной активности ВГИ (lgT, ФОЕ/см ³) в опытных группах				
Группа № 1	Группа № 2	$\Delta = \lg T_1 - \lg T_2$	Группа № 3	$\Delta = \lg T_1 - \lg T_3$
5,48	4,94	0,54	4,51	0,97
5,34	5,05	0,29	4,72	0,62
5,28	4,40	0,68	4,38	0,90
5,53	4,78	0,75	4,49	1,04
5,73	4,99	0,74	4,72	1,01
Среднее значение $\Delta \pm m$	-	0,60±0,09	-	0,91±0,08
Значимость среднего контраста*	-	$t = 6,67 > t_{p=0,05} = 2,31$	-	$t = 11,4 > t_{p=0,05} = 2,31$

Примечание: * – существенность среднего контраста определяли проверкой выполнимости неравенства, имеющего вид $t \geq t_p$, где $t = \Delta/m_{\Delta}$; t_p – табличное значение коэффициента Стьюдента, для избранного уровня значимости (p) и данного числа степеней свободы ($v = n - 1$).

Для вычислительных операций применяли программу Microsoft Excel.

Результаты исследований

Дезагрегацию клеточного монослоя проводили тремя способами. Для этого роллерные сосуды с культурой клеток ФЭК, инфицированной ВГИ, были поделены на 3 равные группы. В группе № 1 вирусосодержащие клетки отделяли от поверхности стекла ферментативным способом при помощи раствора трипсина; в группе № 2 – криодеструктивным (физическом) способом при температуре минус 50 °С; в группе № 3 – биологическим способом. За оценочный критерий способа дезагрегации инфицированного клеточного монослоя приняли показатель инфекционной активности вируса в собранных пробах материала. Результаты титрования представлены в таблице.

Обсуждение результатов

Из представленных в таблице результатов следует, что вирусосодержащий материал с максимальной инфекционной активностью может быть получен путем отделения клеток от поверхности сосудов ферментативным способом. В биологическом смысле это означает, что трипсин действует на межклеточные связи в монослойной культуре, при этом повреждающее действие трипсина на вирус,

находящийся внутри клеток, оказывается минимальным.

Инфекционные титры вирусосодержащего материала в группах № 2 и № 3 достоверно отличались ($p \leq 0,05$) от аналогичного показателя в группе № 1 и оказались в среднем в 4 и 8 раз ниже. Снижение титра в процессе дезагрегации путем замораживания-оттаивания без криопротектора можно объяснить повреждением не только межклеточных связей, но и самих клеток, что негативно влияет на биологическую активность ВГИ, тесно связанного с внутриклеточными структурами. Снижение инфекционного титра при биологическом способе дезагрегации, вероятно, можно объяснить особенностями цитопатического действия ВГИ и воздействием лимитирующих факторов культивирования, при котором клетки теряют адгезивную способность, разрушаются, отделяются от рабочей поверхности, и вирус выходит в культуральную среду, где теряет инфекционные свойства.

Выводы

Ферментативный способ дезагрегации клеточного монослоя, инфицированного вирусом герпеса индеек, является оптимальным для сохранения инфекционной активности вирусосодержащего материала.

При криодеструктивном (физическом) и биологическом способах отделения инфи-

цированного монослоя от поверхности культуральных сосудов наблюдали снижение инфекционного титра ВГИ от 4 до 8 раз соответственно.

Список литературы

1. Адамс, Р. Методы культуры клеток для биохимиков [Текст] / Р. Адамс. – М.: Мир, 1983. – С. 52–56.

2. Мисюк, Н. С. Корреляционно-регрессионный анализ [Текст] / Н. С. Мисюк, А. С. Мастыкин, Г. П. Кузнецов. – М.: Медицина, 1975. – С. 192.

3. Тихоненко, Т. И. Методические основы биохимии вирусов [Текст] / Т. И. Тихоненко. – М.: Медицина, 1973. – С. 219–222.

4. Шапхаев, Э. Г. Основы биотехнологии [Текст] / Э. Г. Шапхаев, В. Ж. Цыренов, Е. И. Чебунина // Дезинтеграция микробных клеток. – Улан-Уде, 2005. – С. 53–55.

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@logospres.ru

Тел/факс: (495) 220-4816, 689-0575



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

Приглашаем к сотрудничеству авторов и рекламодателей.

По всем вопросам обращайтесь в редакцию по телефонам: (343) 214-76-30, 8-912-046-78-45.
Адрес редакции: 620142, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а.
E-mail: vetklinika@uralbiovet.ru.

Уверенность
в знаниях!



УДК 597-113.2

Ключевые слова: предличинки шемаи, закладка органов и тканей

Key words: prolarvae of shemayas, primordia

Беляков А. А., Каниева Н. А., Грушко М. П., Федорова Н. Н.

ФОРМИРОВАНИЕ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ ОРГАНОВ ШЕМАИ (*CHALCALBURNUS CHALCOIDES*) В ПЕРВУЮ НЕДЕЛЮ ПОСЛЕ ВЫКЛЕВА THE FORMATION OF VITAL ORGANS OF SHEMAYAS (*CHALCALBURNUS CHALCOIDES*) DURING THE FIRST WEEK AFTER HATCHING

ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»

Адрес: 414056, Россия, Астраханская область, г. Астрахань, ул. Татищева, 16

Astrakhan State Technical University

Address: 414056, Russia, Astrakhan region, Astrakhan, Tatischev str., 16

Беляков Анатолий Алексеевич, аспирант каф. гидробиологии и общей экологии

Belyakov Anatoly A., Postgraduate of the Dept. of Hydrobiology and General Ecology

Каниева Нурия Абдрахимовна, д. б. н., проф. каф. прикладной биологии и микробиологии

Kanieva Nuria A., Doctor of Biological Sciences, Professor of the Dept. of Applied Biology and Microbiology

Грушко Мария Павловна, д. б. н., доцент каф. гидробиологии и общей экологии

Grushko Maria P., Doctor of Biological Sciences, Associate Professor of the Dept. of Hydrobiology and General Ecology

Федорова Надежда Николаевна, д. м. н., проф.

Fedorova Nadezhda N., Doctor of Medicine, Professor of the Dept. of Hydrobiology and General Ecology

Аннотация. Согласно собранным материалам, на выклеве по сравнению с другими отделами головного мозга наиболее сформирован продолговатый мозг. В дальнейшем происходит значительное увеличение размеров обонятельных долей переднего мозга и увеличение размеров среднего мозга, в основном за счет роста зрительных долей. Изменение пропорций отделов мозга связано со способом питания и нахождения пищи. В течение предличиночных стадий происходит открытие атрезий в желудочно-кишечном тракте, выделяются как самостоятельные органы пищевод, желудок, промежуточная кишка и спиральный клапан. В предличиночном периоде развивающиеся филаменты начинают функционировать как структуры газообмена. Главные камеры сердца имеются уже к моменту массового выклева: зачатки венозного синуса, артериального конуса, створок предсердно-желудочкового клапана появляются на предличиночных стадиях развития. К началу смешанного питания мезонефрос начинает функционировать как выделительная система.

Summary. According to collected material, medulla is formed to a greater degree than any other brain region at hatching. At a later stage midbrain and the olfactory lobes of forebrain increase in size mainly due to the growth of the optic lobes. The change of proportions of brain regions is associated with the way of feeding and the way of finding food. Atresias open in the gastrointestinal tract during prolarva stages. Esophagus, stomach, intermediate intestine and spiral intestine differentiate as separate organs. Developing filaments start functioning as a structure of gaseous metabolism. The main heart chambers are formed by the time of mass hatching. The anlage of venous sinus, arterial cone, cusps of mitral valve form during prolarva stages. By the beginning of the mixed feeding mesonephros starts functioning as excretory system.

Введение

В Черноморско-Азовском бассейне шемая распространена от водоемов северо-западной части малой Азии, рек Восточной Болгарии и Дуная до Кубани и рек Западного Закавказья [1-5]. В настоящее время известно 13 подвидов [6, 7]. В водах СССР обитали шесть видов шемаи [2]: один из них – основной вид для бассейна Каспийского моря, четыре подвида – для Азово-Черноморского бассейна, один подвид – для Аральского моря. Область обитания шемаи не выходит за пределы бассейнов этих морей. В бас-

сейне Каспийского моря распространены проходная курунская шемая *Chalcalburnus chalcoides chalcoides* (Guldenstadt), являющаяся типичной формой шемаи, и ее подвида: Ленкаранская – *Chalcalburnus chalcoides* (Warp.) и Иранская – *Chalcalburnus chalcoides iranicus*. В реках западной части Среднего Каспия она представлена типичной проходной формой номинативного подвида. Жилая форма шемаи отмечена в малых речках южного Каспия и Мингечаурского водохранилища; держится в прибрежных водах Среднего и Южного Каспия.

В Северном Каспии встречается очень редко. Проходная рыба для икрометания входит в Куру, Терек и другие реки западного и южного побережий. В Волгу и Урал заходят единичные экземпляры [4].

В связи с тем, что шемаи становится редким видом, целью работы явился анализ формирования жизненно важных органов шемаи в течение первой недели после выклева в искусственных условиях.

Материал и методы

При выполнении работы был применен комплекс методов: ихтиологических, гистологических, статистических. Объектом исследований служили предличинки шемаи 5–8 суток после выклева, полученные на Темрюкском рыбозаводе. Из них были приготовлены серии срезов.

Ихтиологический метод. Предличинок после фиксации в 4 % нейтральном формалине просматривали под биноклем МБС-10 без предварительного препарирования. Зафиксированных предличинок помещали в чашки Петри и определяли этапы и стадии развития. При помощи окулярмикроскопа и торсионных весов ВТ-510 измеряли общую длину и массу каждой особи.

Гистологический анализ был проведен по общепринятым методам: сделаны сагиттальные и фронтальные серии срезов предличинок шемаи 5–8 суток после выклева. Изучение стадий срезов проводилось под микроскопом БИОМЕД-2, Olympus Vx-40, под этим же микроскопом сделаны снимки органов предличинок. Применялась окраска гематоксилин-эозином.

Цифровой материал обработан статистически.

Обсуждение результатов

Формирование нервной системы. На стадии выклева спинной мозг предличинки шемаи представляет собой полый тяж округлой формы, проходящий вдоль всего туловищного и хвостового отделов. Вдоль спинного мозга сегментарно располагаются мелкие спинномозговые узлы. К моменту освобождения от оболочек яйца у предличинок шемаи имелись все отделы головного моз-

га, но самым длинным оказался продолговатый мозг. Ромбовидная ямка – широкая, выражена больше остальных желудочков. Обонятельные доли имеют вид небольшого выроста на переднем мозге. Происходит дифференцировка промежуточного мозга на отделы: к верхнему отделу примыкает формирующийся эпифиз, к нижнему – эпителиальный зачаток гипофиза. Зрительные бугры таламуса имеют вид небольших расширений и состоят из нескольких рядов нейробластов, которые покрывает слой белого вещества. Мозжечок представлен небольшим скоплением нервных клеток. Все отделы головного и спинного мозга были покрыты формирующимися оболочками из молодой соединительной ткани. К началу экзогенного питания заметно увеличиваются обонятельные доли, выделяется передняя доля гипофиза, в эпифизе начинают дифференцироваться нейросекреторные клетки, происходит дифференцировка клеток Пуркинье в мозжечке. Снизу и с боков мозг окружен формирующимся гиалиновым хрящом будущего основания черепа.

Развитие пищеварительной системы. Изучение развития пищеварительной системы предличинок шемаи показало, что после выхода зародышей из оболочек в формирующемся пищеварительном тракте имелись физиологические атрезии: отсутствовало соединение между желточным мешком и глоткой (жаберной полостью), между глоткой и формирующимся желудочно-кишечным трактом, не было сформировано анальное отверстие. Большая часть желтка, находившегося в желточном мешке к моменту вылупления, оказалась неиспользованной. На третьи сутки желудочно-кишечный тракт представлял собой тонкий тяж с очень узкой полостью, гладкими стенками, только в области будущего желудка стенки имели едва заметные складки. Отсутствовало соединение жаберной полости и формирующегося пищевода, анальное отверстие было закрыто эпителиальной пробкой. Весь желудочно-кишечный тракт был выстлан цилиндрическими клетками, лежавшими на тонкой базальной мембране. Вся жаберная полость и обе челюсти выстланы многослойным неорого-

вевающим эпителием, верхний ряд которого в основном состоял из крупных слизистых клеток.

В течение предличиночных стадий произошло открытие всех перечисленных отверстий, выделились как самостоятельные органы пищевод, желудок, промежуточная кишка, спиральный клапан: к пяти суткам выделились как самостоятельные органы пищевод и желудок, имевший ретортообразную форму, в котором уже имелись заметные складки. Кроме того, у пищевода и желудка началось формирование оболочек. В течение этих стадий происходило выделение спирального клапана, причем в спиральном клапане спиральная складка еще мала и коротка, самая нижняя часть задней кишки осталась гладкой. Значительно выросла печень. Сохраняется ее трабекулярная архитектура. По стенкам будущего желудка и промежуточной кишки опускается закладка поджелудочной железы. Заметно уменьшается желточный мешок и количество в нем желтка.

Формирование дыхательной системы. До появления жабр процесс газообмена у зародышей и предличинок шемаи осуществляется различными производными приспособлениями. После выклева сосуды желточного мешка и плавниковой складки несли на себе функцию газообмена. У предличинок шемаи с обеих сторон головы имелись симметричные закладки всех четырех жаберных дуг в виде овальных мезенхимных образований, причем каждая следующая была несколько меньше предыдущей. На пятые сутки жаберные дуги стали приобретать формы треугольников, на них появились небольшие эпителиальные возвышения – филаменты, покрытые однослойным кубическим эпителием и имевшие в своем составе кровеносный сосуд, который являлся продолжением находившегося в формирующейся жабре. И в жаберной дуге, и в филаменте происходило интенсивное развитие гиалинового хряща, составляющего основу этих образований. По-видимому, на этом этапе развития формирующиеся филаменты начали выполнять функции дыхания. К 7 дню после выклева на филаментах появились по 3–5

небольших возвышения из эпителия с тончайшими сосудами посередине – ламеллы.

Сразу после выклева жаберная крышка прикрывала только первую формирующуюся жаберную дугу, к 7 дню жаберная крышка достигала последней жаберной дуги. Стала развиваться перед первой жаброй полужабра с филаментами и ламеллами. Изнутри жаберная крышка была выстлана многослойным неороговевающим эпителием, у которого верхний ряд составляли очень крупные слизистые клетки.

Формирование выделительной системы. Мезонефрос к моменту выклева представлял собой длинное парное образование, верхний уровень которого находился на середине желточного мешка, нижний – у нижнего края кишечника. Вдоль мезонефроса опускался слепо начинающийся мезонефральный проток. В строении мезонефроса находились сегментарно расположенные везикулы, к началу экзогенного питания из них сформировались первая генерация мезонефральных телец и извитые каналы, которые открывались в мезонефральный проток. Сами протоки в нижней своей части, соединившись, образовали общий выводной проток, который имел выход во внешнюю среду позади анального отверстия. Постепенно в мезонефросе возрастает количество межканальцевой ткани, которая являлась в основном кроветворной. Таким образом, с началом смешанного питания мезонефрос становится экскреторно-гемопоэтическим органом.

Формирование сердечно-сосудистой системы. Две главные камеры формирующегося сердца имелись уже к моменту выклева, зачатки венозного синуса, артериального конуса, створок предсердно-желудочкового клапана появляются к началу экзогенного питания.

Заключение

Формирование основных систем органов шемаи происходит гетерохронно. На момент вылупления наиболее дифференцирована нервная система. В предличиночном периоде интенсивно развиваются нервная, пищеварительная, сердечно-сосудистая, мочевыделительная системы и органы чувств.

Список литературы

1. Берг, Л. С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран [Текст] / Л. С. Берг. – М.-Л. : Изд-во АН СССР, 1999. – Ч. 1. – 733 с.
2. Абдрахманов, Ю. А. Рыбы пресных вод Азербайджана [Текст] / Ю. А. Абдрахманов. – Баку : Изд-во АН Аз.ССР, 1962. – 472 с.
3. Казанчев Е.Н.. Рыбы Каспийского моря (определитель) [Текст] / Е. Н. Казанчев. – М. : Легкая и пищевая промышленность, 1981. – 176 с.
4. Коблицкая, М. Ф. Определитель молоди пресноводных рыб [Текст] / М. Ф. Коблицкая. – М. : Легкая и пищевая промышленность, 1981. – 208 с.

5. Устарбеков, А. К. Изменчивость внешних морфологических признаков шемаи *Chalcalburnus chalcoides chalcoides* (Guldenstadt, 1772) Каспийского бассейна [Текст] / А. К. Устарбеков, З. М. Курбанов // Каспий: прошлое, настоящее, будущее : материалы междунар. науч. конф. – Махачкала : ДГУ, 2014. – С. 274-275.

6. Banarescu, P. Fauna Republicii Romane [Текст] / P. Banarescu // Bucuresti : Asad. Rep. Pop. Pomine Pisces – Osteichthys. – Vol. N 5. – 1964. – 962 p.

7. Economidis, P. S. *Chalcalburnus belvica* (Karaman, 1924) (Pisces, Cyprinidae, nouvelle combinaison pour la population provenant du lae Petit Prespa (Mace djine, Grece) [Текст] / P. S. Economidis // Cybium, 1986. – Т. 10. – N 1. – P. 85–90.

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 моноили 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 23 000 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 619:636.38:611.36

Ключевые слова: печень, овца, гистология, гистохимия, инвазия
Key words: liver, sheep, histology, histochemistry, invasion

Ван Бэнь, Донкова Н. В.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕЧЕНИ ОВЕЦ ПРИ ИНВАЗИЯХ HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF LIVER OF INFESTED SHEEP

¹Цзилинский аграрный научно-технический институт
Адрес: КНР, г. Цзилинь, Экономико-технологический район, Ханлин роуд, 77

¹Jilin Agricultural Science and Technology College

Address: China, Jilin, Economic Technology District, Hanlin Road, No.77

²ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный аграрный университет»

Адрес: 660049, Россия, г. Красноярск, ул. Мира, 90

²Krasnoyarsk State Agrarian University

Address: 660049, Russia, Krasnoyarsk, Mira str., 90

Ван Бэнь, аспирант¹ / Wang Ben, Postgraduate¹

Донкова Наталья Владимировна, д. в. н., проф., зав. кафедрой анатомии,

патологической анатомии и хирургии². E-mail: dnv-23@mail.ru

Donkova Natalja V., Doctor of Veterinary Medicine, Professor, Head of the Dept. of Anatomy,

Pathological Anatomy and Surgery². E-mail: dnv-23@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты гистологических и гистохимических исследований печени овец тувинской короткожирнохвостой породы в условиях Республики Хакасия при эхинококкозе, дикроцелиозе и стронгилятозе. Установлено, что микроструктурные изменения паренхимы печени овец при инвазиях сопровождаются нарушением синтеза гликогена, развитием дистрофических и некробиотических процессов в гепатоцитах.

Summary. The article presents the results of histological and histochemical studies of the liver of sheep with echinococcosis, dicerceliasis and strongylatosis. The sheep of Tuvian short-fat tailed breed were raised in the Republic of Khakassia. It was found that the microstructural changes of the liver parenchyma of the infested sheep are accompanied by the abnormality in glycogen synthesis and the development of dystrophic and necrobiotic processes in hepatocytes.

