

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

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

Концевая С. Ю.,
проф., докт. вет. наук

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

Кузьмин В. А.
проф., докт. вет. наук

Панин А. Н.,
проф., докт. вет. наук,
акад. РАН

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 рекламы
обращайтесь:
e-mail: virclin@mail.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

Верстка
Кондрашенков С. В.
Корректура
Бушарова Ю. В.

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

ФИЗИОЛОГИЯ

Пудовкин Н. А., Салаутин В. В., Прохорова Т. М.
Влияние различных стресс-факторов на свободнорадикальное окисление липидов и поведение белых крыс 3

АНАТОМИЯ

Прусаков А.В., Зеленецкий Н.В.
Пути образования и морфология источников артериального кровоснабжения головного мозга кошки домашней 8

ЭМБРИОЛОГИЯ

Светашева Д.Р., Грушко М.П.
Сравнительная морфофизиологическая характеристика формирующихся органов кроветворения жабы зеленой (*Bufo Virdis Laurenti*, 1768) в личиночный период развития 12

МИКРОБИОЛОГИЯ

Мартыненко А.А.
Антибиотикочувствительность и антибиотикорезистентность эшерихий, выделенных в птицеводствах центрального региона Украины 20

Садртдинова Г. Р.
Характеристика роста бактерий вида *Klebsiella oxytoca* на средах, используемых в дифференциально-диагностических целях 25

ИММУНОЛОГИЯ

Жугунисов К.Д., Таранов Д.С., Ершебулов З.Д., Жунушов А.Т., Абдураимов Е.О.
Сравнительная оценка эффективности различных адъювантов при изготовлении инактивированной вакцины против блутанга 31

ГИСТОЛОГИЯ

Кошкина Н.А., Сунцова Н.А.
Цитоархитектоника заглочного медиального лимфатического узла у самцов и самок норок в возрасте 3-х месяцев 38

Сулейманов С.М., Павленко О.Б., Миронова Л.П., Паршин П.А.
Морфология молочной железы и клеточный состав молока у здоровых коров в период лактации 44

ДИАГНОСТИКА

Плисюк В.Н.
Вирусные инфекции как этиологический фактор кардиомиопатий у домашней кошки: клиническое исследование 50

Фомина Л. Л., Кулакова Т. С., Березина Д. И.
Определение активности плазменно-коагуляционного звена системы гемостаза рыб клоттинговыми методами с использованием коагулометра 54

СОБЫТИЯ 59

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 19.09.2017. Дата выхода: 26.09.2017. Отпечатано в типографии ООО «СМДЖИ ПРИНТ»: 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.
© ЧОУДПО «Институт Ветеринарной Биологии», Санкт-Петербург, 2017

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

Computer design Kondrashenkov S.V.

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

Kontsevaya S. U.,
Doctor of Science, Professor

Kuzmin V. A.,
Doctor of Science, Professor

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

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
e-mail: virclin@mail.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: Private
educational institution additional
professional education Institute
of Veterinary Biology

PHYSIOLOGY

Pudovkin N.A., Salautin V.V., Prokhorova T.M.
The influence of various stress-factors at free radical lipidization of oxides
and at behavior of white rats 3

ANATOMY

Prusakov A.V., Zelenevskiy N.V.
The ways of forming and morphology of sources of arterial blood supply of domestic cat 8

EMBRIOLOGY

Svetasheva D.R., Grushko M.P.
Comparative morphophysiological characteristics of forming hematopoiesis organs of European
green toad (*Bufo Viridis Laurenti*, 1768) of larval stage of development 12

MICROBIOLOGY

Martynenko A.A.
Antibiotic sensitivity and antibiotic resistance of escherichia coli isolated from poultry farms
of Ukraine's central region 20

Sadrtdinova G.R.
Growth characteristic of bacteria *Klebsiella oxytoca* at nutrient media used
at differential diagnostic objectives 25

IMMUNOLOGY

Zhugunisov K.D., Taranov D.S., Yershebulov Z.D., Zhunushov A.T., Abduraimov Y.O.
The comparative evaluation of different adjuvants at manufacturing of an inactivated
bluetongue disease vaccine 31

GISTOLOGY

Koshkina N.A., Suntsova N.A.
The cytoarchitecture of the medial retropharyngeal lymph node of 3 months old
mink males and females 38

Suleymanov S.M., Pavlenko O.B., Mironova L.P., Parshin P.A.
Morphology of mammary gland and milk cellular composition of healthy cows
in the lactation period 44

DIAGNOSIS

Plisyuk N.V.
Viral infections as etiological factor of domestic cat's cardiomyopathies: the clinical study..... 50

Fomina L.L., Kulakova T.S., Berezina D.I.
Determination of plasma-coagulation unit activity of fish hemostasis system
by clotting methods using the coagulometer 54

EVENTS 59

INFORMATION 60

Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumskaya st., 3-5. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru
Signed for press on 19.09.2017. Issue date: 26.09.2017. Printed at printing house SMG Print, Ltd.: 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.
© Private educational institution additional professional education Institute of Veterinary Biology, Saint-Petersburg, 2017

УДК 616.89:541.515

Ключевые слова: стресс-фактор, перекисное окисление липидов, каталаза, поведение, белые крысы

Key words: stress-factor, lipid peroxidation, catalase, behavior, white rats

Пудовкин Н. А., Салаутин В. В., Прохорова Т. М.

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕСС-ФАКТОРОВ НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ
ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС**
*THE INFLUENCE OF VARIOUS STRESS-FACTORS AT FREE RADICAL LIPIDIZATION
OF OXIDES AND AT BEHAVIOR OF WHITE RATS*

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова»

Адрес: 410012, Россия, г. Саратов, Театральная пл., д. 1

Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Federal State Budget Institution of Higher Education

Address: 410012, Russia, Saratov, Teatralnaya sq., 1

Пудовкин Николай Александрович, д. б. н., доцент каф. морфологии, патологии животных и биологии.

E-mail: niko-pudovkin@yandex.ru. Тел. (8452) 69-25-32

*Pudovkin Nikolay A., Doctor of Biological Sciences, Associate Professor of the Dept. of Morphology,
Animal Pathology and Biology. E-mail: niko-pudovkin@yandex.ru. Tel. +7 (8452) 69-25-32*

Салаутин Владимир Васильевич, д. в. н., профессор, зав. каф. морфологии, патологии животных и биологии.

E-mail: salautin60@mail.ru. Тел. (8452) 69-25-32

*Salautin Vladimir V., Doctor of Veterinary Science, Professor, Head of the Dept. Morphology,
Animal Pathology and Biology. E-mail: salautin60@mail.ru. Tel. +7 (8452) 69-25-32*

Прохорова Татьяна Михайловна, к. б. н., ст. преподаватель каф. морфологии, патологии животных и биологии.

E-mail: prokhorovtm@yandex.ru. Тел. (8452) 69-25-32

*Prokhorova Tatyana M., PhD in Biological Sciences, Senior Lecturer of the Dept. Morphology,
Pathology and Animal Biology. E-mail: prokhorovtm@yandex.ru. Tel. +7 (8452) 69-25-32*

Аннотация. В статье изложены результаты исследований по влиянию различных стресс-факторов на свободнорадикальное окисление липидов и поведение белых крыс. После воздействия стресс-факторов в виде эмоционально-болевого и иммобилизационного стресса двигательная активность белых крыс понизилась до 82 и 76 % соответственно относительно контроля. Вертикальная активность в виде стоек у контрольных крыс составляла всего 15,0 %, после воздействия эмоционально-болевого и иммобилизационного стресс-факторов – 18 и 24 % соответственно относительно общей двигательной активности. При подсчете количества горизонтальных и вертикальных локомоций было установлено, что у животных, подвергнутых стресс-факторам, происходило значительное снижение количества вертикальных стоек по сравнению с крысами в нормальном состоянии. Значительно повысилось количество случаев груминга и актов дефекации. Полученные результаты исследований свидетельствуют о вовлеченности морфофункциональных нарушений, регистрируемых в организме переживших стресс крыс, в формирование и поддержание в эксперименте посттравматических поведенческих и эмоциональных отклонений. Организм на действие стресс-факторов отвечает активацией прооксидации липидов, а компенсаторная система организма - увеличением активности каталазы.

Summary. *The article presents the results of studies about the influence of various stress-factors at free radical lipid oxidation and at behavior of white rats. The motor activity of white rats dropped to 82 and 76%, respectively, relative to control after the impact of stress factors in the form of emotional pain stress and immobilization stress. Vertical activity in the form of pillars in control subjects was only 15.0 %, after the impact of emotional pain stress and immobilization stress factors – 18 and 24 %, respectively, relative to general motor activity. When calculating the number of horizontal and vertical locomotions, it was found that among animals subjected to stress factors, there was a significant decrease of the number of vertical racks compared to rats in the normal state. The number of grooming acts and acts of defecation was significantly increased. The obtained results of the studies testify about the involvement of morphofunctional disorders in the formation and maintenance of posttraumatic behavioral and emotional abnormalities in experimental rats, who survived after stress. The organism responds at action of stress factors with activation of lipid peroxidation and the compensatory system of the body responds by an increase in catalase activity.*

Введение

В настоящее время давление стресса на живые организмы, включая человека, не только не уменьшается, а наоборот увеличивается, и потому проблемы

индивидуальных и типологических основ устойчивости к стрессу приобретают общебиологическую актуальность. Реактивность к стрессу, стрессоустойчивость являются основными критериями приспо-

собленности и жизнеспособности при изменении условий обитания, в экстремальных ситуациях и при других стрессовых воздействиях. В последние десятилетия широкое признание завоевала точка зрения, согласно которой устойчивость организма к действию физических и эмоциональных стресс-факторов определяется индивидуальным набором антистрессовых защитных механизмов [3].