Введение

Овцеводство является основной, высокодоходной и развивающейся отраслью животноводства в мире. Однако развитие овцеводства в регионах в значительной мере сдерживается различными инфекционными и паразитарными болезнями овец [7]. Гельминтозы животных имеют широкое распространение и наносят огромный экономический ущерб животноводству, который складывается не только из гибели животных, недополучения приростов, снижения мясной и молочной продуктивности и уменьшения настрига шерсти, но и от получения продукции низкого качества [5, 9]. Н. А. Зиборов отмечает, что у молодняка овец зараженность монезиями составляет 33,4 %, нематодами желудочно-кишечного тракта – 66,7 % и эймериями – 100 % [4].

Наиболее часто патологическому воздействию токсинов гельминтов и самих гельминтов подвергается печень как центральный орган метаболизма. Некоторые гельминты (фасциолы, дикроцелии и эхинококки), паразитируя в организме животных, могут повредить анатомические структуры печени [1] и влиять на ее функцию [6, 3]. При этом в научной литературе сведения о микроструктурных изменениях в печени овец при инвазиях немногочисленны и противоречивы [8], что и послужило поводом к их изучению.

Целью нашего исследования явилось изучение гистологических и гистохимических особенностей печени овец при инвазиях: эхинококкозе, дикроцелиозе, стронгилоидозе.

Материалы и методы

Работа выполнена на кафедре анатомии, патологической анатомии и хирургии

Красноярского государственного аграрного университета в 2014 году. Объектом исследования являлись овцы (валухи) тувинской короткожирнохвостой породы 6,5-месячного возраста, разводимые в Аскизском районе Республики Хакасия. Материалом для исследования послужила печень. Во время убоя животных печень осматривали с диафрагмальной и висцеральной поверхности и на разрезе, взвешивали, измеряли линейные размеры и отбирали кусочки для гистологического исследования. При осмотре печени иногда обнаруживали эхинококковые кисты. При исследовании кала в некоторых образцах обнаружены яйца стронгилят и дикроцелий.

Для гистологических и гистохимических исследований кусочки печени фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, промывали под проточной водой в течение суток, обезжовивали путем применения спиртов различной крепости, заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 8–10 мкм на микротоме с электроприводом и микропроцессорным управлением МЗП-01 «Техном». Для получения обзорных препаратов гистологические срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином. Коллагеновые волокна соединительной ткани выявляли по методу Ван Гизон и по методу Маллори [10]. Фосфолипиды выявляли суданом черным Б. Для выявления гликогена использовали ШИК-реакцию. Количество гликогена в гепатоцитах определяли полуколичественным методом.

Препараты просматривали под микроскопом «Микмед-5» при объективах 10×, 40× и 90×. Микрофотосъемку проводили с использованием камеры Canon.

Результаты исследований

Ранее нами было показано [2], что анатомически печень овец тувинской короткожирнохвостой породы 6,5-месячного возраста имеет буро-красный цвет; на ее тупом крае имеются неглубокие вырезки: пищеводная и вырезка для каудальной полой вены. Со стороны острого края печень разделена вырезками на левую и правую доли. На правой доле различаются хвостатая доля

с хвостатым и сосцевидным отростками и квадратная доля. Сосцевидный отросток нависает над воротами печени. В печени овцы, у которой выявлена в правой доле эхинококковая киста диаметром до 3 см (рис. 1), микроструктурные изменения обусловлены сдавливанием кистой паренхимы печени, кровеносных сосудов и желчных путей с развитием дистрофических изменений и атрофией тканей печени.

При микроскопическом исследовании печени овец, свободных от гельминтов, установлено, что орган снаружи покрыт соединительнотканной капсулой, основу которой составляют коллагеновые волокна. При окрашивании срезов печени по методу Ван Гизон коллагеновые волокна капсулы, располагающиеся преимущественно продольно, приобретали красный цвет (рис. 2).

Слаборазвитые соединительнотканые перегородки, которые делят печень на доли, представлены единичными волокнами, количество которых увеличивается в зоне портальных трактов. Дольчатая структура печени выявляется особенно хорошо при окрашивании срезов по методу Ван Гизон. В центре печеночной доли, а иногда эксцентрично, расположена центральная вена, которая относится к венам безмышечного типа, ее стенка выстлана прерывистым эндотелием. Форма центральной вены от округлой до овальной, просвет хорошо выражен, в просвете центральной вены иногда встречаются остатки крови (рис. 2).

В печени овцы, у которой выявлена эхинококковая киста, основные изменения связаны с компрессией печеночных пластинок, атрофией гепатоцитов, при этом количество и размеры синусоидальных клеток значительно увеличено, а в зоне синусоидных капилляров обнаруживаются скопления лимфоцитов, гистиоцитов, плазматических клеток и нейтрофилов. В центральной вене печеночной доли значительное скопление сгустков крови – признак плохого обескровливания (рис. 3).

В междольковой соединительной ткани печени овец, свободных от гельминтов, портальные тракты представлены сосудами триады: артериями, венами и желчными

протоками. Вены в триаде имеют наибольший просвет неправильной, чаще вытянутой формы, эндотелиальная выстилка гладкая ровная, мышечная оболочка представлена узким слоем из гладких миоцитов. Артерии в зоне триады мелкие, просветы узкие, внутренняя оболочка (интима) извилистая, выстлана плоскими эндотелиоцитами. Желчные протоки в зоне триады мелкие, просветы выстланы кубическими эпителиоцитами, что отличает их от артерий. В зоне триады (портальной зоне) иногда встречаются скопления лейкоцитов. При окраске по Маллори вокруг сосудов триады выявляются извилистые коллагеновые волокна синего цвета (рис. 4).

В печени овец, свободных от гельминтов, радиально от центральной вены к границам доли расположены тяжи печеночных клеток (гепатоцитов) – печеночные балки. Гепатоциты имеют 4–5-угольную, иногда овальную форму. На фоне оксифильной цитоплазмы гепатоцитов видна мелкая зернистость. Базофильное ядро (иногда два ядра) в гепатоците относительно крупное округлое или овальное, расположено, как правило, в центре клетки. На фоне слабобазофильной кариоплазмы выделяются одно или два интенсивно-базофильных ядрышка. Базофильный хроматин сосредоточен преимущественно у кариолеммы. Синусоидные капилляры немного расширены, синусоидальные клетки немногочисленны, их ядра уплощенные, пространства Диссе не видны (рис. 5).

В печени овцы, у которой выявлена эхинококковая киста, на гистологических препаратах отмечается дисконкомплексация печеночных балок. Цитоплазма содержит слабооксифильную зернистость с признаками гидropической дистрофии, ядра в состоянии пикноза и кариолиза, встречаются очаги некрозов. Синусоидные капилляры значительно расширены, синусоидальные клетки многочисленны, их ядра более округлые, пространства Диссе расширены (рис. 6).

У овец, свободных от гельминтов, при окрашивании срезов печени Шифф-йодной кислотой в гепатоцитах определяются ШИК-положительные гранулы, которые равномерно заполняют цитоплазму, гранулы мелкие



Рис. 1. Печень овцы. Висцеральная поверхность. Эхинококковая киста показана стрелочкой.

ярко-розового цвета; гликоген выявляется в большинстве гепатоцитов печеночных пластинок, но чаще в гепатоцитах, расположенных ближе к границе доли (рис. 7).

В печени овец, у которых выявлены в кале яйца дикроцелий и стронгилят, основные изменения касаются локализации и количества гликогена в печеночной доле. Так, количество гликогена в печени овец, у которых обнаружены яйца дикроцелий, снижено. Гранулы гликогена сосредоточены чаще в гепатоцитах, расположенных ближе к границе печеночных долек, то есть в перипортальной зоне, редко – в гепатоцитах, расположенных центрально (рис. 8). В печени овец, у которых выявлены яйца стронгилят, гликоген выявляется в гепатоцитах по всей длине печеночной пластинки, но большее количество гепатоцитов, заполненных гранулами гликогена, сосредоточено вокруг центральной вены печеночной доли.

Выводы

Таким образом, микроструктурные изменения паренхимы печени овец при инвазиях

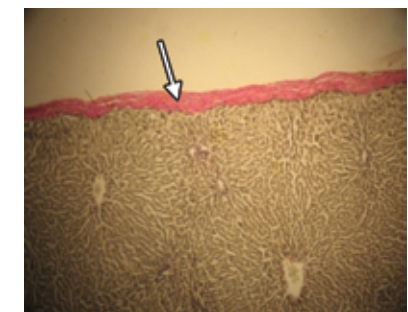


Рис. 2. Капсула печени овцы, свободной от гельминтов (показано стрелочкой). Окраска: по Ван Гизон. Об. 10×.

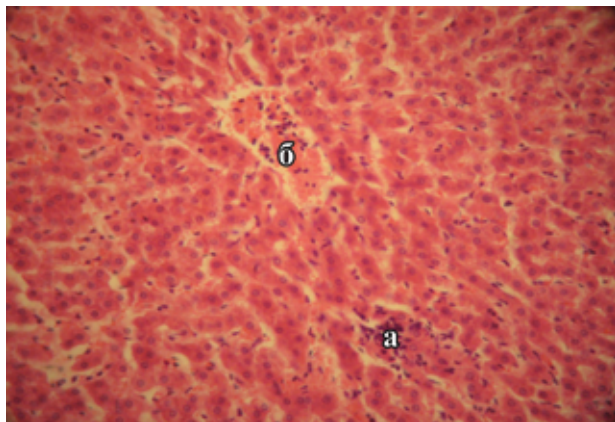


Рис. 3. Печень овцы. Эхинококкоз. а – воспалительный инфильтрат; б – сгустки крови. Окраска: гематоксилин и эозин. Об. 40×.

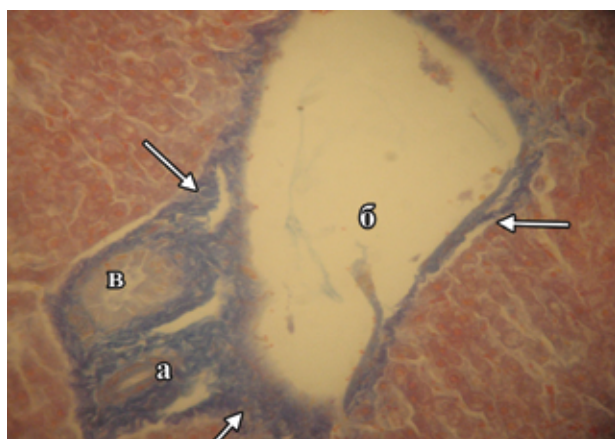


Рис. 4. Печень овцы, свободной от гельминтов. Триада: а – артерия; б – вена; в – желчный проток; ↑ – коллагеновые волокна. Окраска: по Маллори. Об. 40×.

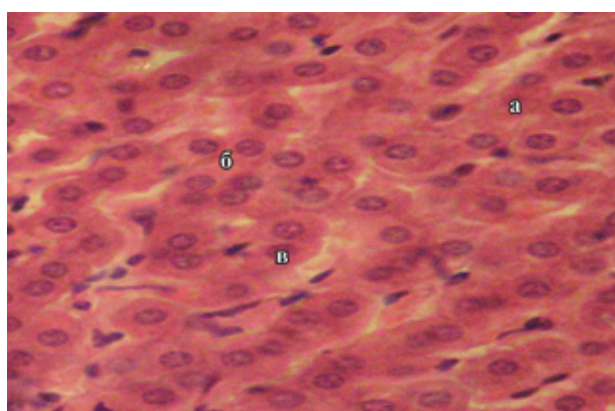


Рис. 5. Печень овцы, свободной от гельминтов. Гепатоциты: а – с одним ядром; б – с двумя ядрами; в – синусоидальные клетки. Окраска: гематоксилин и эозин. Об. 40×.

сопровождаются нарушением синтеза гликогена, развитием дистрофических и некробиотических процессов в гепатоцитах.

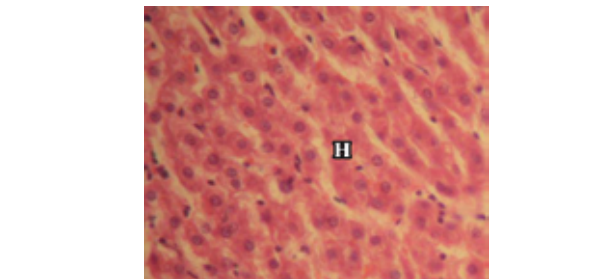


Рис. 6. Печень овцы. Эхинококкоз. Дискомплексация печеночных балок. н – некроз гепатоцитов. Окраска: гематоксилин и эозин. Об. 40×.

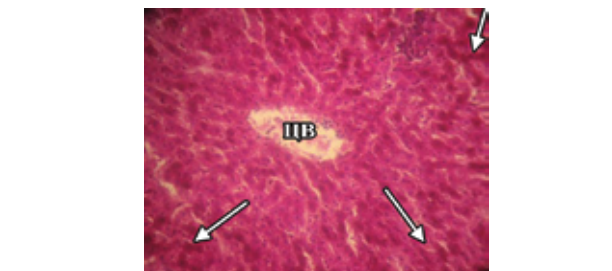


Рис. 7. Печень овцы, свободной от гельминтов. Распределение гранул гликогена в печеночной дольке. цв – центральная вена; ↑ – гликоген. ШИК-реакция. Об. 40×.

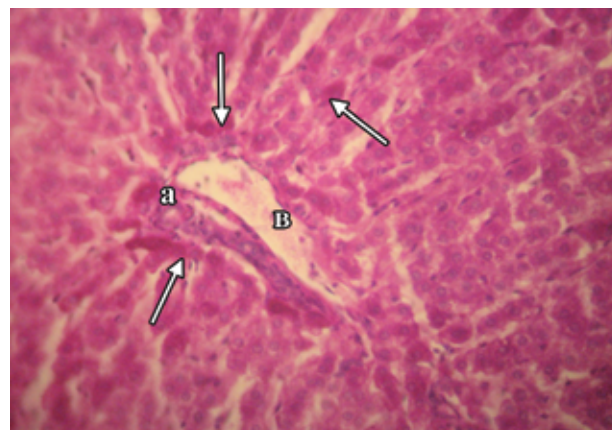


Рис. 8. Печень овцы. Дикроцелиоз. Распределение гранул гликогена вокруг триады. а – артерия; в – вена; ↑ – гликоген. ШИК-реакция. Об. 40×.

В печени овец при эхинококкозе изменения микроструктуры органа обусловлены сдавливанием кистой паренхимы печени, увеличением размеров и количества синусоидальных клеток, расширением пространств Диссе, скоплением сгустков крови в центральной вене. Гликоген определяется лишь в некоторых гепатоцитах, сохранивших балочное строение долек, а в гепатоцитах, которые находятся в состоянии дистрофии или некроза, гранулы гликогена не выявляются.

В печени овец, у которых при копрологических исследованиях обнаружены яйца дикроцелиев и яйца стронгилят, основные изменения выявляются на гистохимическом уровне и связаны со снижением количества и перераспределением включений гликогена в гепатоцитах.

Список литературы

1. Белкин, Б. Л. Патоморфологическая диагностика болезней животных. Атлас-альбом / Б. Л. Белкин, А. В. Жаров, В. С. Прудников. – М. : Аквариум Принт, 2013. – 232 с.
2. Ван Бэнь. Макро- и микроморфология печени овец тувинской короткожирнохвостой породы [Текст] / Ван Бэнь, Н. В. Донкова // Вестник КрасГАУ, 2015. – Вып. 2. – С. 185–189.
3. Жаров, А. В. Патологическая физиология и патологическая анатомия животных [Текст] / А. В. Жаров, Л. Н. Адамушкина. – СПб. : Лань, 2014. – 416 с.
4. Зиборов, Н. А. Распространение, сезонная и возрастная динамика ассоциативного заболевания, вызванного эймериями, нематодами и цестодами желудочно-кишечного тракта у овец на юге Казахстана [Текст] / Н. А. Зиборов // Инновационные болезни с.-х. животных и их профилактика. – Алматы, 1996. – С. 13–23.

5. Каримов, Ф. А. Минеральный состав и биохимические свойства костей у крупного рогатого скота при фасциолезе [Текст] / Ф. А. Каримов // Материалы Всерос. науч.- метод. конф. патологоанатомов вет. медицины. – М., 2003. – С. 85–86.

6. Кошеваров, Н. И. Влияние совместного паразитирования фасциол и дикроцелий в печени на их размеры и плотность популяции [Текст] / Н. И. Кошеваров // Материалы науч. конф. Всероссийского общества гельминтологов РАН, 2010. – Вып. 11. – С. 243–245.

7. Мадиева, К. М. Степень инвазированности овец северо-восточного Казахстана личинками вольфартовой мухи [Текст] / К. М. Мадиева, А. А. Биткеева, Д. Т. Сапенов // ПМУ ХАБАРШЫСЫ Вестник ПГУ. Сер. химико-биол., 2012. № 3. – С. 51–56.

8. Нигматуллин, Р. Г. Особенности морфологических изменений в печени овец при мелофагозе после лечения медиатрином и оксиметилурацилом [Текст] / Р. Г. Нигматуллин // Вестник БГАУ, 2012. – Вып. 3. – С. 36–38.

9. Сафиуллин, Р. Т. Эффективность разных лекарственных форм фенбендазола при гельминтозах овец [Текст] / Р. Т. Сафиуллин, Е. О. Чадина // Ветеринария, 2005. – № 3. – С. 31–33.

10. Хонин, Г. А. Морфологические методы исследования в ветеринарной медицине [Текст] : Учебное пособие / Г. А. Хонин, С. А. Барашкова, В. В. Семченко. – Омск, 2004. – С. 117–118.

Сканеры УЗИ “РАСКАН”

Достоверность, доступность и простота ультразвуковых исследований в ветеринарии

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

Полностью цифровая обработка. Высокая плотность лучей. Динамическая фокусировка. Доплер. Пунктирование. Киноплетля. 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



130225

Организованы курсы ветеринарные УЗИ



5,9 кг

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



3,7 кг

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

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

Володина В. В.

АНАЛИЗ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ (*PHOCA CASPICA GMELIN, 1788*) В ПЛОДНЫЙ ПЕРИОД
*THE ANALYSIS OF THE HISTOLOGICAL STRUCTURE OF SOME ORGANS OF THE DIGESTIVE TRACT OF THE CASPIAN SEAL (*PHOCA CASPICA GMELIN, 1788*) IN THE FETAL PERIOD*

ФГУП «Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»

Адрес: 414056, Россия, г. Астрахань, ул. Савушкина, 1.

Тел./факс: +7 (8512) 25-25-81, 25-86-36. E-mail: kaspivy@astranet.ru

Caspian Fisheries Research Institute, Federal State Unitary Enterprise

Address: 414056, Russia, Astrakhan, Savushkina str., 1.

Tel./fax: +7 (8512) 25-25-81, 25-86-36. E-mail: kaspivy@astranet.ru

Володина Виктория Викторовна, к. б. н., ст. научн. сотрудник лаборатории ихтиопатологии
Volodina Victoria V., Ph.D. in Biology Science, Senior Researcher of the Laboratory of Ichthyopathology

Аннотация. Приведены материалы гистологического исследования некоторых органов пищеварительной системы: желудка, тонкого и толстого кишечника 7–8-месячных плодов каспийского тюленя. В ходе анализа зарегистрированы отклонения в развитии органов и тканей каспийской нерпы в плодный период. Выявленные изменения свидетельствуют о неудовлетворительном физиологическом состоянии обследованных животных.

Summary. The paper presents materials of the histologic study of some organs of the digestive tract, namely: stomach, small and large intestines of 7–8-month old Caspian seal fetuses. The analyses revealed abnormalities of organs and tissues of Caspian seal in the fetal period. Detected changes point to poor physiological state of the examined animals.

Введение

Развитие живого организма в сложных условиях современности связано с влиянием многочисленных экологических, эпидемических, эпизоотических и других стрессирующих факторов, которые часто приводят к срыву адаптационных возможностей организма, нарушению развития, появлению различных патологических процессов. Особую важность имеет внутриутробное развитие – период, когда закладываются все органы и системы, обуславливающие комплекс показателей морфофункционального статуса организма в дальнейшем онтогенезе [2]. Различные патологические состояния, сопровождающиеся недостаточностью приспособительных возможностей, снижением резистентности и иммунологической реактивности материнского организма во время беременности, способствуют развитию многочисленных патологий в структуре и функции тканей и органов плода [4]. Информация о морфофункциональном состоянии орга-

нов и тканей плодов каспийского тюленя – единственного морского млекопитающего на Каспии – чрезвычайно важна для оценки величины пополнения и физиологического состояния его популяции, подверженной негативному влиянию среды обитания.

В связи с этим целью нашей работы явилось изучение морфофункционального состояния плодов каспийского тюленя на основе гистологического анализа органов пищеварительного тракта.

Материал и методы

Биологический материал отбирали в северной части Каспийского моря во время научно-исследовательских экспедиций на предзимние залежки морских млекопитающих в конце октября – начале ноября 2011–2014 гг. Образцы тканей органов пищеварительного тракта (желудка, тонкого и толстого кишечника) двадцати четырех 7,0–8,0-мес. плодов фиксировали в растворе Буэна. Пробы заливали в парафин, срезы изготов-

ляли на микротоме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по методу Маллори [1].

Результаты исследований

В желудке у плодов тюленя четко выявлялись все оболочки. Стенка желудка плодов была представлена всеми четырьмя оболочками: слизистой, подслизистой основой, мышечной и наружной серозной.

Слизистая оболочка была покрыта однослойным цилиндрическим эпителием, который вдавался на разную глубину в собственную пластинку слизистой оболочки, образуя желудочные ямки. Желудочные валики напоминали кишечные ворсинки.

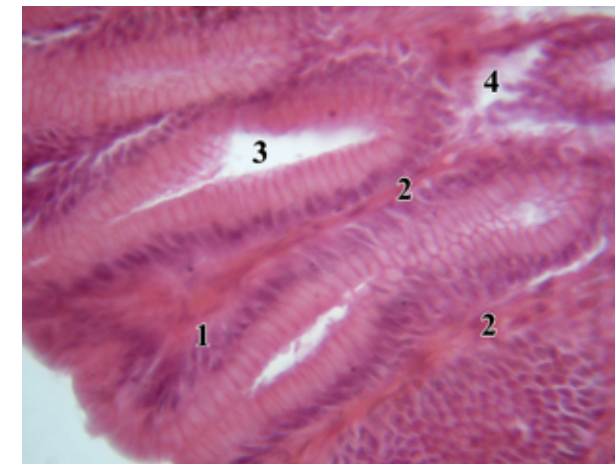


Рис. 1. Слизистая оболочка желудка плода каспийского тюленя. ОК10 ОБ100 Окраска по Маллори. 1. Клетки эпителия. 2. Кровеносные сосуды. 3. Желудочная ямка. 4. Некроз.

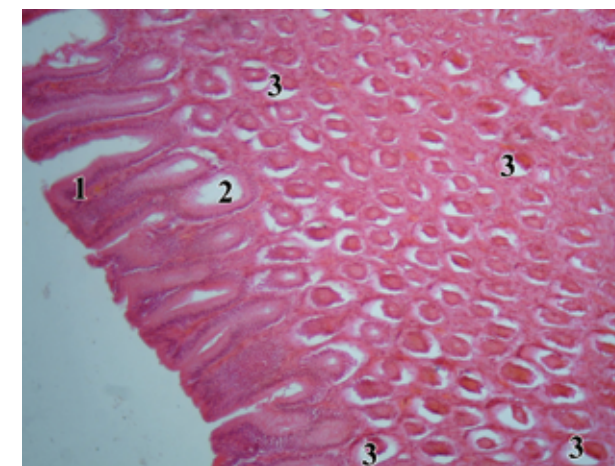


Рис. 2. Слизистая оболочка желудка плода каспийского тюленя. ОК10 ОБ40 Окраска по Маллори. 1. Клетки эпителия. 2. Слизистые клетки. 3. Отслоение эпителия желез от базальной мембраны.

Эпителий, выстилающий желудочные ямки, – однослойный столбчатый (рис. 1). На всем своем протяжении поверхность покровного эпителия была покрыта слизистым экссудатом, железистые клетки были гипертрофированы и плохо дифференцировались (рис. 2). При этом у 41,7 % обследованных особей выявляли участки с разрушенным поверхностным эпителием (рис. 3). Эпителиальные клетки желудочных ямок характеризовались разноразмерностью (рис. 1). В них часто встречались митозы. На некоторых небольших участках эпителиального пласта было заметно отслоение железистых клеток от базальных мембран (рис. 2).

В собственной пластинке слизистой оболочки выявлялись лимфоидные узелки. Между собственной пластинкой слизистой оболочки и подслизистой основой определялась очень тонкая мышечная пластинка слизистой оболочки: продольно и поперечно расположенные слои гладкомышечных клеток. Снаружи желудок покрывала тонкая серозная оболочка.

Были отмечены кровоизлияния в подслизистой основе, мелкие кровоизлияния в собственной пластинке слизистой оболочки.

В целом в желудке у плодов каспийского тюленя были выявлены патологические изменения: гипертрофия железистых клеток; разрушение поверхностного эпителия, кровоизлияния в подслизистой основе и в собственной пластинке слизистой оболочки.

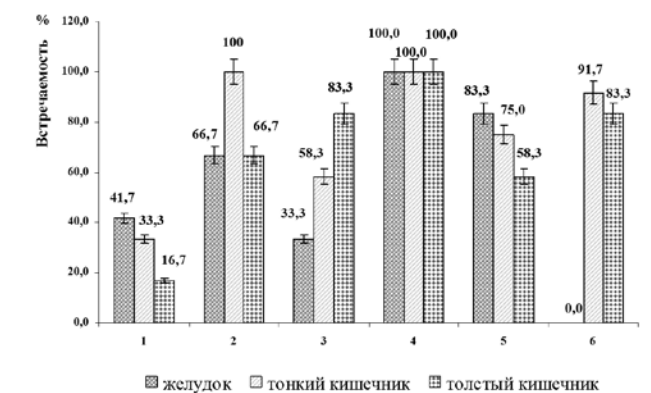


Рис. 3. Частота встречаемости патологических изменений в органах пищеварительного тракта плодов каспийского тюленя. 1 – некроз; 2 – гипертрофия, гиперплазия клеток; 3 – эрозии и кровоизлияния; 4 – дистрофия цитоплазмы эпителиоцитов; 5 – десквамация и гиперсекреция желез; 6 – разноразмерность и изменение формы кишечных ворсинок

Исследование **тонкого кишечника** показало, что на верхушках эпителиальных клеток кишечных ворсинок было отмечено отсутствие каемки, выявлена гиперплазия бокаловидных клеток, регистрировались мелкие эрозии и кровоизлияния (рис. 4, 5).

Кишечные ворсинки имели разную длину, толщину и форму (рис. 4). Концевые отделы кишечных ворсинок имели измененную форму. Сосуды подслизистой основы были расширены, заполнены плазмой и форменными элементами крови.

Анализ тонкого кишечника плодов каспийской нерпы позволил выявить следу-

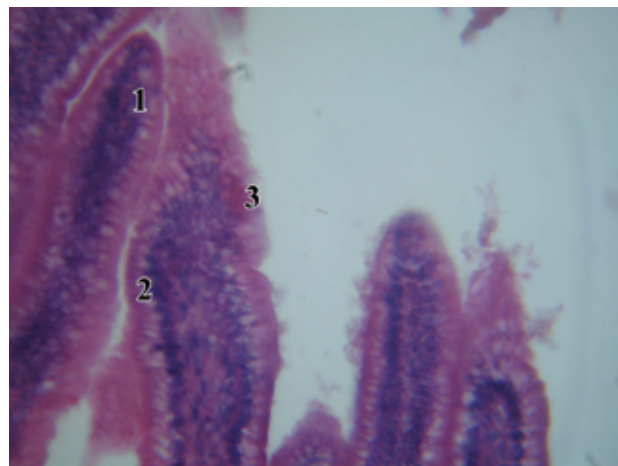


Рис. 4. Тонкий кишечник плода каспийского тюленя. ОК10 ОБ100 Гематоксилин-эозин. 1. Кишечная ворсинка. 2. Эпителий кишечной ворсинки. 3. Геморрагии.

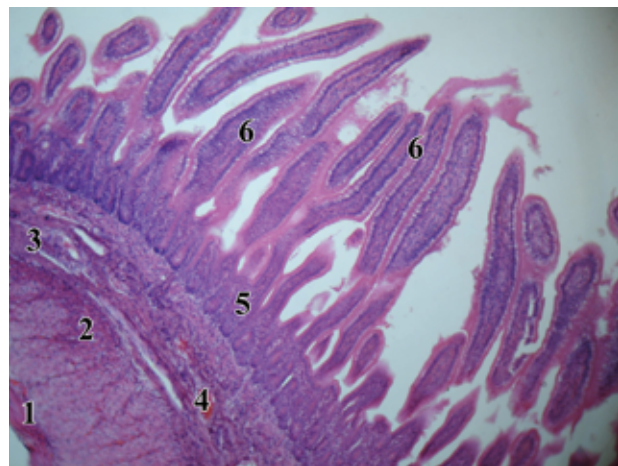


Рис. 5. Тонкий кишечник плода каспийского тюленя. ОК10 ОБ4 Гематоксилин-эозин. 1. Серозная оболочка. 2. Кольцевой слой мышечной оболочки. 3. Подслизистая основа. 4. Кровеносный сосуд. 5. Кишечные крипты. 6. Кишечные ворсинки.

ющие гистопатологические нарушения: гиперплазию бокаловидных клеток, эрозии и кровоизлияния, разноразмерность и изменение формы кишечных ворсинок, геморрагии в подслизистой основе.

В толстой кишке кишечные железы плодов тюленя были короткими, в их стенках имелось значительное количество гипертрофированных бокаловидных клеток (рис. 6). Часть цилиндрических каемчатых клеток была некротизирована. Поверхность эпителия была покрыта слоем слизи. Отмечена дистрофия цитоплазмы эпителиоцитов кишки (рис. 7), которая сочеталась с десквамаци-

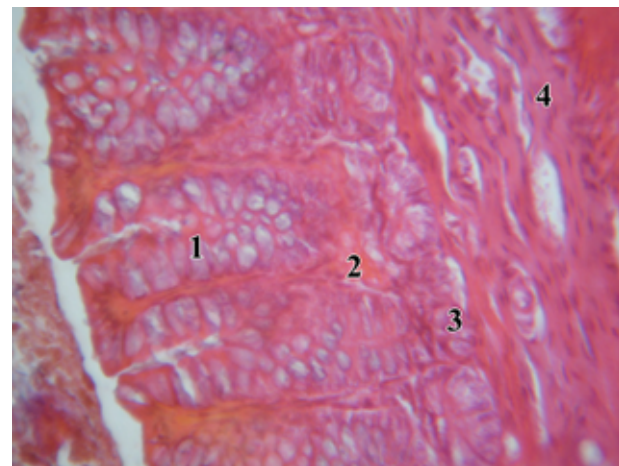


Рис. 6. Толстый кишечник плода каспийского тюленя. ОК10 ОБ40 Гематоксилин-эозин. 1. Гипертрофированные бокаловидные клетки. 2. Расширенный кровеносный сосуд. 3. Внутренний циркулярный слой мышечной пластинки слизистой оболочки. 4. Мышечная пластинка слизистой оболочки.

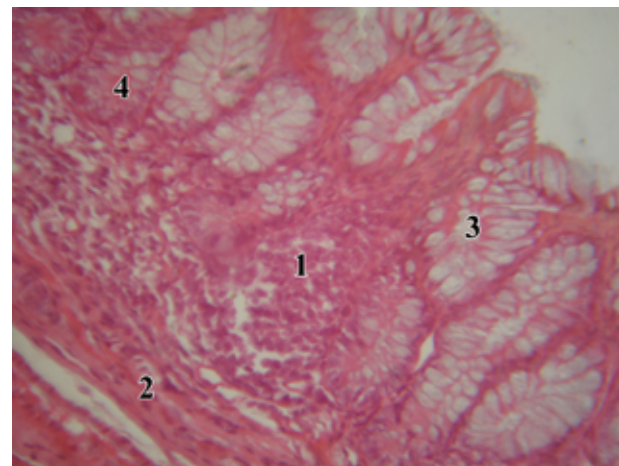


Рис. 7. Толстый кишечник плода каспийского тюленя. ОК10 ОБ40 Гематоксилин-эозин. 1. Лимфоидный узелок. 2. Мышечная оболочка. 3. Деструкция эпителия. 4. Кишечная крипта.

ей и гиперсекрецией желез. На поверхности слизистой оболочки были видны скопления слизистого экссудата (рис. 6).

Отмечены участки отслоения эпителия желез от базальной мембраны. Артериолы кишечных желез были расширены, выявлялись мелкие кровоизлияния. Выявлены кровоизлияния в собственной пластинке кишечных крипт с выходом форменных элементов крови на поверхность эпителия. Сосуды подслизистой основы также были расширены и заполнены плазмой крови. В подслизистой основе выявлялись незначительного размера лимфоидные узелки (рис. 7).

Гипертрофия бокаловидных клеток, некроз и дистрофия эпителия, десквамация и гиперсекреция желез, мелкие кровоизлияния в собственной пластинке кишечных крипт свидетельствуют об отклонении в гистопатологическом развитии толстого кишечника.

Обсуждение результатов

Материнский организм является для формирующегося организма внешней средой, и его здоровье полностью зависит от ее качества. Неблагоприятные изменения, происходящие в организме матери под влиянием болезни и негативных факторов среды обитания, несомненно, отражаются на физиологическом состоянии плода. Известно, что повреждение клеток обусловлено воздействием различных патологических факторов (механические воздействия, химические вещества и др.). Некроз, выявленный у 16,7–41,7 % плодов в отделах пищеварительного тракта, свидетельствует о поражающем действии веществ антропогенного и/или биологического происхождения на беременных самок.

Отслойка и разрыв эпителиального пласта от базальной мембраны, десквамация каемчатых клеток с верхушек кишечных ворсинок, обильное ослизнение эпителия кишечных ворсинок, увеличение количества бокаловидных клеток, инфильтрация лейкоцитами подслизистой основы, эрозии и многочисленные мелкие кровоизлияния, зарегистрированные у каспийских нерп в плодный период, могли быть спровоцированы влиянием нефти и нефтепродуктов на ма-

теринский организм. Подобные патологические изменения выявлены у гидробионтов в экспериментальных условиях при действии сырой нефти в концентрации 1,0 мг/л в течении 25 суток [3]. Очевидно, что система плацентарного барьера не способна противостоять вредным токсинам, поступающим в организм плода от матери; выявленные изменения, зарегистрированные у 7–8 плодов каспийских нерп, могли быть обусловлены как паразитарными инвазиями, вирусами и бактериальными инфекциями, присутствующими в материнском организме, так и гемотоксичным действием комплекса загрязняющих веществ водоема.

Выводы

Факторы среды, длительно воздействующие на беременных самок тюленей, стали для их плодов повреждающими, при этом функциональная активность и процесс функционирования пищеварительной системы стал патологическим. В желудке у всех обследованных тюленей в плодный период выявлены следующие нарушения: гипертрофия железистых клеток, разрушение поверхностного эпителия, кровоизлияния в подслизистой основе и в собственной пластинке слизистой оболочки. В процессе исследования тонкого кишечника обследованных особей выявлены патологии: гиперплазия бокаловидных клеток, эрозии и кровоизлияния, некроз, разноразмерность и изменение формы кишечных ворсинок, геморрагии в подслизистой основе. В толстом кишечнике проанализированных нерп обнаружена гипертрофия бокаловидных клеток, некроз и дистрофия эпителия, десквамация и гиперсекреция желез, мелкие кровоизлияния в собственной пластинке кишечных крипт. Общая тенденция пищеварительной системы плодов характеризуется недостаточным развитием ворсинок, лимфоидного аппарата, складок слизистой и мышечной оболочек. Таким образом, результаты гистопатологических исследований 7–8 месячных плодов каспийского тюленя указали на неудовлетворительное состояние органов пищеварительного тракта.

Список литературы

1. Волкова, О. В. Основы гистологической техники [Текст] / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М. : Медицина, 1982. – 304 с.
2. Каузова, А. С. Морфофункциональные особенности эмбрионов крыс, получавших в период беременности новый биологически активный препарат на основе эмбрионально-яичной массы и растительного сырья [Текст] : дисс. ... канд. биол. наук :

03.00.30 / Каузова Алла Станиславовна. – Ставрополь, 2009. – 24 с.

3. Крючков, В. Н. Морфология органов и тканей водных животных [Текст] / В. Н. Крючков, Г. М. Абдурахманов, Н. Н. Федорова. – М. : Наука, 2004. – 144 с.

4. Мучаидзе, Ю. А. Иммунологические показатели матерей новорожденных с низкой массой тела при рождении [Текст] / Ю. А. Мучаидзе // Акушерство и гинекология. – 1990. – № 3. – С. 16–18.

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. Листерииоз
8. Лептоспироз
9. Моноцитарный эрлихиоз
10. Эпизоотический лимфангит
11. Язвенный лимфангит
12. Мыт
13. Кровапятнистая 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 619:616.33-02-091:636.2

Ключевые слова: телята, желудочно-кишечная патология, воспроизведение, органы пищеварения, надпочечник, аденогипофиз, морфометрия, гистохимия, ультраструктура

Key words: calves, gastrointestinal pathology, reproduction, digestive organs, renal gland, prepituitary gland, morphometry, histochemistry, fine structure

Сулейманов С. М., Павленко О. Б., Сапожкова О. А., Слободяник В. С., Грачева О. И.

СТРУКТУРА ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ И ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ
ПРИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ
THE STRUCTURE OF DIGESTIVE ORGANS AND ENDOCRINE GLANDS
IN NEWBORN CALVES WITH GASTROINTESTINAL PATHOLOGY

¹ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I»

Адрес: 394087, Россия, г. Воронеж, ул. Мичурина, 1

¹Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University. Address: 394087, Russia, Voronezh, Michurin Str., 1

²ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Адрес: 394036, Россия, г. Воронеж, пр. Революции, 19

²Voronezh State University of Engineering Technologies

Address: 394036, Russia, Voronezh, Revolyutsii pr., 19

³БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1»

Адрес: 394066, Россия, г. Воронеж, Московский пр., 151

³Voronezh Regional Clinical Hospital No. 1. Address: 394066, Russia, Voronezh, Moskovsky pr., 151

Сулейманов Сулейман Мухитдинович, д. в. н., проф. каф. анатомии и хирургии¹

Suleymanov Souleymane M., Doctor of Veterinary Medicine, Professor of the Dept. of Anatomy and Surgery¹

Павленко Ольга Борисовна, к. в. н., доцент каф. анатомии и хирургии¹

Pavlenko Olga B., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor of the Dept. of Anatomy and Surgery¹

Сапожкова Ольга Александровна, к. в. н., доцент каф. ветеринарно-санитарной экспертизы¹

Sapozhkova Olga A., Ph.D. in Veterinary Science,

Associate Professor of the Dept. of Veterinary and Sanitary Examination¹

Слободяник Валентина Сергеевна, д. б. н.,

проф. каф. технологии продуктов животного происхождения²

Slobodyanik Valentina S., Doctor of Biological Sciences,

Professor of the Dept. of Technology of Products of Animal Origin²

Грачева Ольга Игоревна, зав. лабораторией биохимии³

Gracheva Olga I., Head of the Laboratory of Biochemistry³

Аннотация. В данной статье с использованием гистологических и электронно-микроскопических методов исследований дана морфофункциональная характеристика структурной организации органов пищеварения и эндокринных желез у новорожденных телят при экспериментальном воспроизведении и спонтанном возникновении желудочно-кишечной патологии. Установлено, что как при неинфекционной, так и при инфекционной желудочно-кишечной патологии у новорожденных телят в патологический процесс на структурно-функциональном уровне вовлекаются органы пищеварения и эндокринные железы. Однако изменения по глубине и обратимости в органах пищеварения и эндокринных железах при инфекционной желудочно-кишечной патологии имели воспалительный характер.