Выявление структурных и функциональных основ поведенческих отклонений, формирующихся в результате воздействия экстремальных стрессовых факторов, в опыте на животных представляет актуальную проблему в области экспериментальной биологической науки.

Материалы и методы

Исследования проводились в лаборатории кафедры морфологии, патологии животных и биологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

Эксперименты выполнены на самцах нелинейных белых крыс 3,5–4 месячного возраста.

Для моделирования острого эмоционально-болевого стресса крысам в течение 0,5 ч (непродолжительный стресс) через каждые 10 секунд в беспорядочном режиме подавали один из трех сигналов одной секунды длительностью: вспышка света (лампа накали-

вания мощностью 200 Вт, расстояние 0,5 м), звук (90 Дб). Гипокинезию у крыс моделировали путем помещения их в тесные пластиковые пеналы из оргстекла, добиваясь резкого ограничения движения животных [1].

Поведенческую активность изучали методом «Открытое поле». Проводили количественный учет следующих форм поведения: бодрствование, вставание на задние лапы, горизонтальная активность, прием пищи, питье, груминг и мелкая двигательная активность. Тестирование проводили в одно и то же время суток, по десять минут. Каждое животное тестировали 10 раз. Количественный учет реализуемой поведенческой функции осуществляли каждые 15 секунд [6, 12].

Определение содержания малонового диальдегида (МДА) проводили тиобарбитуровым методом [11].

Определение диеновых конъюгатов (ДК) в сыворотке крови определяли спектрометрическим методом [10].

Антиоксидантную обеспеченность организма оценивали по активности фермента каталазы в сыворотке крови и гомогенатах [5].

Результаты исследований и обсуждение

Первым этапом наших исследований было определение активности животных после воздействия стресс-факторов. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Показатели ориентировочно-исследовательского поведения белых крыс в тесте «Открытое поле» после воздействия стресс-факторов (n=6)

Показатели ОИП	Контроль	Эмоционально-болевого стресс	Имобилизационный стресс
Период первого перемещения, сек	4,5±0,8	6,5±0,5*	6,0±0,33*
Число пересеченных периферических квадратов, шт	20,2±1,4	12,7±0,5*	12,5±0,66*
Число пересеченных центральных квадратов, шт	2,5±0,3	2,2±0,5	3,0±0,5
Число периферических стоек, шт	3,3±0,4	3,3±0,4	4,0±0,5
Число центральных стоек, шт	0,8±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1
Груминг, шт	3,0±0,1	6,0±0,1*	6,0±0,1*
Болюсы, шт	0,6±0,2	3,5±0,5*	3,0±0,6*

Примечание: (*) P≤0,05.

Установлено, что латентный период первого перемещения обследованных крыс был непродолжительным – в среднем $4,5 \pm 0,8$ сек (табл. 1). Основными проявлениями ориентировочно-исследовательского поведения (ОИП) были побежки по поверхности поля, оцениваемые по числу пересеченных квадратов. От общего числа проявлений ОИП они составляли до 85 %. Животные двигались в основном по периферии «Открытого поля», реже – выходили в центральную его часть. Периоды груминга были довольно редкими и непродолжительными.

После воздействия стресс-факторов двигательная активность понизилась до 82 и 76 % соответственно. Вертикальная активность в виде стоек (ЦС и ПС) у контрольных составила всего 15 %. После воздействия эмоционально-болевого и иммобилизационного стресс-факторов – 18 и 24 % соответственно. При подсчете количества горизонтальных и вертикальных локомоций было установлено, что у животных, подверженных стресс-факторам, происходило значительное снижение количества вертикальных стоек по сравнению с контролем. Значительно повысилось количество случаев груминга и актов дефекации что, по-видимому, связано с воздействием стрессовых факторов на организм животных [7].

Следующим этапом наших исследований было изучение влияний стресс-факторов на процессы перекисного окисления липидов в организме белых крыс.

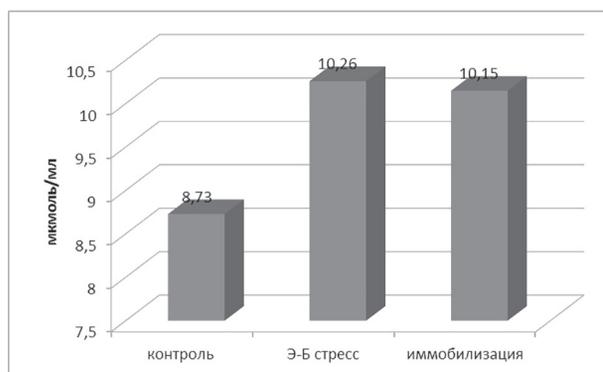


Рис. 1. Влияние стресс-факторов на содержание диеновых конъюгатов (мкмоль/мл) в сыворотке крови белых крыс (n=6)

Анализируя результаты, представленные на рисунке 1, установлено, что исходная концентрация диеновых конъюгатов в плазме крови составила $8,7 \pm 0,7$ мкмоль/мл.