Summary. The paper presents morphofunctional characteristics of the structural organization of the digestive system and the endocrine glands of newborn calves in experiment and at spontaneous development of gastrointestinal pathology. The authors used histological and electron microscopic research methods. It is found that the digestive organs and endocrine glands of newborn calves are involved in the pathological process on the structural and functional level in case of both non-infectious and infectious gastrointestinal pathology. However, the changes in depth and reversibility in the digestive organs and the endocrine glands in calves with infectious gastrointestinal pathology were of inflammatory nature.

Введение

Известно [2, 3], что переход от антенатального к постнатальному периоду существования новорожденного характеризуется катаболическим типом обмена веществ

и снижением резистентности. В этот период организм оказывается особенно чувствительным к дополнительным воздействиям внешней среды, если они носят повреждающий характер; в первую очередь патоло-

гические явления возникают в пищеварительном тракте, где организм сталкивается с неблагоприятными факторами в условиях искусственного вскармливания. Поэтому одной из наиболее злободневных проблем промышленного молочного скотоводства 70-х годов прошлого столетия являлась неинфекционная желудочно-кишечная патология новорожденных телят [8, 1, 6]. Однако тогда, несмотря на большое число самых разносторонних исследований, не были окончательно выяснены ее пусковые механизмы из-за отсутствия экспериментальных подтверждений.

Тогда, учитывая взгляды о роли стресса и резистентности [7, 9, 4] в возникновении патологии, возникла необходимость в выяснении некоторых аспектов морфо- и патогенеза желудочно-кишечной патологии инфекционного и незаразного характера у новорожденных телят путем экспериментального воспроизведения заболевания, что было осуществлено в середине 70-х годов прошлого столетия и явилось целью настоящей работы.

Материал и методы

Опыты проводились на МТФ колхозов «Золотой Колос» Новоусманского и «Большевик» Каширского районов Воронежской области. Первое хозяйство было благополучным по инфекционной желудочно-кишечной патологии телят, а второе – неблагополучное по колибактериозу. Материалом служили образцы органов пищеварительной и эндокринной систем телят из каждой группы (по 3 головы). Использовались общепринятые методы световой и электронной микроскопии.

Результаты исследований

В норме структурная организация слизистой оболочки сычуга и тонкого кишечника у клинически здоровых новорожденных телят была в пределах физиологической нормы соответственно периоду новорожденности, и патологические изменения в ней не были выявлены.

В частности, слизистая оболочка сычуга была покрыта трубчатыми фундальными же-

лезами с разветвленными концевыми отделами, открывающимися в желудочные ямки. В железах четко различались шейка, тело и дно (рис. 1а). Шейка трубчатых желез соответствовала ее выводным протокам, а тело и дно – секреторным отделам. У желез наблюдались заметные просветы, состоящие преимущественно из главных однослойных призматических клеток. В них четко выделялись базальные и апикальные полюсы. В базальном полюсе клеток располагалось овальное ядро в окружении эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, а в апикальном – выявлялись многочисленные секреторные гранулы с единичными митохондриями и микроворсинками на апикальной поверхности (рис. 1б).

Слизистая оболочка тонкой кишки состояла из множества тонких пальцевидных параллельных ворсинок, покрытых однослойным призматическим эпителием. Они базировались на толстом слое крипт. Собственная пластинка ворсин состояла из широкой пластинки хорошо выраженной рыхлой соединительной ткани (рис. 1в). Апикальная поверхность энтероцитов была покрыта хорошо выраженными многочисленными параллельными микроворсинками, а цитоплазма энтероцитов содержала ядро с базальным расположением и множество дифференцированных органоидов в апикальной части клеток (рис. 1г).

У телят первой группы наблюдались изменения в органах пищеварения в виде наличия грязно-серого содержимого в сычуге со слабым неприятным запахом, загрязнения рубца сероватой жидкостью с кусочками соломы, катарального воспаления на слизистых оболочках сычуга и тонкого кишечника, что характерно для неинфекционной желудочно-кишечной патологии. При бактериологическом исследовании содержимого тонкого кишечника лабораторией микробиологии института патогенная культура колибактериоза и других микроорганизмов выделена не была. Такие же макроскопические изменения имели место лишь у одного (из 5) теленка второй группы в органах пищеварения, но в значительно меньшей степени.

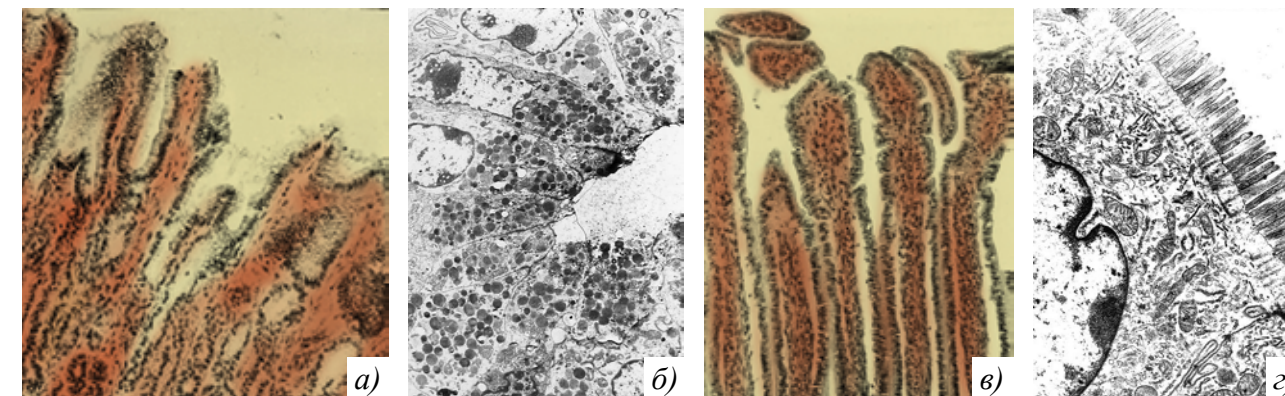


Рис. 1. Слизистая оболочка сычуга (а, б) и тонкой кишки (в, г) у клинически здоровых телят. Микроструктура фундальной части сычуга (а) и ультраструктура гастроцитов (б). Микроструктура ворсинок тощей кишки (в) и ультраструктура энтероцита с выраженными микроворсинками (г). а, в – окр. г-э.; ув. ок. 8; об. 10; б, г – ув. × 6100.

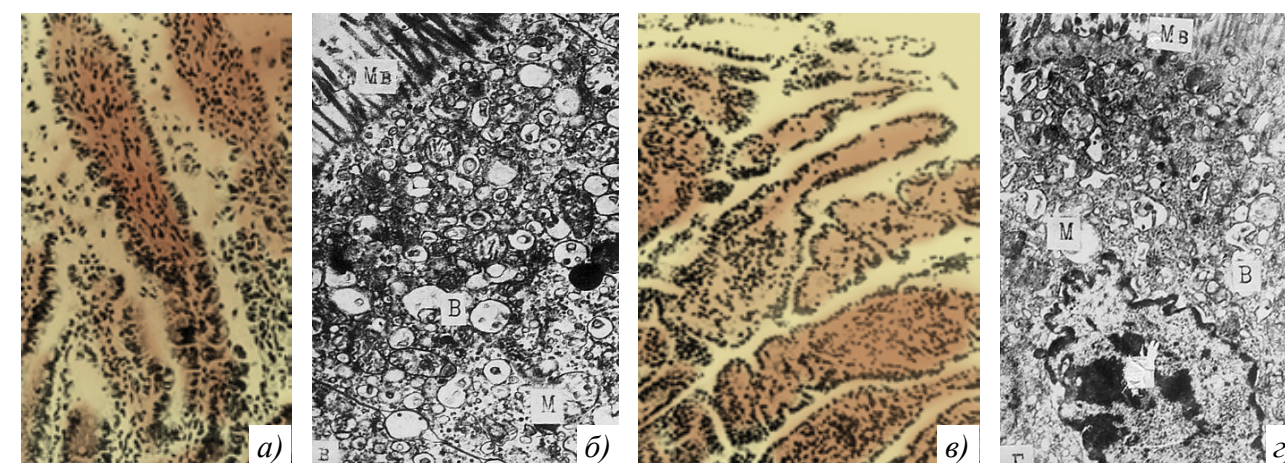


Рис. 2. Тонкий кишечник. Десквамативный катар (а) и повреждение мембранных структур и вакуолизации энтероцита (б) при экспериментальной желудочно-кишечной патологии. Воспалительный процесс (в) и некробиоз энтероцита (г) в слизистой оболочке при колибактериозе. а, в – окр. г-э.; ув. ок. 8; об. 10; б, г – ув. × 6100.

Изменения в слизистой оболочке тонкого кишечника у телят первой группы при экспериментальной желудочно-кишечной патологии характеризовались наличием острого десквамативного катара, местами оголения ворсинок с отеком собственной пластинки и дистрофии в энтероцитах (рис. 2а). В ультраструктурной организации энтероцитов наблюдались дистрофические процессы в виде вакуолизации цитоплазмы, повреждения мембранных структур и микроворсинок, просветления матрикса митохондрий и фрагментации крист (рис. 2б).

На вскрытии телят из другого хозяйства на фоне спонтанного возникновения заболевания инфекционной природы наблюдалось истощение, сухость подкожной клетчатки и серозных полостей, наличие геморрагического воспаления в слизистой оболочке сычуга и тонкого кишечника, а также нару-

шение гемодинамики в паренхиматозных органах.

Изменения на уровне световой микроскопии наблюдались в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, где ворсинки на основании расширялись, были отечными и содержали мелкие кровоизлияния, очаги скопления единичных лимфоидных клеток и лейкоцитов (рис. 2в), а в ультраструктуре клеток, как правило, на слизистой оболочке тонкого кишечника носили воспалительный характер. В энтероцитах происходили: лизис и вакуолизация органоидов цитоплазмы, фрагментация ядерной оболочки и сморщивание ядра (рис. 2г).

Изменения в печени телят при экспериментальной желудочно-кишечной патологии характеризовались наличием преимущественно жировой дистрофии диффузного характера и нарушением гемодинамики ор-

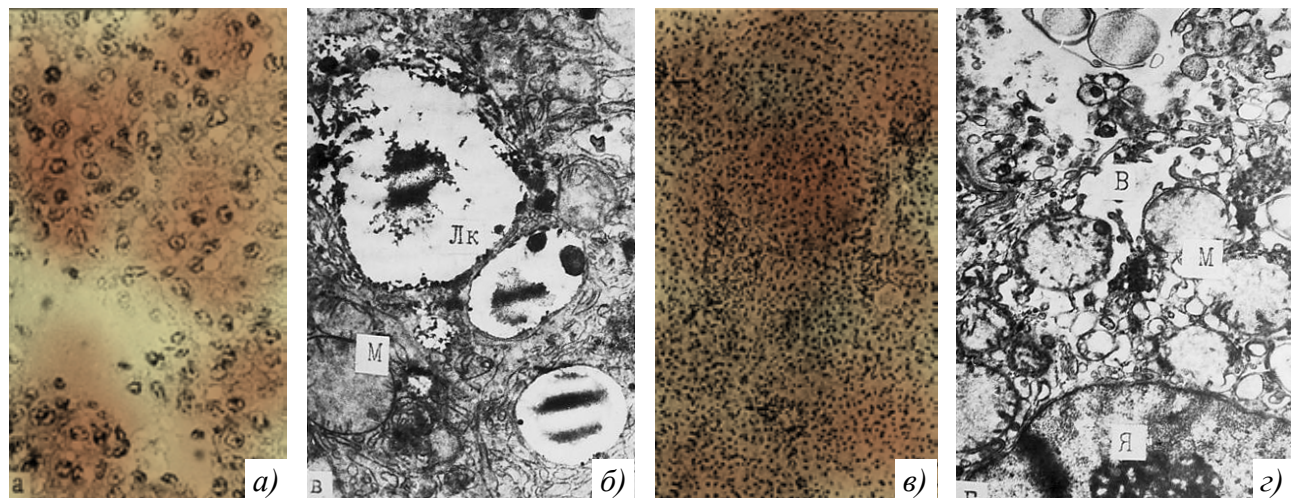


Рис. 3. Печень. Жировая дистрофия (а) и накопление липидных включений в гепатоцитах (б) при экспериментальной желудочно-кишечной патологии. Периваскулярные лимфоидные муфты, нарушение гемодинамики и зернистая дистрофия гепатоцитов в печени (в) и лизис органоидов гепатоцита при колибактериозе (г). а, в – окр. г.-э.; ув. ок. 8, об. 40 (а), 10 (в); б, г – ув. × 10000.

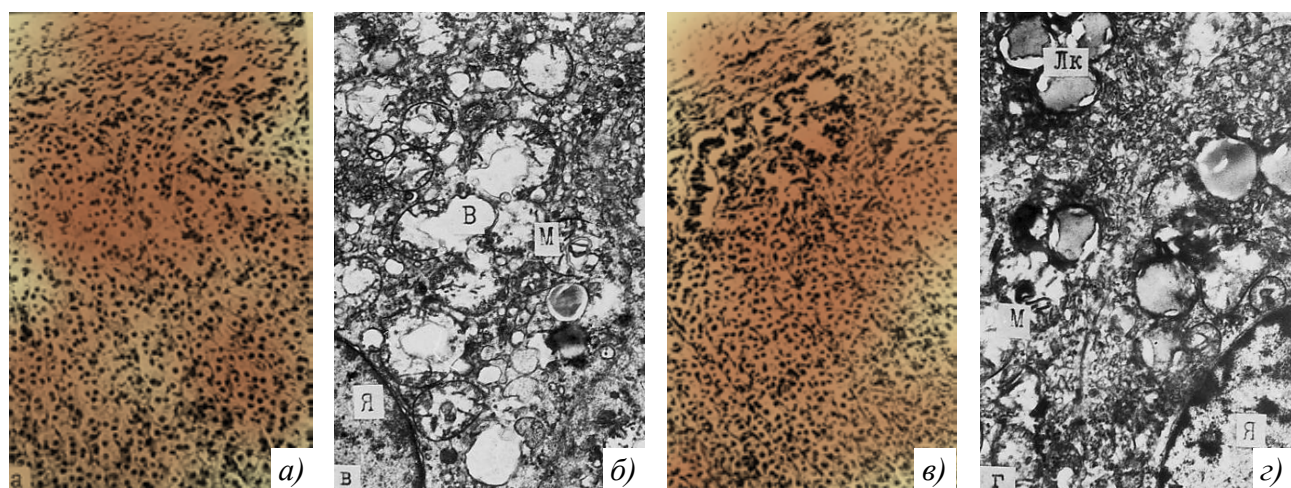


Рис. 4. Надпочечник. Дистрофические процессы в коре (а) и вакуолизация цитоплазмы и митохондрий (б) при экспериментальной желудочно-кишечной патологии. Некробиоз клеток клубочковой и пучковой зон коры (в) и некробиоз кортикоида (г) при колибактериозе. а, в – окр. г.-э.; ув. ок. 8; об. 10; б, г – ув. × 6100.

гана (рис. 3а), что наглядно просматривалось в ультраструктуре гепатоцитов (рис. 3б). Тогда как в печени у телят, больных кишечной формой колибактериоза, наблюдалось наличие зернистой дистрофии, некробиоза, гемосидероза клеток, нарушение гемодинамики, иногда в виде мелких диапедезных кровоизлияний, увеличение количества лимфоидных клеток в периваскулярных зонах и купферовских клеток по ходу кровеносных капилляров при отсутствии развития – жировой дистрофии (рис. 3в). В ультраструктуре же гепатоцитов было установлено расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети с ее фрагментацией и дегрануляцией, набухание митохондрий, просветление

их матрикса и дезорганизация крист, вакуолизация цитоплазмы (рис. 3г).

У телят при неинфекционной экспериментальной желудочно-кишечной патологии в надпочечниках наблюдались нарушения гемодинамики в корковом слое, а также дистрофии клеток преимущественно клубочковой и пучковой зон (рис. 4а). Здесь же активность сукцинатдегидрогеназы была значительно выше, имелась тенденция к увеличению активности щелочной фосфатазы и уменьшению активности неспецифической эстеразы карбоновых кислот, чем в надпочечниках у телят, больных кишечной формой колибактериоза. При этом отмечено избыточное накопление липидов в клетках преимущественно

пучковой и сетчатой зон с их некробиозом (рис. 4б) и увеличением толщины коры надпочечников (табл. 1).

У телят при экспериментальной неинфекционной желудочно-кишечной патологии электронномикроскопически в клетках коры надпочечников отмечалось просветление матрикса митохондрий, явление полиморфизма в последних, очаговое увеличение количество липидных включений, повреждение и лизис мембранных структур эндоплазматической сети (рис. 4б). При спонтанном возникновении заболевания инфекционного характера ультраструктурные изменения в клетках коры надпочечников были представлены вакуолизацией матрикса митохондрий и цитоплазмы, фрагментацией мембран эндоплазматической сети и митохондрий, накоплением сливающихся форм липидных включений и автофагирующих вакуолей, цитолизом и отечностью кариоплазмы ядер (рис. 4г) и достоверным увеличением объема ядер (табл. 1).

В аденогипофизе у телят при экспериментальной неинфекционной желудочно-кишечной патологии наблюдалось увеличение количества хромофильных клеток при уменьшении количества хромофобных и значительное количество ацидофильных клеток (табл. 1). Последние находились в состоянии некробиоза у телят, больных колибактериозом. При этом некоторые дистрофические ацидофилы, иногда сливаясь, представлялись в виде многоядерной гигантской клетки.

Электронномикроскопически при экспериментальной неинфекционной желудочно-кишечной патологии в аденоцитах преобладали округлые с просветленными или вакуолизированными матриксами митохондрии, отмечено расширение цистерн комплекса Гольджи, содержащих электронно-прозрачный зернистый материал, и увеличение числа мелких секреторных гранул. При колибактериозе в аденоцитах наблюдалось повреждение мембранных структур клетки с ее вакуолизацией и появление в цитоплазме округлого образования размером в одну треть ядра с мелкозернистым содержанием.

Заключение

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что как при неинфекционной, так и при инфекционной желудочно-кишечной патологии у новорожденных телят в патологический процесс на структурно-функциональном уровне вовлекаются органы пищеварения и эндокринные железы. Однако изменения по глубине и обратимости в органах пищеварения и эндокринных железах при инфекционной желудочно-кишечной патологии имели воспалительный характер.