После воздействия стресс-факторов содержание в сыворотке крови молекул с двумя сопряженными связями (диеновых конъюгатов) повысилось на 17,5 % ($10,3 \pm 0,3$ мкмоль/мл) и на 16,3 % ($10,2 \pm 0,7$ мкмоль/мл) по сравнению с контролем (при $P \leq 0,05$).

Установлено, что концентрация малонового диальдегида в сыворотке крови после воздействия стресс-факторов повысилась на 30,2 и 17,7 % соответственно (табл. 2).

Содержание МДА в печени повысилось на 10,2 % после эмоционально-болевого стресса и 8,2 % - после иммобилизационного стресса. В почках концентрация МДА повысилась на 21,6 % (эмоциональ-

Таблица 2.

Влияние стресс-факторов на содержание малонового диальдегида (нмоль/г) в тканях белых крыс (n=6)

№ п/п	Показатель	Контроль	Стресс-фактор	
			Э-Б стресс	Иммобилизация
1	Сыворотка крови	$7,95 \pm 0,88$	$10,35 \pm 0,25^*$	$9,36 \pm 0,33^*$
2	Головной мозг	$10,43 \pm 0,70$	$11,23 \pm 0,33$	$11,89 \pm 0,66$
3	Легкие	$14,02 \pm 0,53$	$11,15 \pm 0,45^*$	$11,87 \pm 0,33^*$
4	Почки	$12,23 \pm 0,80$	$14,87 \pm 0,75^*$	$12,03 \pm 0,53$
5	Печень	$13,00 \pm 1,00$	$14,32 \pm 0,21$	$14,06 \pm 0,24$
6	Сердце	$7,70 \pm 0,63$	$8,92 \pm 0,41^*$	$9,25 \pm 0,41^*$

Примечание: (*) $P \leq 0,05$.

но-болевого стресс) и на 6,6 % (иммобилизация).

Исходная концентрация МДА в тканях головного мозга составила ($10,43 \pm 0,70$) нмоль/г. После действия эмоционально-болевого и иммобилизационного стресс-факторов – ($11,23 \pm 0,33$) нмоль/г и ($11,89 \pm 0,66$) нмоль/г соответственно. Увеличению содержания МДА в головном мозге способствует высокое содержание в нем легко окисляемых субстратов, таких как полиненасыщенные жирные кислоты, и сравнительно низкий уровень антиоксидантов [4].

Содержание МДА в легких понижается на 25,7 и 11,9 % по сравнению с контролем.

Исходное содержание МДА в сердечной мышце составило ($7,70 \pm 0,63$) нмоль/г. После воздействия стресс-факторов концентрация малонового диальдегида повысилась на 15,9 % ($8,92 \pm 0,41$ нмоль/г) и на 20,1 % ($9,25 \pm 0,41$ нмоль/г) соответственно.

Полученные нами результаты подтверждают данные литературы об активации процессов перекисного окисления липидов при различных видах стресса. Усиление липопероксидации в тканях связано с расстройством микроциркуляции и с нарушением функционирования дыхательной цепи митохондрий при стрессе [2, 8, 9].

Наиболее высокая активность фермента у контрольных животных обнаружена в печени и почках (табл. 3). Полученные нами результаты согласуются с литературными данными [4].

После воздействия стресс-факторов происходит повышение активности каталазы в печени. Так, после эмоционально-болевого стресс-фактора активность фермента повысилась до 76,23 ммоль/л, а после иммобилизационного стресс-фактора – до 79,13 ммоль/л. У контрольных животных активность фермента в тканях печени составила 63,23 ммоль/л.

В почках после воздействия стресс-факторов также отмечали стабильное повышение активности фермента на 4,5 % и 9,1 % по сравнению с контролем.

В тканях легких и сыворотке крови достоверных различий в активности каталазы не выявлено.

В головном мозге активность каталазы возросла на 29,9 % (эмоционально-болевого стресс) и на 26,9 % (иммобилизация) по сравнению с контрольными показателями.

Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют о морфофункциональных нарушениях, регистрируемых в организме переживших стресс крыс, в формировании и поддержании в эксперименте посттравматических поведенческих и эмоциональных отклонений. Организм на действие стресс-факторов отвечает активацией прооксидации липидов, а компенсаторная система организма – увеличением активности каталазы.

Список литературы

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

Таблица 3.

Влияние стресс-факторов на активность каталазы (ммоль/л) в тканях белых крыс (n=6)

№ п/п	Показатель	Контроль	Стресс-фактор	
			Э-Б стресс	Иммобилизация
1	Сыворотка крови	18,97±0,58	20,17±1,13*	19,95±0,66
2	Головной мозг	10,01±0,13	13,00±1,11*	12,70±0,47*
3	Легкие	38,93±0,85	37,72±1,31	38,16±1,11
4	Почки	61,56±0,55	64,39±1,13	67,17±1,54*
5	Печень	63,23±0,98	76,23±1,06*	79,13±1,54*
6	Сердце	24,36±1,23	25,00±1,00	26,41±1,16

Примечание (*) P ≤ 0,05

2. Дубинина, Е. Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса [Текст] / Е. Е. Дубинина // Вопросы медицинской химии. – 2001. – № 47 (6). – С. 561–581.

3. Исмаилова, Х. Ю. Индивидуальные особенности поведения (моноаминергические механизмы) [Текст] / Х. Ю. Исмаилова, Т. М. Агеев, Т. П. Семенова. – Баку: «Нурлан», 2007. – С. 4–6.

4. Кольман, Я. Наглядная биохимия [Текст] / Я. Кольман, К. Г. Рем: Пер. с нем. – М.: «Мир», 2000. – 469 с.

5. Королюк, М. А. Метод определения активности каталазы [Текст] / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др. // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

6. Курьянова, Е. В. Половые и типологические различия поведенческой активности нелинейных крыс в тесте «Открытое поле» [Текст] / Е. В. Курьянова, А. С. Укад, Ю. Д. Жукова // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5. – С. 460.

7. Ломтева, Н. А. Влияние стресс-индуцирующих факторов и α -токоферола на поведение и свободно-радикальные процессы у самок белых крыс в разные фазы эстрального цикла: автореф. дис. ... канд. биол. наук [Текст] / Н. А. Ломтева. – Астрахань, 2003. – 23 с.

8. Любин, Н. А. Функциональное состояние системы антиоксидантной защиты и свободнорадикального окисления у свиней в зависимости от применения различных форм витамина А и Бета-каротина [Текст] / Н. А. Любин, И. И. Стеценко, Е. Н. Любина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. – № 1 (21). – С. 54–59.

9. Солин, А. В. Перекисное окисление липидов при иммобилизационном стрессе различной продолжительности [Текст] / А. В. Солин, Ю. Д. Ляшев // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2013. – Т. 99. – № 6. – С. 751–755.

10. Стальная, И. Д., Гаришвили, Т. Г. Методы определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот [Текст] / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.

11. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты [Текст] / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.

12. Desiderato, O. Development of gastric ulcers in rats following stress termination [Текст] / O. Desiderato, J. R. Mac Kinnon, H. J. Hisson // Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – V. 87. – P. 208–214.

реклама



ВЕТЕРИНАР.ru

Всё о ветеринарии для врачей и владельцев животных

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

Заходите на www.veterinar.ru, и Вы найдёте много интересной и полезной информации!

Приглашаем к сотрудничеству ветеринарных врачей и организации.

e-mail: invet@inbox.ru boldyрева@mail.ru

тел.: 8 (909) 646-76-43, 8 (916) 181-95-58

УДК:611.133.33:636.8

Ключевые слова: кровоснабжение головного мозга, кошка домашняя, внутренняя сонная артерия, позвоночная артерия, основная артерия мозга

Key words: cerebral blood supply, domestic cat, internal carotid artery, vertebral artery, main brain artery

Прусаков А.В., Зеленецкий Н.В.

ПУТИ ОБРАЗОВАНИЯ И МОРФОЛОГИЯ ИСТОЧНИКОВ АРТЕРИАЛЬНОГО КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КОШКИ ДОМАШНЕЙ *THE WAYS OF FORMING AND MORPHOLOGY OF SOURCES OF ARTERIAL BLOOD SUPPLY OF DOMESTIC CAT*

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

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

Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine,

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5

Прусаков Алексей Викторович, к.в.н., доцент кафедры анатомии животных

Prusakov Alexey V., PhD in Veterinary Science, Associate Professor of the Dept. of Animal

Зеленецкий Николай Вячеславович, д.в.н., профессор кафедры анатомии животных

Zelenevskiy Nikolay V., PhD in Veterinary Science, Associate Professor of the Dept. of Animal Anatomy

Аннотация. В качестве материала для исследования использовали трупы десяти кошек разных пород. Исследование проводили с применением методики вазорентгенографии. В качестве рентгеноконтрастной массы использовали взвесь свинцового сурика в скипидаре со спиртом этиловым ректифицированным. Инъекцию осуществляли через брюшную аорту.

Установили, что в кровоснабжении головного мозга у кошки домашней принимают участие парные внутренние сонные и позвоночные артерии. Внутренние сонные артерии образуют каротидный бассейн кровоснабжения и берут начало от общих сонных артерий. Внутренние сонные артерии следуют через сонные отверстия в полость черепа. На базальной поверхности головного мозга они делятся на ростральную и аборальную соединительные артерии. Последние, объединяясь друг с другом, образуют вокруг гипофиза Виллизиев круг. Позвоночные артерии берут начало от подключичных артерий соответствующей стороны и образуют вертебробазилярный бассейн кровоснабжения головного мозга. Достигнув крыла атланта, позвоночная артерия разделяется на латеральную и медиальную ветви. Медиальная ветвь проникает в позвоночный канал как спинномозговая артерия, прободает твердую оболочку и выходит на вентральную поверхность спинного мозга. Здесь обе спинномозговые артерии объединяются друг с другом и образуют основную артерию мозга. Последняя отдает артериальные ветви, питающие задний мозг, и вливается в каудальную петлю Виллизиева круга.