Следовательно, массовые заболевания в ветеринарии обусловлены не только заразными болезнями животных, но и популяционным явлением незаразного характера, имеющим очевидные эпизоотологические признаки, которые относятся к факторным заболеваниям за счет условно-патоген-

Таблица 1.
Морфометрические показатели органов у больных телят

Показатели	Экспериментальная неинфекционная желудочно-кишечная патология (M±m)	Колибактериоз (кишечная форма) (M±m)
Объем ядер печени (мкм ³)	120,75±5,58	125,1±4,41
Объем ядер пучковой зоны коры надпочечника (мкм ³)	126,25±4,13	146,12±7,47
Толщина коркового слоя надпочечника (мкм)	1066,83±92,26	1127,29±89,95
Количество клеток аденогипофиза (%):		
- хромофобы	51,46±2,5	54,47±3,68
- ацидофилы	45,86±3,16	41,91±3,68
- базофилы	2,68±0,66	3,62±0,4

ной, оппортунистической или иной микрофлоры – эшерихий, вызывающих тяжелые желудочно-кишечные патологии у новорожденных телят [5].

Список литературы

1. Аликаев, В. А. успехи и проблемы науки и практики в борьбе с болезнями молодняка [Текст] / В. А. Аликаев // Ветеринария. – 1967. – № 11. – С. 73–77.
 2. Аршавский, А. И. Механизмы и особенности физиологического патологического стресса в различные возрастные периоды [Текст] / А. И. Аршавский // Актуальные проблемы стресса : сб. – Кишинев, 1976. – С. 5–23.
 3. Бузлама, В. С. Методика воспроизведения диспепсии у новорожденных телят [Текст] / В. С. Бузлама, С. М. Сулейманов, О. И. Грачева // Вопросы экспериментальной и клинической энтерологии : тр. Воронежского мед. ин-та. – Т. 96. – Воронеж, 1976. – С. 57–60.

4. Горизонтов, П. Д. Роль АКТГ и кортикостероидов в патологии (к проблеме стресса) [Текст] / П. Д. Горизонтов, Т. Н. Протасова. – М. : Медицина, 1969. – 514 с.
 5. Макаров, В. В. Популяционный уровень явлений и эпизоотология неинфекционных болезней [Текст] / В. В. Макаров, В. А. Грубый // Очерки истории борьбы с инфекционными болезнями. Часть 2. Новейшая история. – Владимир, 2014. – С. 98–100.
 6. Порохов, Ф. Ф. Об этиологии диспепсии новорожденных телят [Текст] / Ф.Ф. Порохов // Ветеринария. – 1967. – № 11. – С. 57–61.
 7. Селье, Г. Адаптивные стероиды. Развитие проблемы и перспективы [Текст] / Г. Селье // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1971. – Т. 15. – № 2. – С. 3–18.
 8. Цион, Р. А. Дифференциальная диагностика диспепсии, колибактериоза и паратифа телят [Текст] / Р. А. Цион // Ветеринария. – 1966. – № 5. – С. 50–54.
 9. Щукин, П. И. Защитные реакции организма и наследственность [Текст] / П. И. Щукин // Известия АН СССР. – 1972. – № 5. – С. 690–706.

УДК 619:616.98:578.834.11:638.52/.58:616-076

Ключевые слова: инфекционный бронхит кур, полимеразная цепная реакция, диссеминация вируса в организме
 Key words: infectious bronchitis virus, polymerase chain reaction, virus dissemination in chicken

Дандал А. Ш., Кулаков В. Ю., Сухарев В. Ю., Макаров В. В.

**ПАТОГЕНЕЗ ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР. СООБЩЕНИЕ 2.
 ДИССЕМИНАЦИЯ ВИРУСА В ОРГАНИЗМЕ ЦЫПЛЯТ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ПЦР
 THE INFECTIOUS BRONCHITIS PATHOGENESIS. PART 2.
 THE INVESTIGATION BY PCR OF VIRUS DISSEMINATION IN CHICKENS**

¹ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»
 Адрес: 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
¹Peoples' Friendship University of Russia

Address: 117198, Russia, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 6

²ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

³FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARIAH")

Address: 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets

Дандал Али Шилбли, аспирант¹. E-mail: alidandal@mail.ru

Dandal Ali Sh., Postgraduate¹. E-mail: alidandal@mail.ru

Кулаков Владимир Юревич, к. в. н., вед. науч. сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц²

Kulakov Vladimir Ju., Ph.D. in Veterinary Science,

Leading Research Scientist of the Laboratory of avian disease prevention²

Сухарев Олег Иванович, д. в. н., проф. каф. клинической ветеринарии¹

Sukharev Oleg I., Doctor of Veterinary Medicine, Professor of the Dept. of Clinical Veterinary Medicine¹

Макаров Владимир Владимирович, д. б. н., проф. каф. клинической ветеринарии¹

Makarov Vladimir V., Doctor of Biology Science, Professor of the Dept. of Clinical Veterinary Medicine¹

Аннотация. С помощью количественной ПЦР исследована кинетика диссеминации вируса ИБК штаммов «Н-120», «4/91» и «QX» в организме 10-суточных цыплят. По отношению к штамму «Н-120» (референт) определены коэффициенты относительной адаптированности исследуемых штаммов к тканям различных органов.

Summary. The dissemination kinetics of infectious bronchitis virus (strains "H-120", "4/91" and "QX") in the body of 10-day-old chickens was studied by using quantitative PCR. The coefficients of relative adaptation for the studied strains to the tissues of various organs were determined in relation to the (referent) strain "H-120".

Введение

Возбудитель инфекционного бронхита кур (ИБК) – РНК-содержащий вирус семейства *Coronaviridae* – обладает широким тканевым тропизмом, что обуславливает разнообразие клинических симптомов заболевания. Считается, что ткани дыхательной системы – главная мишень вируса [1, 6, 7]. Однако некоторые штаммы могут вызывать тяжелые поражения почек, а в респираторном тракте обуславливают лишь слабое воспаление. При этом другие штаммы поражают только ткани респираторного тракта [9].

На практике клиническая диагностика ИБК имеет определенные сложности, что затрудняет проведение соответствующих ограничительных и профилактических мероприятий. В этой связи изучению патогенеза ИБК уделяется большое внимание [8].

Целью настоящей работы явилось сравнительное исследование процесса распространения (диссеминации) в организме птицы различных штаммов вируса ИБК и оценка их преимущественного тропизма с использованием ПЦР.

Материалы и методы

В работе использовали штаммы вируса ИБК: вакцинный «Н-120» серотипа Массачусетс, вакцинный «4/91» серотипа 793/В, эпизоотический депонированный RF08-10 генотипа «QX», культивируемые в SPF-эмбрионах кур, в виде лиофилизированной вируссодержащей экстраэмбриональной жидкости с инфекционными титрами в диапазоне 6,7÷7,0 lgЭИД₅₀/см³.

В качестве подопытных использовали выведенных из SPF-эмбрионов кур клиниче-

реклама



**НОУ ДО «ИНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»
 г. Санкт-Петербург**

Курсы повышения квалификации



- Основы ультразвуковой диагностики в ветеринарии
- Частная ультразвуковая диагностика в ветеринарии
- Рентгенодиагностика в ветеринарии
- Лабораторная диагностика в ветеринарии
- Основы ветеринарной кардиологии
- Основы эхокардиографии в ветеринарии
- Частная ветеринарная кардиология

Предварительная регистрация обязательна! Справки по тел. +7 921 095-89-27

График проведения и информация на сайте: www.invetbio.spb.ru/seminars.html

Лицензия Комитета по образованию Санкт-Петербурга на осуществление образовательной деятельности по образовательным программам дополнительного профессионального образования № 1093 от 04.08.2014 г.

ски здоровых цыплят в возрасте 15 суток. Рацион кормления, температурный режим и освещенность помещений соответствовали зооигиеническим нормам содержания птиц данной возрастной категории.

При постановке полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР-РВ) нуклеиновую кислоту выделяли на роботизированной станции Tecan Freedom EVO-100 из 100 мкл образца суспензии с помощью набора «Magna DNA Prep 100» (ООО БиоКом, г. Москва). Использовали систему праймеров и флуоресцентно-меченого олигонуклеотидного зонда, выбранных для амплификации фрагмента нетранслируемой области генома вируса (UTR) согласно методическим указаниям [4]. Учет результатов реакции проводили при помощи прибора Corbett research Real-Time PCR System (Rotogene, Австралия), где регистрировали количество циклов амплификации.

Результирующим показателем принят номер цикла, при котором был достигнут пороговый уровень флуоресценции продуктов реакции (Ct-пороговый цикл). Величину ожидаемого титра вируса ИБК рассчитывали по формуле:

$${}^{\circ}\text{lgT} = (-0,2648) \text{Ct} + 9,3919,$$

где ${}^{\circ}\text{lgT}$ – искомая величина титра для заданного значения Ct в диапазоне $10 \leq \text{Ct} \leq 35$ [2]. Использованная модель предполагает, что количество циклов амплификации находится в обратной зависимости от концентрации исходного генетического материала.

Для статистической обработки данных применяли стандартные методы оценки выборок варьирующих переменных, в том числе с использованием непараметрической статистики [3, 5]. Вычислительные операции и графические построения выполняли с помощью приложения Microsoft Office Excel.

Результаты и обсуждение

Соответственно исследуемым штаммам вируса образовали 3 опытные группы цыплят («Н-120», «4/91» и «QX») по 50 голов и одну контрольную группу в 30 голов.

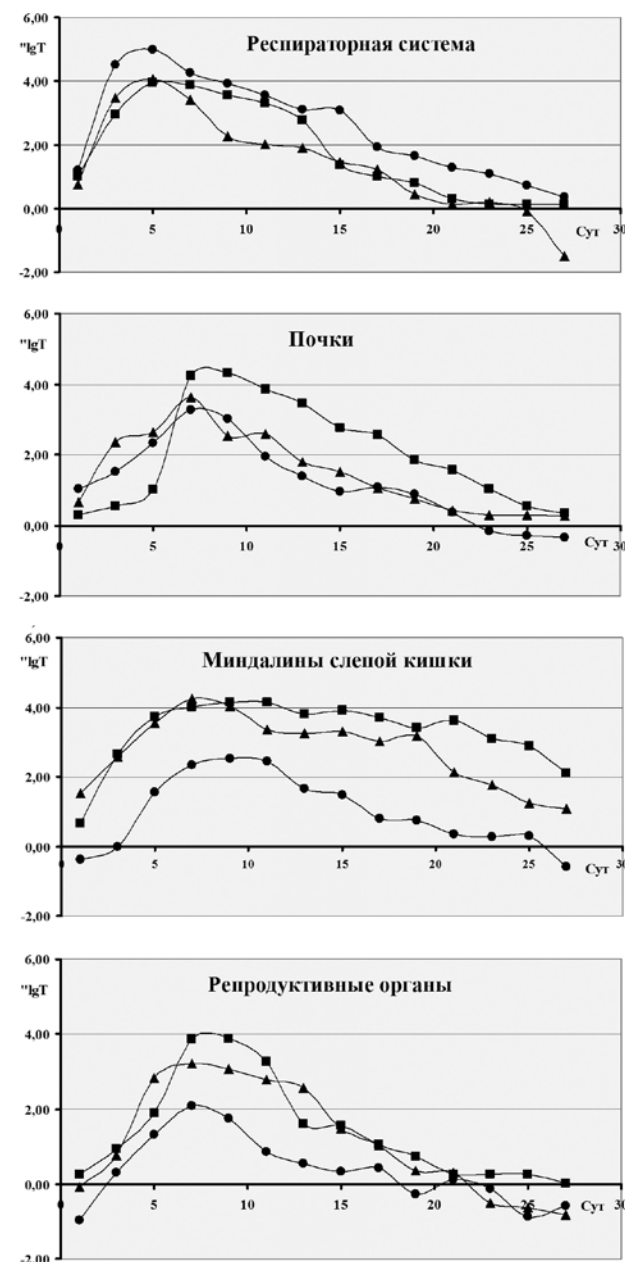


Рисунок. Динамика накопления вируса ИБК (${}^{\circ}\text{lgT}$ – прогнозируемая величина титра по данным ПЦР) в пробах тканей различных органов птиц соответствующих штаммов (● «Н-120», ▲ «4/91», ■ «QX») и времени после заражения (сут.).

В опытных группах провели окуло-назальное заражение. Для всех штаммов была принята одинаковая заражающая доза 10^4 ЭИД₅₀. Птица контрольной группы оставалась интактной.

Во всех группах был назначен ежедневный клинический осмотр птиц. Через заданные интервалы времени из опытных групп отбирали по 3 цыпленка, а также по одному цыпленку из контрольной группы. После эвтаназии при вскрытии у каждого цыпленка асептически отбирали образцы тканей ды-

хательной системы (трахеи и легких), почек, миндалин слепой кишки и репродуктивных органов. Пробы замораживали при -35 °С и использовали для выделения вирусного генома с последующим тестированием в ПЦР.

Через 5–7 суток после заражения во всех опытных группах наблюдали признаки респираторной патологии (кашель, трахеальные хрипы и носовые выделения). В группе «QX» у цыплят отмечена слабость, заметное снижение аппетита и гибель 2 птиц на 5 суток после заражения.

При исследовании распространения вируса в организме подопытных цыплят по данным ПЦР в полученных образцах тканей различных органов соответственно испытанным штаммам в динамике определяли показатели Ct и проводили расчет ожидаемых величин ${}^{\circ}\text{lgT}$. Полученные результаты в виде диаграмм приведены на рисунке.

Представленные диаграммы показывают, что инфекционный процесс для всех исследуемых штаммов в большинстве случаев имел схожие черты. Прослеживалась начальная фаза (рост инфекционного титра), фаза максимального накопления и фаза снижения концентрации возбудителя (регрессия титра).

Однако при сохранении общей картины по количественным показателям штаммы имели различия. Вирус штамма «Н-120» наиболее эффективно репродуцировался в респираторной системе. В других органах его размножение было менее интенсивно. Особенно указанное отставание было заметно в тканях миндалин слепой кишки.

Штамм «4/91» в респираторной системе хронологически достигал максимума своего накопления менее чем за 5 суток. Однако его наибольший титр был примерно на порядок ниже, чем у штамма «Н-120». Эффективность развития штамма «QX» в респираторных органах была несколько ниже, чем у штамма «Н-120», но в период с 5 по 10 сутки заметно превышала репродукцию штамма «4/91».

В почках после 7 суток постоянным превосходством обладал штамм «QX». В миндалинах слепой кишки и репродуктивных органах интенсивность развития штаммов «QX» и «4/91» была приблизительно одинаковой.

Возможно допустить, что для всех штаммов первые две прогрессивные фазы инфекционного процесса в большей степени были зависимы от адаптированности вируса к данному типу ткани. При этом регрессия титров, наблюдаемая в основном после 7 суток, вероятно, являлась результатом развития иммунной реакции со стороны организма.

Исключение составляют процессы, зарегистрированные в миндалинах слепой кишки. В указанных органах количество генетического материала штаммов «QX» и «4/91» на протяжении всего эксперимента превосходило концентрацию продуктов репродукции штамма «Н-120». При этом ожидаемые различия инфекционных титров относительно отмеченного штамма в среднем должны составлять более 2 порядков.

Анализ приведенных результатов показал, что для всех исследуемых штаммов вируса ИБК ткани респираторной системы птиц в начальной фазе развития инфекционного процесса являются наиболее благоприятной (элективной) зоной. В данной области организма на 5 сутки после инфицирования ожидаемые по накоплению генетического материала инфекционные титры возбудителя в ЭИД₅₀/см³ составили от 3,95 у штамма «QX», до 5,0 у штамма «Н-120». Последующий процесс вирусной диссеминации, очевидно, происходил как вторичное явление. Во всех остальных тканях максимальные оценки титров приходились на 7 или 10 сутки.

По эффективности развития вне респираторной системы очевидным лидером следует считать штамм «QX», который через 7–9 суток накапливался (по ожидаемым ${}^{\circ}\text{lgЭИД}_{50}$) до 4,33, 4,15 и 3,85 ЭИД₅₀/см³ в почках, в миндалинах слепой кишки и в тканях репродуктивных органов, соответственно. При этом распространение в организме птицы штамма «Н-120» было значительно менее выражено. В отмеченном временном интервале аналогичные оценки составили 3,29, 2,52 и 2,08. Промежуточное положение занял штамм «4/91».

В качестве условного показателя относительной адаптированности штамма к заданному виду ткани организма (коэффициента по референту) приняли медиану хронологической выборки величин:

$$d_j = \lg T_j - \lg T_0$$

где d_j – коэффициент изучаемого штамма (j) на данном интервале времени; $\lg T_j$ и $\lg T_0$ – хронологически совпадающие оценки ожидаемых титров изучаемого штамма и штамма «Н-120» (референта), соответственно. Положительное значение принятого коэффициента ($d > 0$) рассматривали как тенденцию к большей адаптированности штамма относительно референта, отрицательное значение ($d < 0$) считали оценкой меньшей адаптированности. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Приведенные в таблице результаты указывают на то, что в респираторной системе птицы наибольшая эффективность воспроизводства была у штамма «Н-120». Коэффициенты $d_{4/91} = -1,09 \{(-1,56) \div (-0,81)\}_{p \leq 0,05}$ и $d_{QX} = -0,71 \{(-0,96) \div (-0,21)\}_{p \leq 0,05}$ находились в отрицательной области и свидетельствовали о меньшей адаптированности остальных исследуемых штаммов.

При этом во всех остальных тканях репродукция референтного штамма была менее интенсивной. Оценки $d_{4/91}$ и границы их доверительных интервалов ($p \leq 0,05$) для ткани почек, миндалин слепой кишки и тканей репродуктивной системы составили $0,38 \{(-0,02) \div 0,61\}$, $1,81 \{1,53 \div 2,22\}$ и $0,76 \{0,26 \div 1,52\}$, соответственно. Коэффициенты d_{QX} , представленные в аналогичной форме и порядке, имели вид $1,07 \{0,71 \div 1,8\}$, $2,51 \{1,71 \div 2,84\}$ и $1,04 \{0,61 \div 1,77\}$, соответственно.

В биологическом смысле это означало, что ожидаемое накопление штамма «4/91» превосходило таковое референтного вируса в зависимости от вида ткани в диапазоне от 2,4 до 65 раз. При этом развитие штамма «QX» при аналогичном сопоставлении было интенсивнее референтного вируса в диапазоне от 11 до 324 раз.

Важно отметить, что значительное превышение титров штаммов «4/91» и «QX» по отношению к референтному, установленное

Таблица.

Коэффициенты относительной адаптированности* штаммов вируса ИБК «4/91» и «QX» по референтному штамму «Н-120», установленные для тканей различных органов птицы

Сутки**	Респираторная система			Почки			Миндалины слепой кишки			Репродуктивная система		
	$\lg T_0$	$d_{4/91}$	d_{QX}	$\lg T_0$	$d_{4/91}$	d_{QX}	$\lg T_0$	$d_{4/91}$	d_{QX}	$\lg T_0$	$d_{4/91}$	d_{QX}
1	1,20	-0,45	-0,19	1,04	-0,38	-0,76	-0,38	1,92	1,06	-0,97	0,90	1,23
2	4,52	-1,04	-1,54	1,52	0,83	-0,97	-0,01	2,59	2,66	0,30	0,47	0,63
3	5,00	-0,95	-1,05	2,34	0,30	-1,33	1,55	1,98	2,17	1,32	1,52	0,57
4	4,27	-0,86	-0,40	3,29	0,35	0,95	2,34	1,91	1,67	2,08	1,14	1,77
5	3,92	-1,65	-0,37	3,02	-0,49	1,30	2,52	1,53	1,63	1,74	1,33	2,14
6	3,57	-1,56	-0,27	1,95	0,63	1,92	2,44	0,93	1,71	0,85	1,94	2,40
7	3,12	-1,22	-0,34	1,40	0,41	2,06	1,67	1,59	2,13	0,55	2,01	1,06
8	3,07	-1,62	-1,71	0,96	0,56	1,80	1,48	1,84	2,42	0,33	1,16	1,22
9	1,94	-0,70	-0,94	1,09	-0,02	1,46	0,81	2,22	2,89	0,43	0,59	0,61
10	1,65	-1,20	-0,84	0,88	-0,12	0,96	0,73	2,45	2,67	-0,28	0,63	1,02
11	1,27	-1,13	-0,96	0,37	0,05	1,19	0,34	1,78	3,28	0,11	0,19	0,15
12	1,10	-0,90	-0,96	-0,17	0,47	1,21	0,26	1,50	2,84	-0,12	-0,40	0,39
13	0,71	-0,81	-0,57	-0,29	0,58	0,84	0,31	0,93	2,59	-0,88	0,26	1,14
14	0,37	-1,87	-0,23	-0,35	0,61	0,71	-0,59	1,68	2,69	-0,58	-0,24	0,61
Медиана	-	-1,09	-0,71	-	0,38	1,07		1,81	2,51		0,76	1,04

Примечания: * – $d_j = \lg T_j - \lg T_0$, где d_j – коэффициент относительной адаптированности изучаемого штамма (j) на данном интервале времени; $\lg T_j$ и $\lg T_0$ – хронологически совпадающие оценки титров изучаемого штамма и штамма «Н-120» (референта), соответственно; ** – сутки после инфицирования.

в миндалинах слепой кишки, может указывать на тропизм отмеченных возбудителей к лимфоидной ткани.

Заключение

Примененный способ опосредованной оценки эффективности воспроизводства вируса по накоплению вирусного генома с помощью ПЦР позволил наблюдать значительные различия концентрации маркеров репродукции вируса в различных тканях и, вероятно, может быть использован как средство оценки предпочтительного тканевого тропизма инфекта.

Хронологическое сопоставление прогнозируемых оценок накопления вируса относительно референтного штамма («Н-120») показало, что различия в титрах вируса (как степени адаптированности) в зависимости от вида тканей может достигать > 300 раз.

Список литературы

1. Борисов, А. В. Инфекционный бронхит кур [Текст] / А. В. Борисов, Т. В. Хлыбова, С. В. Фролов // Вет. мед. Украины. – 1998. – № 5. – С. 28–29.
2. Дандал, А. Ш. Применение полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для опос-

редованной оценки инфекционного титра вируса инфекционного бронхита кур [Текст] / А. Ш. Дандал, Х. С. Абдуллоев // Ветеринарная практика. – 2013. – № 3. – С. 28–32.

3. Закс, Л. Статистическое оценивание / Л. Закс. – М.: Статистика, 1976. – 598 с.
4. Овчинникова, Е. В. Методические указания по выявлению генома вируса инфекционного бронхита кур методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени [Текст] / Е. В. Овчинникова, Л. О. Щербакова, А. В. Андриясов и др. // Владимир: ВНИИЗЖ, 2010.
5. Холлендер, М. Непараметрические методы статистики [Текст] / М. Холлендер, Д. А. Вульф. – М.: Финансы и статистика, 1983. – С. 214–220.
6. Alexander, D. J. Isolation of avian infectious bronchitis virus from experimentally infected chickens [Текст] / D. J. Alexander, R. B. Gough // Res. Vet. Sci. – 1977. – V. 23. – P. 344–347.
7. Cook, J. K. A. Effect of in-ovo bursectomy on the course of an infectious bronchitis virus infection in line C white leghorn chickens [Текст] / J. K. A. Cook, T. F. Davison, M. B. Huggins, P. McLaughlan // Arch. of Virol. – 1991a. – Vol. 118. – P. 225–234.
8. Ignatovic, J. Pathogenicity of Australian strains of avian infectious bronchitis virus [Текст] / J. Ignatovic, D. F. Ashton, R. Reece et al. // J. Comp. Pathol. – 2002. – V. 126, N 2–3. – P. 115–123.
9. Montgomery, R. D. Effects of an Arkansas strain of infectious bronchitis vaccine on the head-associated lymphoid tissue (HALT) [Текст] / R. D. Montgomery, W. R. Maslin, C. R. Boyle, T. Pledser et al. / Avian Dis. – 1991. – Vol. 35. – P. 302–307.



- 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 организаций.
e-mail: invet@inbox.ru boldyрева@mail.ru
тел.: 8 (909) 646-76-43, 8 (916) 181-95-58

УДК 616.995.132.5:599.824

Ключевые слова: микрофилярии, сердце, вегетативная нервная система

Key words: microfilariae, heart, vegetative nervous system

Чумасов Е. И., Белова Л. М., Петрова Е. С.

СЛУЧАЙ ОБНАРУЖЕНИЯ МИКРОФИЛЯРИЙ В СЕРДЦЕ
ОБЕЗЬЯНЫ (*MACACA MULATTA*)
THE CASE OF MICROFILARIAE FINDING IN THE HEART
OF MONKEY (*MACACA MULATTA*)

¹ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Россия, ул. Черниговская, 5. Тел. +7 (812) 388-36-31

¹Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5. Tel. +7 (812) 388-36-31

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

Адрес: 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12. Тел. +7 (812) 234-68-68

²Institute of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Scientific Institution

Address: 197376, Russia, Saint-Petersburg, akad. Pavlov str., 12. Tel. +7 (812) 234-68-68

Чумасов Евгений Иванович, д. б. н., проф. каф. биологии, экологии и гистологии¹Chumasov Evgeny I., Doctor of Biological Sciences, Professor of the Dept. of Biology, Ecology and Histology¹Белова Лариса Михайловна, д. б. н., зав. каф. паразитологии¹Belova Larisa M., Doctor of Biological Sciences, Head of the Dept. of Parasitology¹Петрова Елена Сергеевна, к. б. н. ст. научн. сотрудник отдела общей и частной морфологии²Petrova Elena S., Ph.D. in Biology Science, Senior Researcher of the Dept. of General and Special Morphology²

Аннотация. Описаны два случая обнаружения микрофилярий в сердце обезьян (*Macaca mulatta*) из Сухумского заповедника. Срезы тканей правого предсердия изучали с помощью метода импрегнации серебром по Бильшовскому – Грос с целью изучения иннервации органа. Однако наряду с нервными сплетениями, ганглиями и рецепторными окончаниями были избирательно выявлены и микрофилярии. Они имеют размеры от 200 до 550 мкм и обнаружены в просветах мелких артерий, артериол, в венозных сосудах, а также внутри пучков рабочего миокарда. На основании полученных данных сделано предположение, что специфические белки тегумента или покрова круглых червей избирательно выявляются солями серебра. Они обладают аргентофильностью в той же степени, что и белки нейрофиламентов тканей нервной системы. Это служит подтверждением, что те и другие в процессе эволюции развиваются из первого зародышевого листка – эктодермы. Несмотря на тесные взаимоотношения паразитов с различными тканями сердца, никаких специфических патологических изменений в ответ на инвазию со стороны нервной системы не наблюдалось.

Summary. Two cases of microfilariae finding in the heart of monkey (*Macaca mulatta*) from Sukhumi reserve are described. The right atrium tissue sections were studied with the help of Bilshovsky – Gros technique of silver impregnation to investigate the innervation of the organ. However, along with the nerve plexus, ganglia and receptor endings microfilariae were selectively identified also. They are 200 to 550 microns long. They were discovered in the lumen of the small arteries, arterioles, in the venous vessels and in the bundles of working myocardium. Based on the data obtained the supposition had been made that Nematoda tegument specific proteins were selectively detected by silver salt. They were argentophile to the same extent as the proteins of neurofilament of neural tissue. This confirms that both these proteins are developing from the first germinal layer (the ectoderm) during the evolution process. Despite the close relationship between the parasites and different heart tissues, no specific pathological changes in response to the invasion were observed in the nervous system.

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) из 7 млрд населения планеты более 4 поражены различными видами гельминтов. Причем, если учесть, что многие из людей могут быть «носителями» сразу нескольких видов паразитов, то можно себе представить насколько важной является проблема изучения паразитарных болезней

человека и животных. По данным той же организации уровень заболеваемости гельминтозами в мире крайне распространен (третье место среди паразитарных болезней) и высока степень и частота заражения ими млекопитающих. Большая видоспецифичность паразитических червей, интенсивная половая репродукция, сложность циклов развития, связанных с чередованием личиночных

стадий, способность к миграции – все это позволяет паразитам адаптироваться к изменяющимся условиям среды и, таким образом, расширять ареал в различных системах тканей и органов [1–8]. Многие из них являются гемофагами – питаются кровью и лимфой, потребляют витамин В₁₂, нарушают процессы всасывания в кишечнике, повреждают слизистую на значительной площади, приводят к потере крови и развитию анемии, тромбозу и геморрагиям сосудов. Продукты выделения их характеризуются высокой токсичностью не только по отношению к окружающим тканям, но и вызывают нарушения липидного и углеводного обмена веществ всего организма животного и человека.

В связи с этим представляет особый интерес изучение, описание и анализ морфологических особенностей паразитических червей, обнаруженных нами в тканях правого предсердия и межпредсердной перегородке сердца двух особей мужского пола макак-резус *Macaca mulatta*.

Материал и методы

В 60–70-х годах прошлого столетия на базе Института физиологии им. И. П. Павлова в Колтушах по заданию Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи (ныне Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи) было сделано несколько серий опытов по проверке одного из штаммов вакцины против вируса паратита. Исследования проводились на половозрелых обезьянах самцах макак-резус *M. mulatta* (Сухумский заповедник) при участии нескольких институтов, в том числе и лаборатории нейроморфологии (зав. проф. Ю. М. Жаботинский) отдела патологической анатомии Научно-исследовательского института экспериментальной медицины СССР, возглавляемой проф. М. В. Войно-Ясенецким. Объектами исследования служили не только ЦНС (головной и спинной мозг), ВНС (ганглии и периферические нервы), но и сердце, печень и другие органы животных. Основная цель исследования состояла в обнаружении аутоиммунных демие-

лизирующих процессов у этих животных. Они были разделены на две группы: подопытные (привитые) и контрольные (условная норма). Для определения демиелинизации нервных волокон были использованы нейрогистологические методы (Марки, импрегнация азотнокислым серебром по Бильшовскому – Грос) и гематоксилин-эозин. Часть нейрогистологических препаратов, импрегнированных серебром, от контрольных животных, в том числе и срезы сердца, осталась в лаборатории в виде коллекции, которую предполагалось использовать в качестве демонстрации для студентов. Однако недавняя ревизия и тщательный анализ этих препаратов сердца послужили поводом для написания данной работы совместно с паразитологами.

Результаты исследований

Благодаря высокой избирательности метода импрегнации серебром на данных препаратах была отчетливо выявлена картина иннервации тканей сердца. В эпикарде правого предсердия видно широкопетлистое сплетение из нервных пучков различного диаметра, по ходу и внутри которых нередко встречаются небольшие скопления нейронов – микроганглии (рис. 1а). От него вглубь миокарда отходят многочисленные нервные стволы и пучки, образующие более плотное узкопетлистое сплетение вокруг микрососудов и тяжелой миокардиоцитов. Среди этих нервных сплетений нам удалось также обнаружить паразитических червей, выяснить их строение и локализацию в тканях. Они имеют нитчатую, округлую форму, длина их колеблется от 200 до 550 мкм, а поперечный диаметр, в зависимости от части тела, составляет от 0,5 до 10 мкм. Тело червя имеет ровные контуры и в нем выделяются три части: короткий головной отдел, плавно переходящий в средний, наиболее продолжительный, и хвостовой – постепенно истончающийся. В головном отделе отсутствует какая-либо морфологически выраженная специализация. По своему диаметру этот отдел тела чуть тоньше (буквально на несколько микрон) среднего и имеет вид ровно срезанной капиллярной трубочки. Рассмотреть вну-

тренные детали строения переднего конца головного отдела червя не представляется возможным из-за интенсивной импрегнации серебром в черный цвет. Средний отдел самый протяженный и имеет более просветленные контуры. В нем удалось проследить при больших увеличениях микроскопа очень частую поперечную исчерченность на поверхности тела, различить в просветленных участках внутренней полости арктофильные глыбки (возможно, продукты перевариваемой пищи), располагающиеся в виде цепочки. В каудальном направлении интенсивность арктофилии тела червя возрастает, и хвостовой отдел, как и головной, становится интенсивно черного цвета. Любопытно отметить, что хвостовой отдел тела паразита легко идентифицируется от остальных перечисленных отделов не только по выраженному признаку истончения, но и по характерной извилистости самого кончика в виде крючка (вероятно, у самцов). Возникает предположение, что описанный вид червей так же, как и нервные структуры ткани сердца, избирательно выявляются азотнокислым серебром. По этой причине их бывает порой трудно отличить на срезах ткани от фрагментов толстых миелинизированных аксонов, тонких нервных пучков и сплетений.

Однако, привыкнув к характерным особенностям червей, мы вскоре научились дифференцировать их от нервных структур и обнаружили в препаратах сердца в достаточно большом количестве исследованных случаев. Чаще всего они встречаются среди нервно-сосудистых сплетений либо по отдельности (в виде одиночных экземпляров), либо в виде небольших групп (из 5–6 особей), находящихся на незначительном расстоянии друг от друга в одном поле зрения микроскопа (рис. 1б). При максимальном увеличении эти микроскопические черви обнаружены в просветах мелких артерий, артериол, в расширенных венозных сосудах и капиллярах. Нередко они выявляются непосредственно в пучках миокардиоцитов передней стенки правого предсердия и межпредсердной перегородки, а также залегают в соединительной ткани между капилляра-

ми и пучками мышечных волокон (рис. 2). Обращает на себя внимание необычное пространственное положение некоторых особей. Иногда видно, что часть тела червя – средний или хвостовой отдел – находится в просвете сосуда или внутри мышечного волокна, в то время как передний отдел (головной) находится вне сосуда, в окружающей соединительной ткани или эндомизии. Все это свидетельствует о динамике активной миграции особей в пределах окружающих тканей. В некоторых местах, на значительном протяжении артериального сосуда, приходилось наблюдать одновременно по несколько червей, располагающихся в виде цепочки (хвост – головка) и следующих по просвету сосуда в одном направлении среди массы эритроцитов (рис. 3). Интересно отметить также, что вокруг червей, найденных нами между миокардиоцитами, в рыхлой соединительной ткани вблизи стенок сосудов отсутствовали какие-либо воспалительные инфильтраты. За исключением двух случаев. В одном участке миокарда, где имел место ценкерровский некроз мышечного волокна, был найден один погибший паразит, а в другом месте, в межмышечной соединительной ткани правого предсердия, встретила особь в окружении мелкоклеточных элементов очага воспаления. Это говорит о некоторой степени реакции организма на антиген.

Обсуждение результатов и заключение

На основании полученных гистологических данных и морфологических критериев удалось определить и установить принадлежность исследованных червей к роду *Dirofilaria sp.*, часто встречающихся у собак. Несмотря на большое число работ, посвященных изучению диروفиларий, многие вопросы, касающиеся их топографии и временных периодов локализации в организме хозяина, ответные реакции тканей и органов на инвазию, остаются все еще мало изученными [1–6]. Это относится в равной степени и к вопросу выяснения взаимоотношений личинок – микрофилярий – с окружающими тканями сердца животных и человека. Результаты двух случаев показали, что личинки микрофилярии ведут активный

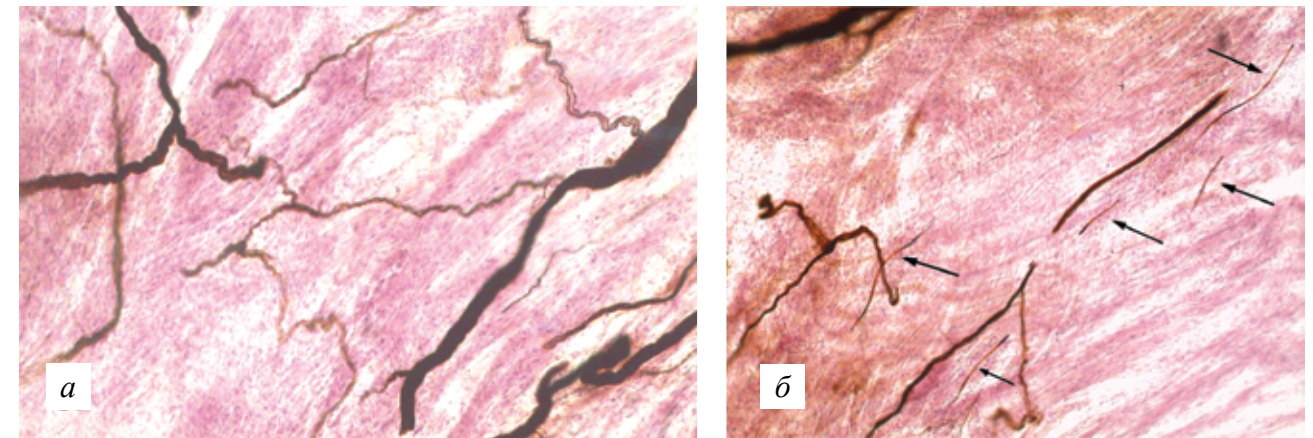


Рис. 1. Нервное сплетение (а) и личинки микрофилярий (б) в стенке правого предсердия обезьяны. Импрегнация азотнокислым серебром по Бильшовскому – Грос. Докраска гематоксилином-эозином. Ув. × 100.