Проанализировав морфометрические данные суммарного просвета внутренних сонных артерий и просвета основной артерии мозга, можно прийти к выводу, что у изучаемых животных по внутренним сонным артериям поступает 75,45%, а по основной артерии мозга - 24,55% крови, необходимой для питания головного мозга.

Summary. *Corpses of ten cats of different breeds were used as a material for the study. The study was carried out using the technique of vasorectography. Suspension of red in turpentine with ethyl alcohol rectified was used as a radiocontrast mass. The injection was performed through the abdominal aorta.*

It was established that paired internal carotid and vertebral arteries are involved in the blood supply of domestic cat's brain. The internal carotid arteries form the carotid blood supply basin and originate from the common carotid arteries. Internal carotid arteries follow through the carotid canal into cranial cavity. They are divided at the rostral and aboral connective arteries on the basal surface of the brain. The latter one unites with each other forming the circle of Willis around the pituitary gland.

Vertebral arteries originate from the subclavian arteries of the corresponding side and form the vertebrobasilar pool of brain blood supply. The vertebral artery is divided to the lateral and medial branches when reached the wing of the atlas. The medial branch penetrates the vertebral canal as a spinal artery, perforates the hard shell and comes out to the ventral surface of the spinal cord. Both spinal arteries unite with each other and form the main artery of the brain at this point. The latter one gives the arterial branches that feed the hindbrain and joins the caudal loop of the circle of Willis.

We analyze the morphometric data of the total lumen of the internal carotid arteries in animals and the lumen of the main artery of the brain and concluded that 75.45% of blood that need for nutrition of brain receive from the internal carotid arteries and 24.55% of blood receive from the main artery of the brain.

Введение

Головной мозг млекопитающих животных получает артериальную кровь из вертебрально-базиллярного и каротидного бассейнов. Источники их образования относительно независимы друг от друга. Каротидный бассейн образуется за счет парных внутренних сонных артерий и в основном участвует в кровоснабжении большого мозга. Вертебрально-базиллярный бассейн снабжает кровью задний мозг. В его образовании участвуют парные позвоночные артерии. Оба бассейна сливаются друг с другом благодаря уникальному анастомозу, расположенному на основании головного мозга, – Виллизиеву кругу. Последний необходим для выравнивания давления между четырьмя источниками кровоснабжения. Также, благодаря его наличию, существует возможность осуществления коллатерального кровотока при выключении одного из источников. У разных видов животных степень развития обоих бассейнов неравнозначна. Данное обстоятельство, по-видимому, связано со степенью развития головного мозга.

Изучение особенностей морфологии источников кровоснабжения головного мозга у животных, а в частности у домашних плотоядных, имеет большое значение не только для сравнительной анатомии, но и для практической ветеринарии. Это связано с тем, что большинство часто возникающих у животных болезней головного мозга связаны с патологией его кровеносной системы.

В литературных источниках имеются отрывочные и противоречивые данные, касающиеся морфологии источников кровоснабжения головного мозга у кошки домашней. В основном сведения по этому вопросу содержатся в учебной литературе и имеют обобщенный характер.

Учитывая вышесказанное, мы поставили перед собой задачу изучить пути формирования и морфологию источников артериального кровоснабжения головного мозга у кошки домашней.

Материалы и методы

В качестве материала нами были использованы десять трупов кошек разных пород.

Исследование проводили с применением методики вазорентгенографии. В качестве рентгеноконтрастной массы использовали взвесь свинцового сурика в скипидаре со спиртом этиловым ректифицированным (сурик свинцовый 10%, скипидар живичный 30–60%, спирт до 100%). Инъекцию осуществляли через брюшную аорту. При указании анатомических терминов использовали Международную ветеринарную анатомическую номенклатуру пятой редакции (Зеленевский Н.В. (2013 г.)).

Результаты исследований и обсуждение

В результате проведенного исследования было установлено, что в кровоснабжении головного мозга у кошки домашней принимают участие парные внутренние сонные и позвоночные артерии.

Внутренние сонные артерии у изучаемых животных образуют каротидный бассейн кровоснабжения головного мозга. Правая ($1,23 \pm 0,13$; здесь и далее измерение диаметра просвета сосуда приводится в миллиметрах) и левая ($1,26 \pm 0,13$) внутренние сонные артерии берут свое начало от правой ($1,56 \pm 0,17$) и левой ($1,62 \pm 0,17$) общих сонных артерий. Последние берут начало от плечевого артерии. Плечеголовная артерия ($2,32 \pm 0,25$) у изучаемых животных отходит от дуги аорты ($4,37 \pm 0,47$) после отхождения от нее левой подключичной артерии ($1,68 \pm 0,18$). Первоначально плечеголовная артерия отдает левую, а затем правую общие сонные артерии, после чего получает название правой подключичной артерии ($1,66 \pm 0,17$).