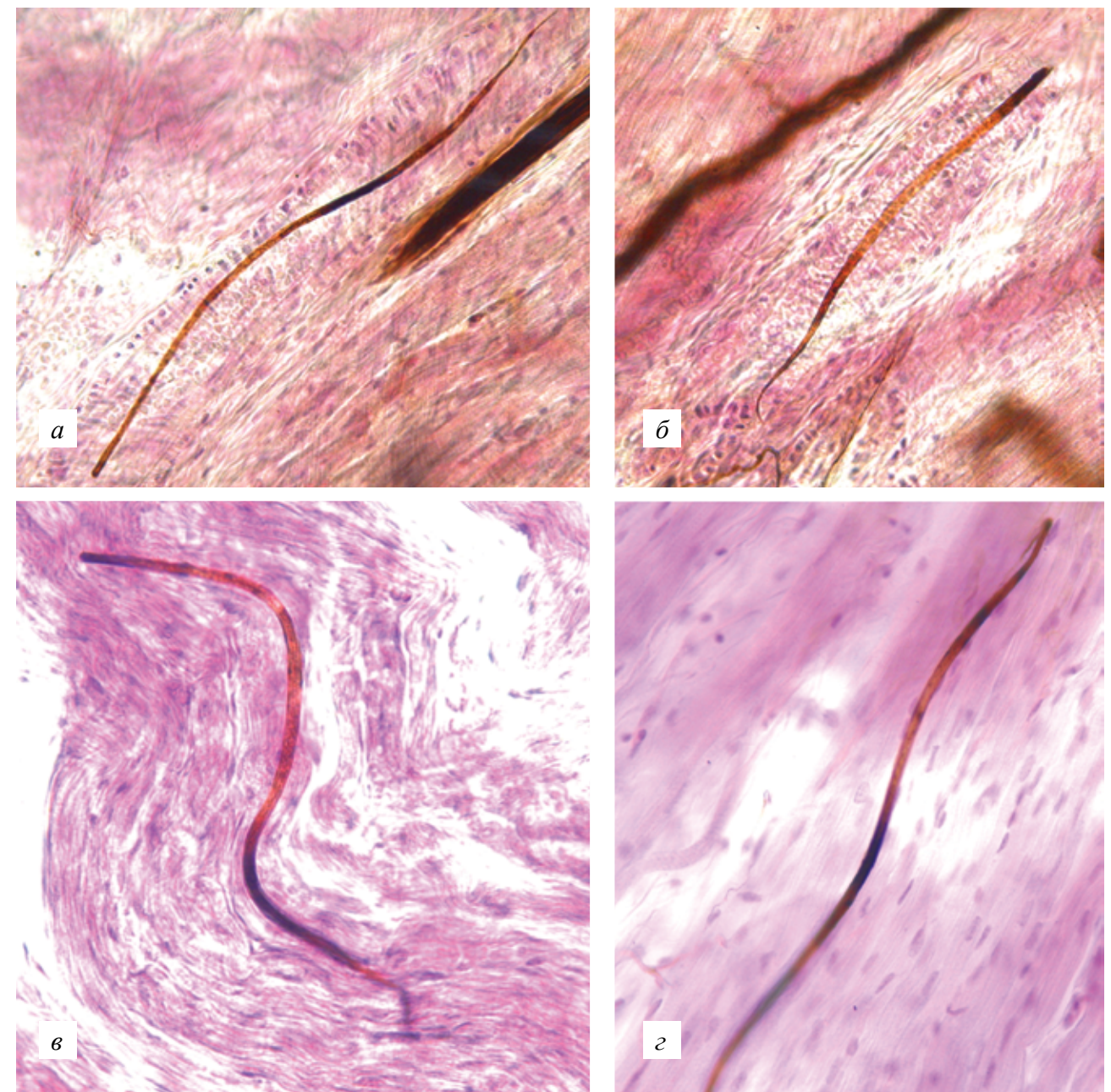


Рис. 2. Локализация паразитов в тканях предсердия обезьяны: а – в просвете артерии; б – в просвете вены; в – внутри миокардиоцитов; г – в эндокарде. Импрегнация азотнокислым серебром по Бильшовскому – Грос. Докраска гематоксилином-эозином. Ув. × 400.

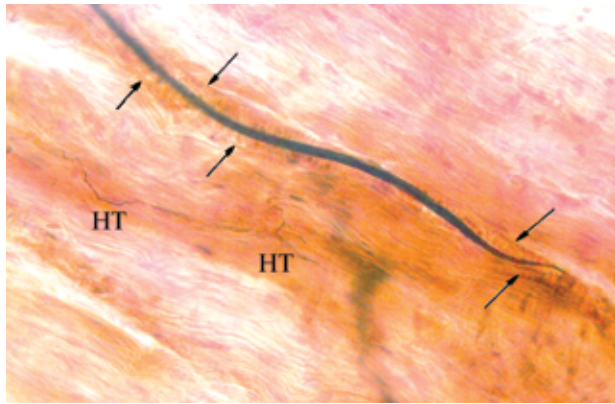


Рис. 3. Микрофилярия внутри капилляра. Импрегнация азотнокислым серебром по Бильшовскому – Грос. Докраска гематоксилином-эозином. Ув. × 400.

образ жизни в тканях сердца. Они находятся в тесных взаимоотношениях не только с сосудами микроциркуляторного русла, соединительной тканью, но и с рабочими миокардиоцитами стенки правого предсердия и межпредсердной перегородки. Здесь они питаются, проходят определенную стадию своей дифференцировки и роста. Оригинальностью работы, на наш взгляд, является то, что личинки рода *Dirofilaria sp.* были обнаружены в «контрольном материале», да еще и в препаратах, обработанных нейростологическим методом серебрения по Бильшовскому – Грос, избирательно выявляющему только нервные элементы: нервные сплетения, нейроны, рецепторные нервные окончания. Благодаря этой реакции удалось выявить и паразитов в различных тканях сердца. На основании полученных данных можно предположить, что какие-то специфические белки тегумента или покрова этих червей обладают таким же сродством к $AgNO_3$ или аргентофильностью, как и белки нейрофиламентов. При этом следует отметить, что, несмотря на порой тесные взаимоотношения паразита с нервными структурами, сосудами

и миокардиоцитами, никаких специфических патологических изменений в ответ на инвазию со стороны нервной ткани не наблюдалось. Воспалительная реакция на паразита в исследуемых случаях не наблюдалась. Приведенные факты свидетельствуют о том, что данная личиночная стадия относительно временная и необходима, по-видимому, для развития и подготовки личинок к выходу из тканей стенки сердца в полости предсердий и желудочков для дальнейшего дефинитивного развития и последующей миграции в ткани легких.

Список литературы

1. Архипов, И. А. Дирофиляриоз [Текст] / И. А. Архипов, Д. Р. Архипова. – М., 2004. – 194 с.
2. Архипова, Д. Р. Биология дирофилярий и эпизоотология дирофиляриоза собак в степной зоне юга России [Текст] : автореф. дис... канд. биол. наук / Д. Р. Архипова. – Н. Новгород, 2003. – 25 с.
3. Бессонов, А. С. Дирофиляриозы плотоядных и человека [Текст] / А. С. Бессонов // Ветеринария. 2003. – № 3. – С. 57-60.
4. Колодий, И. В. Особенности рентгенодиагностики при дирофиляриозе у собак [Текст] / И. В. Колодий, А. М. Ермаков, А. В. Макрицкая // Ветеринария Кубани. – 2007. – № 6. – С. 14.
5. Согоян, И. С. Патолого-морфологические изменения при дирофиляриозе собак [Текст] / И. С. Согоян // Тр. Арм. НИИЖив. – 1962. – Т. 6. – С. 117-121.
6. Шинкаренко, А. Н. Экология паразитов собак и меры борьбы с вызываемыми ими заболеваниями в Нижнем Поволжье [Текст] : автореф. дисс. ... докт. вет. наук / А. Н. Шинкаренко. – Волгоград, 2005. – 42 с.
7. Ceribasi, A. Histopathologic Effects of *Dirofilaria immitis* Microfilaria on Internal Organs of Dog Confirming by PCR Technique [Текст] / A. Ceribasi, S. Simsek // Iran. J. Parasitol. – 2012. – Vol. 7, № 2. – P. 103-107.
8. Orihel, T. C. Zoonotic filariasis [Текст] / T. C. Orihel, M. L. Eberhard // Clin. Microbiol. Rev. – 1998. – Vol. 11, № 2. – P. 366-381.

УДК 619:615.3:636.2.084.37

Ключевые слова: молозиво, диспепсия, субклинический мастит, сухостойный период

Key words: colostrum, dyspepsia, subclinical mastitis, dry period

Павленко О. Б.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ НА МОЛОЗИВО И КЛИНИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ ПРИ ТЕРАПИИ МАСТИТА У КОРОВ THE EFFECT OF PROBIOTICS ON COLOSTRUM AND CLINICAL CONDITION OF THE NEWBORN CALVES IN THE TREATMENT OF MASTITIS IN COWS

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I»

Адрес: 394087, Россия, г. Воронеж, ул. Мичурина, 1

Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University. Address: 394087, Russia, Voronezh, Michurin Str., 1

Павленко Ольга Борисовна, к. в. н., доцент каф. анатомии и хирургии

Pavlenko Olga B., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor of the Dept. of Anatomy and Surgery

Аннотация. Изучено влияние «Дифумаства» и «Ветом-3» на биохимический состав молозива и, как следствие, на организм новорожденных телят. Эксперименты выполнены в ООО НПКФ «Агротех-Гарант Березовский» на четырех группах коров красно-пестрой масти (2 опытные группы и 2 контрольные), находящихся в сухостойном периоде, больных субклиническим маститом. Коровы первой группы лечились «Дифумаством», согласно инструкции, а коровы второй группы лечились однократно «Ветомом-3». Третья группа состояла из коров со здоровым выменем, а четвертая – из коров, больных субклиническим маститом. После отела молозиво исследовалось от первого удоя и на пятый день лактации. Базой для сравнения служили как здоровые животные, так и больные субклиническим маститом (без лечения). В течение недели учитывалось клиническое состояние у новорожденных телят. Установлено, что заболеваемость телят диспепсией, которым выпаивали молозиво от больных субклиническим маститом коров-матерей, была в 3,8 раза выше по сравнению с контрольной группой (молозиво от коров-матерей со здоровым выменем). Заболеваемость телят, получавших молозиво от коров-матерей, прошедших курсовое лечение «Дифумаством» и «Ветомом-3» в сухостойном периоде, снизилось в 1,9 раза и 2,7 раза соответственно. Это выражалось в количестве заболевших диспепсией новорожденных телят. В молозиве определялось содержание иммуноглобулинов, сывороточных белков, лактозы и лизоцимная активность. Выявлено, что у больных коров концентрация сывороточного альбумина и иммунных глобулинов в молоке первого удоя была на 1,49 и 11,2 г/л выше, а лактозы – на 15,8 г/л ниже по сравнению со здоровыми. В содержании общего белка, сывороточных белков достоверные межгрупповые различия отсутствовали. В молозиве 5-го дня лактации у больных коров общего белка и сывороточного альбумина содержалось на 26,15 и 0,6 г/л больше, а лактозы – на 19,5 г/л меньше. Лизоцимная активность молозива первого удоя у здоровых коров находилась на уровне 49,61 %, у больных субклиническим маститом – на 11,45 % ниже, у коров, прошедших курс лечения «Дифумаством», была снижена на 15 %, а у коров, прошедших курс лечения «Ветомом-3», находилась на уровне 52,45 %.

Summary. The author studied the effect of "Difumast" and "Vetom-3" on the biochemical composition of colostrum and as a consequence on the body of newborn calves. The experiments were performed in LLC NPKF "Agrotech-Garant Berezovsky" on 4 groups of red-and-white cows with subclinical mastitis in dry period (2 experimental groups and 2 control groups). The cows of the first group was treated with "Difumast" according to the instructions. The cows of the second group were treated with "Vetom-3" once. The third group consisted of the cows with healthy udder. The fourth group was formed of the cows with subclinical mastitis. Post-calving colostrum was studied at the moment of the first milk yield and on the fifth day of lactation. Healthy animals and cows with subclinical mastitis without treatment served as the basis for comparison. The clinical status of newborn calves was controlled during a week. It was found that the incidence of dyspepsia in the group of calves fed with colostrum from suckler cows with subclinical mastitis was 3.8 times higher than in the control group of calves fed with colostrum from suckler cows with healthy udders. The incidence of dyspepsia in calves fed with colostrum from suckler cows which underwent the course of treatment with "Difumast" and "Vetom-3" in the dry period decreased 1.9 times and 2.7 times, respectively. This was reflected in the number of cases of dyspepsia in newborn calves. Colostrum was researched for immunoglobulins, serum proteins, lactose and lysozyme activity. It was discovered that the concentration of serum albumin and immune globulin in milk of the first milk yield from the diseased cows was 1.49 and 11.2 g/l higher, and the concentration of lactose was 15.8 g/l lower in comparison with milk from the healthy cows. There were not significant intergroup differences in the content of total protein, serum proteins. The level of total protein and serum albumin were 26.15 and 0.6 g/l higher and the content of lactose was 19.5 g/l lower in the colostrum of the diseased cows on the fifth day of lactation. The lysozyme activity of colostrum of the first milk yield from the healthy cows was at 49.61 %, that from the mastitic cows was 11.45 % lower, that from the cows treated with "Difumast" was reduced by 15 % and that from cows treated with "Vetom-3" was at the level of 52.45 %.

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 делаются 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

Введение

Значительное распространение в стадах коров маститов наносит хозяйствам весьма ощутимый экономический ущерб. Прежде всего, переболевание коров маститом приводит к падению молочной продуктивности и ухудшению технологического качества молока. Молоко от коров с воспалением молочной железы опасно для людей, особенно детей. Использование такого молока для кормления телят вызывает у них тяжелые кишечные заболевания, часто с летальным исходом [2, 3].

От коров, больных субклиническим маститом, телята рождаются ослабленными, с пониженной температурой тела. Масса тела таких телят значительно ниже, чем телят, полученных от здоровых коров. Телята, полученные от коров, больных субклиническим маститом, и получавшие их молозиво, поголовно заболевают диспепсией [1]. По данным Г. Н. Кузьмина с соавт. [4], у телят, полученных от коров переболевших субклиническим маститом, на 20,0 % чаще регистрируют болезни с признаками диареи, а падеж их на 9,6 % выше по сравнению с телятами, полученными от здоровых коров. В молозиве коров, больных субклиническим маститом, содержится на 53,26 г/л меньше общего белка, на 0,11 г/л – магния, на 0,40 мг/л – меди, на 2,30 мг/л – цинка, а натрия содержится на 0,11 г/л больше, чем в молоке здоровых коров [1].

Целью данной работы явилось изучение влияния «Ветом-3» (с молозивом матери) на организм новорожденных телят и качество молозива у коров, прошедших лечение пробиотиком.

Материал и методы

Опыты проводились в ООО НПКФ «Агротех-Гарант Березовский» Воронежской области. Для изучения влияния «Ветом-3» (с молозивом матери) на организм телят создали 4 группы. С этой целью ежедневно вели наблюдение за тремя группами новорожденных телят: от коров-матерей, прошедших курсовое лечение по поводу мастита антибиотиками (1), от коров-матерей, прошедших курсовое лечение по поводу мастита «Ветомом-3» (2), от коров со здоровым выменем (3), от коров-матерей, больных скрытым маститом (4).

Результаты исследований

О действии «Ветом-3» на качество молозива судили по клиническому состоянию новорожденных телят: ежедневно измеряли температуру тела, следили за аппетитом, появлением поноса, осматривали видимые слизистые оболочки. Результаты исследований представлены в таблице.

Из данных, приведенных в таблице, следует, что по группе телят, которым выпаивали молозиво от больных субклиническим маститом коров-матерей, заболеваемость диспепсией была в 3,8 раза выше по сравнению с контрольной группой (выпойка молозива здоровых коров-матерей). При этом регистрировали в основном простую диспепсию, которая характеризовалась частой дефекацией, наличием водянистых фекалий неприятного запаха с примесью слизи при удовлетворительном общем состоянии; температура тела повышена незначительно (на 0,1–0,4 °С). При своевременно начатом комплексном лечении такие животные

на 5–7-е сутки выздоравливали, без лечения пал 1 теленок.

При выпойке молозива от коров-матерей, которые перенесли мастит в сухостойный период, но до отела прошли курс лечения «Дифумастом», заболеваемость телят диспепсией снизилась с 30,7 до 16 %, т. е. в 1,9 раза, а при выпойке молозива от коров-матерей, которые перенесли мастит в сухостойный период, но до отела прошли курс лечения «Ветомом-3», заболеваемость телят диспепсией снизилась с 30,7 до 11,5 %, то есть в 2,7 раза; таким образом, заболеваемость телят диспепсией в 1,4 раза ниже по сравнению с группой новорожденных телят, которым выпаивали молозиво от коров-матерей, прошедших курсовое лечение «Дифумастом».

Для изучения качества молозива провели исследование по следующим биохимическим показателям: иммуноглобулины, сывороточные белки, лактоза, лизоцимная активность молозива.

Оценку молозива проводили на 1-й и 5-й дни лактации на коровах, прошедших курсовое лечение по поводу субклинического мастита «Дифумастом» и «Ветомом-3». Базой для сравнения служили как здоровые животные, так и больные субклиническим маститом (без лечения).

У больных коров концентрация сывороточного альбумина и иммунных глобулинов в молоке первого удоя была на 1,49 и 11,2 г/л выше, а лактозы – на 15,8 г/л ниже по сравнению со здоровыми.

В содержании общего белка, сывороточных белков достоверные межгрупповые различия отсутствовали.

В молозиве 5-го дня лактации у больных и здоровых коров не выявлено достоверных различий по уровню сывороточных белков, иммуноглобулинов, между тем как у больных коров общего белка и сывороточного альбумина содержалось на 26,15 и 0,6 г/л больше, а лактозы – на 19,5 г/л меньше.

У находившихся на лечении животных биохимические показатели молозива соответствовали таковым здоровых; исключение

составляет повышенная концентрация сывороточного альбумина у коров, прошедших курс лечения «Дифумастом».

Лизоцимная активность молозива первого удоя у здоровых коров находилась на уровне 49,61 %, у больных субклиническим маститом – на 11,45 % ниже, у прошедших курс лечения «Дифумастом» была снижена на 15 %, у прошедших курс лечения «Ветомом-3» находилась на уровне 52,45 %. По остальным биохимическим показателям (лактоза) межгрупповые различия были несущественными либо отсутствовали.

Таким образом, коровы, прошедшие эффективный курс лечения по поводу мастита «Ветомом-3» в постлактационный период, являются продуцентами биологически полноценного молозива.

Заключение

Применение «Ветом-3» при лечении субклинического мастита у сухостойных коров позволяет получить экологически чистую продукцию, улучшить санитарное качество молозива, предупредить случаи дисбактериоза и диспепсии новорожденных телят.

Молозиво коров, прошедших курс лечения по поводу субклинического мастита «Ветомом-3» во время сухостойного периода, по биохимическому составу, иммунологическим свойствам не отличается существенно от такового здоровых коров-матерей и не представляет опасности для здоровья новорожденных.

Список литературы

1. Абзалова, А. Г. Влияние субклинических маститов на клинико-физиологическое состояние коров и потомства [Текст] / А. Г. Абзалова // Сб. науч. работ СибНИВИ. – Омск, 1975. – Вып. 24. – С. 156–160.
2. Ивашура, А. И. Маститы у коров [Текст] / А. И. Ивашура. – М. : Колос, 1972. – 192 с.
3. Калашник, Б. А. Диагностика и лечение субклинических маститов у коров [Текст] / Б. А. Калашник // Меры борьбы с болезнями с.-х. животных Северного Кавказа, 1986. – С. 48–53.
4. Кузьмин, Г. Н. Влияние субклинического мастита у сухостойных коров на заболевание новорожденных телят диареей [Текст] / Г. Н. Кузьмин, С. А. Казавков // Сб. науч. тр. – Краснодар, 2001. – С. 74–75.

Заболеваемость телят диспепсией в зависимости от состояния молочной железы у коров-матерей

Таблица.

Группа	n	Заболело диспепсией		Пало	
		голов	%	голов	%
I – лечение – «Дифумаст»	25	4	16,0	-	-
II – лечение – «Ветом-3»	26	3	11,5	-	-
III – здоровые коровы	25	2	8,0	-	-
IV – субклинический мастит	26	8	30,7	1	3,8

УДК 619:616-091:636.7

Ключевые слова: кошки, вскрытие, болезни, патологоанатомические изменения

Key words: cats, autopsy, diseases, anatomicopathological findings

Кудряшов А. А., Балабанова В. И.

СТРУКТУРА ПРИЧИН СМЕРТИ КОШЕК ЗА 3,5 ГОДА (2012-2015)
ПО СЕКЦИОННЫМ ДАННЫМSTRUCTURE OF THE CAUSES OF DEATH OF CATS
WITHIN THE PERIOD OF 3.5 YEARS (2012-2015) ACCORDING TO SECTIONAL DATAФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»
Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, Черниговская ул., 5. Тел. +7 (812) 388-13-78
Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine
Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5. Tel. +7 (812) 388-13-78Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., проф.,
зав. каф. патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины
Kudryashov Anatoliy A., Doctor of Veterinary Medicine, Professor,
Head of the Dept. of Pathologic Anatomy and Forensic Veterinary Medicine
Балабанова Виктория Игоревна, к. в. н., доцент каф.
патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины
Balabanova Victoria I., Ph.D. in Veterinary Science, Associate Professor
of the Dept. of Pathologic Anatomy and Forensic Veterinary Medicine

Аннотация. В статье представлены результаты вскрытия кошек за 3,5 года (2012–2015 гг.). Сделан анализ этих результатов в сравнении с подобными данными за предыдущие годы: 1975–1995 гг., 1998–2005 гг. Оказалось, что причинами смерти явились инфекционные и незаразные болезни примерно в равном соотношении. Среди инфекционных болезней во все годы наиболее часто диагностировали панлейкопению, а в период с 1998 г. по 2015 г. также инфекционный ринотрахеит и инфекционный перитонит. Из незаразных болезней и патологических состояний, приведших к смерти, в последние годы (2012–2015 гг.) чаще всего устанавливали гипертрофическую кардиомиопатию, хронический нефрит, плеврит, опухоли, травму. Для совершенствования диагностики в работу включены фотографии органов с патологоанатомическими изменениями, типичными наиболее распространенным болезням кошек.

Summary. The article reports the results of the autopsy of cats within the period of three and a half years (2012–2015) and presents the analysis in comparison with corresponding results from previous years (1975–1995, 1998–2005). It appeared that infectious and non-communicable diseases were the causes of death of cats in approximately equal proportions. Panleukopenia was the most common cause among infectious diseases during the period from 1975 to 2015. Infectious rhinotracheitis and infectious peritonitis were most frequently diagnosed from 1998 to 2015. Hypertrophic cardiomyopathy, chronic nephritis, tumors and trauma were the most frequent causes of death among non-communicable diseases and pathological conditions in 2012–2015. The text is illustrated with photographs of pathological changes typical of most common diseases of cat in order to improve diagnostics.

Введение

Структура болезней, патологических состояний и несчастных случаев, приведших к смерти животных, в частности кошек, в определенной местности, городе, питомнике и в определенный период времени всегда привлекала внимание ветеринарных специалистов и студентов ветеринарных факультетов, биологов, фелинологов, владельцев питомников. Учитывая эпизоотологическую ценность результатов патологоанатомической диагностики, считающейся достаточно объективной и достоверной, нельзя не выразить уверенность, что статистика по болез-

ням животных может быть ценна и для специалистов территориальных ветеринарных учреждений. Поэтому определена цель данной работы: ознакомить читателей с результатами вскрытия кошек в течение последних 3,5 лет, с 2012 по 2015 гг.

В предыдущие годы мы старались регулярно освещать материалы по результатам вскрытия кошек в Санкт-Петербурге [1, 2, 3]. Последняя публикация по этой тематике была осуществлена в 2006 г., т. е. довольно давно. Это обстоятельство определило первую задачу статьи: сравнить структуру причин смерти кошек в разные годы и выявить

изменения, которые она претерпела. Вторая задача – показать читателям характерные патологоанатомические изменения для болезней кошек, наиболее часто являющихся причиной смерти, что может быть подспорьем в совершенствовании дифференциальной диагностики.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили 166 кошек, павших в возрасте от 1 месяца до 19 лет. Животные принадлежали жителям Санкт-Петербурга. Перед патологоанатомическим исследованием анализировали анамнестические данные, сообщенные владельцами кошек и ветеринарными специалистами.

Вскрытие проводили по методу Г. В. Шора, описанному в статье [4]. Наряду с анамнестическими данными и результатами вскрытия, при диагностике ряда болезней для их подтверждения и уточнения воспользовались результатами дополнительных исследований: гистологического – для подтверждения вирусной лейкемии и опухолей, цитологического – для гемобартонеллеза, ИФА – для хламидиоза и панлейкопении, ПЦР – для инфекционного перитонита и инфекционного ринотрахеита кошек.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования за 2012–2015 гг. вместе с подобными данными за 1975–1995 гг. (1) и 1998–2005 гг. (2, 3) сведены в таблице 1.

Как видно из данных, сведенных в таблице 1, среди причин смерти кошек, вскрытых в 2012–2015 гг., почти половина являются инфекционными болезнями – 45,7 %, немного больше – 52,5 % – незаразные болезни и 1,8 % – инвазионные болезни. В период с 1975 по 1995 г. доля инфекционных болезней среди причин смерти была значительно меньшей – 37,1 %, а вот в 1998–2005 гг. – большей, чем в последнем исследовании. Изменения доли инфекционных болезней можно объяснить интенсивным, а где-то и беспорядочным разведением кошек новых пород в 1990-е годы с неминуемым снижением им-

мунного статуса популяции. Очевиден завоз инфицированных животных из-за рубежа и разнос болезней в силу массовых перемещений по стране при вязках, купле-продаже.

Из инфекционных болезней в 2012–2015 годах наиболее часто диагностировали панлейкопению (у 15,0 % всех вскрытых животных). Отметим наиболее характерные патологоанатомические изменения при этой болезни: серозно-геморрагический энтерит (рис. 1), серозно-геморрагическое воспаление лимфатических узлов органов брюшной полости, главным образом лимфатических узлов тощей и ободочной кишок (рис. 2), атрофию тимуса.

Второй наиболее часто диагностированной болезнью оказался инфекционный ринотрахеит (у 14,5 % всех вскрытых) с типичными для него катаральной пневмонией (рис. 3), кератитом (рис. 4), кожными узелками – папулами (рис. 5).

Относительно часто встречался инфекционный перитонит кошек (у 7,8 % всех вскрытых), характеризующийся серозным воспалением брюшной и плевральных полостей и узелковым воспалением серозных покровов органов (рис. 6, 7).

Панлейкопения, инфекционный ринотрахеит и инфекционный перитонит в периоды исследования с 1998 г. по 2005 г. и с 2012 г. по 2015 г. по частоте находок на вскрытии занимают верхние позиции в неизменной последовательности. Малый процент инфекционного перитонита в 1975–1995 гг. понятен: эта болезнь впервые была диагностирована нами на вскрытии в начале 1990-х годов. В период с 1975 до начала 1990-х годов в городе не проводились вирусологические исследования на инфекционный ринотрахеит. Поэтому из-за недоказанности какие-то случаи инфекционного ринотрахеита, приведшие к смерти через воспаление легких, могли пройти в отчетности как пневмония. Вирусная лейкемия, следующая на 4-й позиции среди инфекционных болезней в 2012–2015 гг., была установлена у 5,4 % всех вскрытых кошек. Патогномичные для лейкемии опухолевые разрасты лимфоидной ткани находили наиболее часто в лимфатических узлах, чаще всего в лимфатических

Таблица 1.

Болезни, диагностированные у вскрытых кошек в разные годы

	1975–1995		1998–2005		2012–2014	
	n	% от всех вскрытых	n	% от всех вскрытых	n	% от всех вскрытых
Болезнь Ауески	3	0,3	1	0,4	-	
Вирусная лейкемия (ВЛК)	21	1,9	7	2,7	9	5,4
Гемобартонеллез	25	2,3	10	3,9	1	0,6
Инфекционный перитонит (ИПК)	14	1,3	19	7,4	10	7,8
Инфекционный ринотрахеит (ИРТ)	12	1,2	27	10,5	22	14,5
Панлейкопения	292	26,1	74	28,8	24	15,0
Туберкулез	-		1	0,4	-	
Хламидиоз	13	1,2	2	0,8	3	1,8
Пастереллез	18	1,6	-		-	
Лептоспироз	11	1,0	-		-	
Актиномикоз	3	0,3	-		-	
Бешенство	4	0,4	-		-	
Всего инфекционных болезней	416	37,1	141	54,8	69	45,7
Токсокароз	55	4,9	1	0,4	2	1,2
Токсоплазмоз					1	0,6
Всего инвазионных болезней	55	4,9	1	0,4	3	1,8
Пневмония	64	5,7	15	5,8	4	2,4
Плеврит	41	3,7	9	3,5	6	3,6
Пороки сердца	24	2,1	4	1,6	4	2,4
Кардиомиопатия	5	0,5	1	0,4	16	9,6
Эндокардит, миокардит	29	2,6	2	0,8	4	2,4
Закупорка желудка (кишки)	22	2,0	2	0,8	1	0,6
Язва желудка (12-перстной кишки)	11	1,0	3	1,2	4	2,4
Инвагинация, узлообразование кишки	2	0,2	-		2	1,2
Энтерит, энтероколит	36	3,2	3	1,2	-	
Панкреатит	12	1,1	4	1,6	3	1,8
Жировая, токсическая дистрофия и цирроз печени	74	6,6	9	3,5	5	3,0
Поликистоз почек	10	0,9	8	3,2	-	
Нефрозно-нефрит	41	3,7	14	5,4	11	6,6
Мочекаменная болезнь	38	3,3	10	3,9	3	1,8
Заворот матки	3	0,3	1	0,4	1	0,6
Пиометра	22	2,0	2	0,8	2	1,2
Ожирение	26	2,3	-		1	0,6
Гидроцефалия	9	0,8	-		1	0,6
Опухоли	41	3,7	3	1,2	5	3,0
Отравления	11	1,0	10	3,9	-	
Травма	59	5,4	10	3,9	3	1,8
в т. ч. механическая	26	2,4	4	1,6	1	0,6
укушенные раны	29	2,7	5	1,9	2	1,2

огнестрельное ранение	4	0,3	1	0,4	-	
Анафилаксия	20	1,8	1	0,4	4	2,4
Послеоперационное кровотечение	18	1,6	-		1	0,6
Послеоперационный сепсис	15	1,3	3	1,2	2	1,2
Прочие незаразные болезни	17	1,5	-		-	
Всего незаразных болезней и причин смерти	650	58,0	115	44,8		
Всего	1121		257		166	



Рис. 1. Панлейкопения. Серозно-геморрагический энтерит.



Рис. 2. Панлейкопения. Энтерит и лимфаденит.

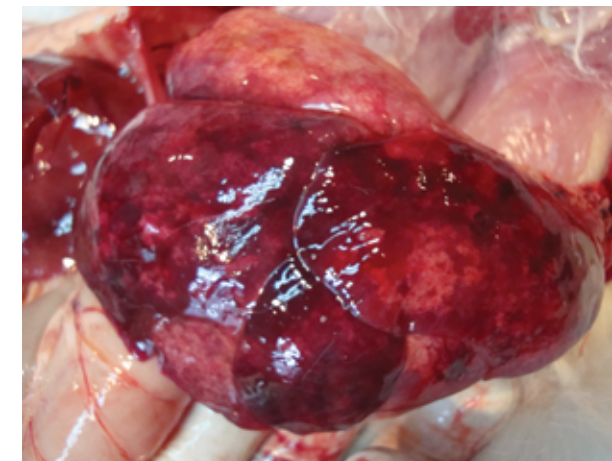


Рис. 3. ИРТ. Катаральная пневмония.



Рис. 4. ИРТ. Кератит у сфинкса.



Рис. 5. ИРТ. Папулы.

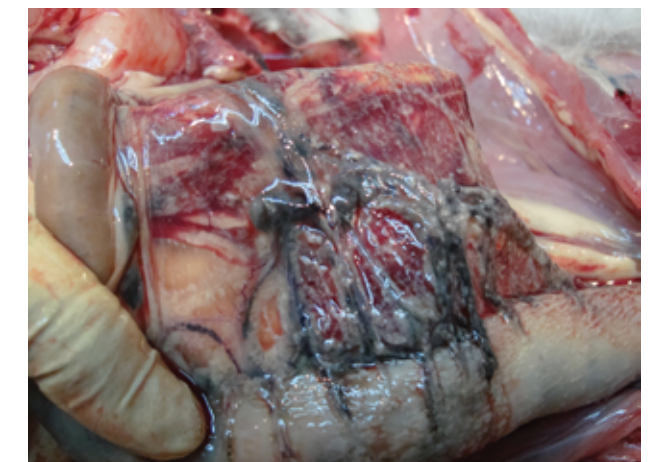


Рис. 6. ИПК. Узелки в брыжейке.

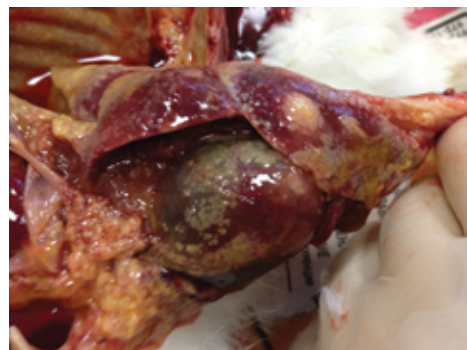


Рис. 7. ИПК. Узелковый плеврит.



Рис. 9. ВЛК. Лимфоузел на разрезе.



Рис. 11. Сердце. Норма.

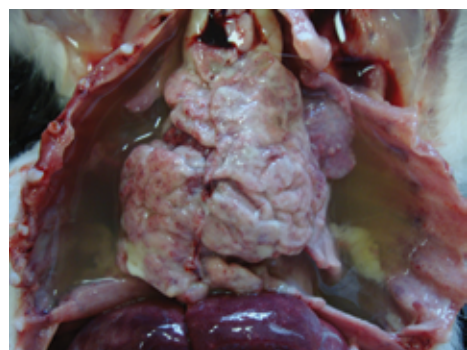


Рис. 13. Серозно-фибринозный плеврит.

узлах органов брюшной полости (рис. 8, 9) и в кишке.

В инфекционных болезнях, установленных в период 1975–1995 гг., значится бешенство у 4 животных. Эти случаи относятся к 1989 г. Тогда в Ломоносовском и Гатчинском районах Ленинградской области произошло



Рис. 8. ВЛК. Лимфома брыжеечных лимфоузлов.



Рис. 10. Сердце. Гипертрофическая кардиомиопатия.



Рис. 12. Хронический нефрит.

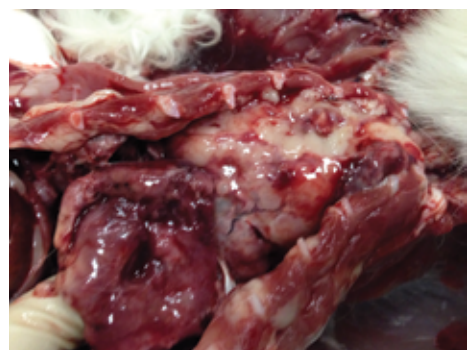


Рис. 14. Тимомы.

заболевание ряда животных бешенством, в том числе и 4 кошек, которые были вскрыты на Ленинградском утильзаводе (5).

Перечень незаразных болезней и причин смерти во все периоды исследования относительно постоянен. Это болезни легких и плевры, сердца, желудочно-кишечного

тракта, органов мочеотделения, опухоли, травма.

В последние годы заметно участились находки гипертрофической кардиомиопатии (у 9,6 % всех исследованных), проявляющейся в сильно выраженном утолщении миокарда левого желудочка и межжелудочковой перегородки (рис. 10). При этом соотношение толщины стенки левого желудочка к толщине стенки правого составляет 7–8 (и более) : 1, в то время как нормой считается соотношение 3–4 : 1 (рис. 11). Все 16 кошек умерли внезапно от отека легких: 8 – в возрасте от 2 месяцев до 1 года, остальные 8 – в возрасте от 1 до 5 лет. Их породная принадлежность: 7 – мейн-кун, 2 – британской породы, по 1 – скоттиш фолд, сфинкс и бурма, 4 помеси.

Довольно велика доля хронического нефрозо-нефрита (6,6 %), обычно с проявлением нефросклероза (рис. 12); нефрозо-нефрит находили преимущественно у животных старшего возраста.

Из года в год диагностируется «однотипный» серозно-фибринозный плеврит (рис. 13) примерно у 4 % кошек. Примечательно, что плеврит не сопровождается пневмонией; легкие – в состоянии компрессионного ателектаза.

Опухоли, выявленные в 2012–2015 гг., представлены карциномой толстой кишки, мезотелиомой брюшины, олигодендроглиомой головного мозга, саркомой мягких тканей и тимомой (рис. 14).

Среди причин смерти обращают на себя внимание случаи, когда смерть вызвали патологические состояния, которые могут быть отнесены, на наш взгляд, к ятрогенной патологии («врачебному браку»). Это: анафилаксия (в определенной мере), послеоперационное кровотечение и послеоперационный сепсис. По данным за 2012–2015 гг., они составили 4,8 %.

Нельзя не отметить, что перечень и соотношение болезней кошек и патологических состояний, явившихся причинами смерти (по результатам наших исследований в Санкт-Петербурге), на протяжении многих лет являются достаточно постоянными.

В сопоставлении с 1975–1995 гг. относительно невелик процент инвазионных болезней, приведших к смерти в 2012–2015 гг.: 4,9 % и 1,8 %.

Анализ результатов исследования в 2012–2015 гг. в сравнении с данными подобных исследований в предыдущие периоды дает основание прийти к ряду выводов.

Выводы

1. Исходя из секционных данных, причинами смерти кошек в Санкт-Петербурге в последние годы явились инфекционные и незаразные болезни примерно в равной пропорции.

2. В период с 1998 г. по 2005 г. среди причин смерти, установленных на вскрытии, отмечено увеличение доли инфекционных болезней по сравнению с периодом с 1975 г. по 1995 г.: в 1975–1995 гг. – 37,1 %, в 1998–2005 гг. – 54,8 %, с дальнейшим снижением в 2012–2015 гг. – 45,7 %.

3. Среди инфекционных болезней при патологоанатомическом исследовании наиболее часто диагностировали панлейкопению, инфекционный ринотрахеит и инфекционный перитонит.

4. Из незаразных болезней и патологических состояний наиболее часто причиной смерти были определены: гипертрофическая кардиомиопатия, нефрозо-нефрит, плеврит, опухоли, травма.

Список литературы

1. Кудряшов, А. А. Структура причин падежа кошек в Санкт-Петербурге [Текст] / А. А. Кудряшов // Ветеринария. – 1996. – № 12. – С. 51–52.
2. Кудряшов, А. А. Причины падежа собак и кошек (секционные данные) [Текст] / А. А. Кудряшов // Ветеринарная практика. – 2001. – № 2 (13). – С. 30–31.
3. Кудряшов, А. А. Структура причин падежа собак и кошек за 5 лет (секционные данные) [Текст] / А. А. Кудряшов, В. И. Балабанова, А. Н. Орехов // Ветеринарная практика. – 2006. – № 1 (32). – С. 35–39.
4. Кудряшов, А. А. Патологоанатомическое вскрытие трупов животных. – Часть 1. Условия вскрытия, порядок вскрытия трупов животных разных видов [Текст] / А. А. Кудряшов // Ветеринарная практика. – 2004. – № 4 (27). – С. 27–31.
5. Кудряшов, А. А. Случаи бешенства диких и домашних животных в Ленинградской области в 1989 г. [Текст] / А. А. Кудряшов, В. Г. Яшина // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2012. – № 3. – С. 43–46.

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 ненумерованные 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 (российские, 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 2015 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-2015», 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: глюкозамина гидрохлорид (100 мг); хонroitина 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, межпозвонковый 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: invetbio@mail.ru