Каждая из общих сонных артерий следует в краниальном направлении в сторону головы. Первоначально данная магистраль следует вдоль вентролатеральной поверхности трахеи. В средней части трахеи она перемещается на ее дорсальную поверхность. С латеральной стороны ее прикрывает плечеподъязычной мышца. Последняя отделяет ее от наружной яремной вены. По своему ходу в области шеи внутренняя сонная артерия отдает тонкие ветви для ее вентральных мышц, а также ветви к пищеводу и трахее. Достигнув гортани, магистраль отдает краниоventрально направленные краниальную

гортанную и восходящую глоточную артерии. Краниальная гортанная артерия питает слизистую оболочку и мышцы гортани, восходящая глоточная артерия снабжает кровью мышцы глотки и мягкого нёба.

На уровне атлантозатылочного сустава каждая из общих сонных артерий подразделяется на наружную и внутреннюю сонную артерии. Правая ($1,23 \pm 0,13$) и левая наружные сонные ($1,24 \pm 0,13$) артерии являются основными артериальными магистральями области головы. Правая и левая внутренние сонные артерии следуют в сторону сонного отверстия, образуя до проникновения в него S-образный изгиб. По-видимому, данный изгиб служит запасом длины артерии, который необходим при поворотах головы и шеи. Проникнув в полость черепа, внутренние сонные артерии проходят через пещеристый синус, прободают твердую оболочку и на базальной поверхности делятся на роstralную и аборальную соединительные артерии. Последние, объединяясь друг с другом, образуют вокруг гипофиза Виллизиев круг. От последнего отходят артерии, питающие большой мозг.

Позвоночные артерии изучаемых животных берут начало от подключичных артерий соответствующей стороны и образуют вертебробазиллярный бассейн артериального кровоснабжения головного мозга. Правая ($1,32 \pm 0,14$) и левая ($1,35 \pm 0,14$) позвоночные артерии покидают грудную полость, огибая шейку первого ребра с медиальной стороны и проходя по медиальной поверхности лестничной мышцы. Достигнув поперечного отверстия шестого шейного позвонка, проникают в него и следуют в поперечном канале. Последний образован поперечными отверстиями последующих позвонков. Следуя в составе поперечного канала, позвоночная артерия в каждом сегменте отдает три ветви. Дорсальная и вентральная ветви снабжают соответствующие мышцы шеи, а спинномозговая ветвь проникает в позвоночный канал, где участвует в кровоснабжении спинного мозга. Наибольшего развития из сегментальных ветвей позвоночных арте-

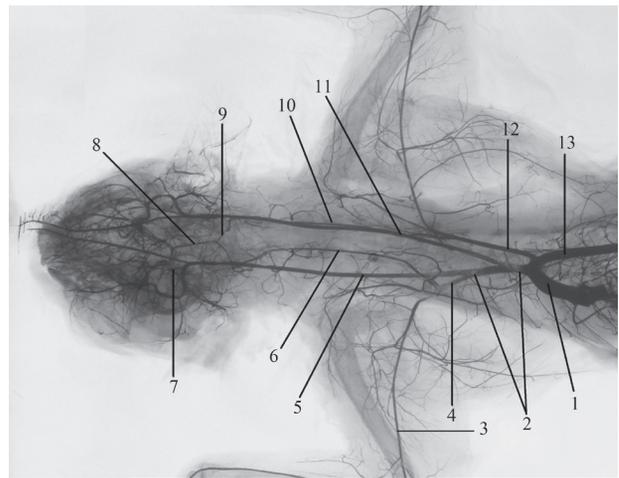


Рис. 1. Вазорентгенограмма артериальных ветвей дуги аорты кошки:

1 – дуга аорты; 2 – плечеголовная артерия; 3 – плечевая артерия; 4 – правая подключичная артерия; 5 – правая общая сонная артерия; 6 – правая позвоночная артерия; 7 – правая внутренняя сонная артерия; 8 – основная артерия мозга; 9 – левая спинномозговая артерия; 10 – левая позвоночная артерия; 11 – левая общая сонная артерия; 12 – левая подключичная артерия; 13 – грудная аорта.

рий получает дорсальная мышечная ветвь, расположенная между вторым и третьим шейными позвонками. Данный сосуд под названием краниальной шейной ветви ($0,81 \pm 0,09$) разветвляется в дорсальных мышцах атлантозатылочного и атлантоосевого суставов, анастомозируя с конечной ветвью глубокой шейной артерии.

Достигнув крыла атланта, позвоночная артерия подразделяется на латеральную и медиальную ветви. Латеральная ветвь анастомозирует с ветвями затылочной артерии. Медиальная ветвь проникает в позвоночный канал как спинномозговая артерия, прободает твердую оболочку и выходит на вентральную поверхность спинного мозга. Здесь правая ($0,78 \pm 0,08$) и левая ($0,80 \pm 0,08$) спинномозговые артерии объединяются друг с другом и образуют основную артерию мозга ($0,84 \pm 0,09$). Последняя отдает артериальные ветви, питающие задний мозг, и вливается в каудальную петлю Виллизиева круга.

Заключение

Таким образом, в кровоснабжении головного мозга у кошки домашней принимают участие парные внутренние сонные и

позвоночные артерии. Внутренние сонные артерии, объединяясь своими ветвями, образуют Виллизиев круг. Последний дает начало артериям, питающим большой мозг. В каудальный конец Виллизиева круга впадает основная артерия мозга, которая образуется за счет слияния ветвей позвоночных артерий. Проанализировав морфометрические данные суммарного просвета внутренних сонных артерий и просвета основной артерии мозга, можно прийти к выводу, что у изучаемых животных по внутренним сонным артериям поступает 75,45 %, а по основной артерии мозга 24,55 % крови, необходимой для питания головного мозга.

Список литературы

1. Зеленецкий, Н.В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура. Пятая редакция [Текст] / Н. В. Зеленецкий. – СПб. : «Лань», 2013. – С. 400.

2. Прусаков, А.В., Вирунен, С.В. Позвоночная артерия как один из путей кровоснабжения головного и спинного мозга таксы [Текст] / А. В. Прусаков, С. В. Вирунен // Международник ветеринарии. – СПб., 2014. – №2. – С. 63–66.

3. Прусаков, А.В. Особенности рентгеноанатомии артериального сосудистого русла головного мозга таксы [Текст] / А. В. Прусаков // Научно-практический журнал «Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины». – Казань, 2014. – С. 215–220.

4. Прусаков, А.В. и др. Основные методики изучения артериальной системы, применяемые на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГАВМ [Текст] / А.В. Прусаков, М.В.Щипакин, Ю.Ю.Бартенева, С.В. Вирунен, Д.В.Васильев / Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 4. – С. 255–259.

5. Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.C. Textbook of veterinary anatomy [Текст] / K. M.Dyce, W. O. Sack, C. J. C. Wensing. – London, 1987. – 820p.

6. Klaus-Dieter, Budras, Habel, Robert E.. Bovine anatomy [Текст] / Budras Klaus-Dieter, Robert E.Habel. – Germany, 2003. – 138p.



В издательстве Института Ветеринарной Биологии
вышли в свет полноцветные книги:

• «Ультразвуковое и рентгенологическое исследование брюшной полости мелких домашних животных»

Автор — Бушарова Елена Владимировна, ведущий ветврач-терапевт, преподаватель курсов повышения квалификации



• «Патологоанатомическая диагностика болезней собак и кошек»

(допущено МСХ РФ в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности «Ветеринария»)

Автор — Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., профессор



Рис. 75. Дирофиляриоз у собаки.



Рис. 22. Туберкулез у собаки. Жемчужница.



Рис. 109. Лимфома брыжеечных лимфоузлов.

Заказать эти и другие книги по ветеринарии можно
по т. (812) 612-13-34 доб. 208; (812) 232-55-92 доб. 208 или по Email: ivb-info@mail.ru

УДК 597.841.-144.4/.146.:597.841.-13

Ключевые слова: кроветворение, мезонефрос, селезенка, печень, кишечник, костный мозг

Key words: hematopoiesis, mesonephrosis, spleen, liver, intestine, bone marrow

Светашева Д. Р., Грушко М. П.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОРМИРУЮЩИХСЯ ОРГАНОВ КРОВЕТВОРЕНИЯ ЖАБЫ ЗЕЛЕННОЙ (*BUFO VIRIDIS LAURENTI*, 1768) В ЛИЧИНОЧНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ COMPARATIVE MORPHOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FORMING HEMATOPOIESIS ORGANS OF EUROPEAN GREEN TOAD (*BUFO VIRIDIS LAURENTI*, 1768) OF LARVAL STAGE OF DEVELOPMENT

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет»

Адрес: 414056, Россия, г. Астрахань, ул. Татищева, д. 16

Astrakhan State Technical University,

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

Address: 414056, Russia, Astrakhan, Tatishcheva str., 16

Светашева Диана Рафаиловна, аспирант кафедры гидробиологии и общей экологии.

E-mail: svetashevadr@yandex.ru. Тел. +7-964-885-99-57

Svetasheva Diana R., Post-Graduate Student of the Dept. of Hydrobiology and General Ecology.

E-mail: svetashevadr@yandex.ru. Тел. +7-964-885-99-57

Грушко Мария Павловна, д. б. н., профессор кафедры гидробиологии и общей экологии.

E-mail: mgrushko@mail.ru. Тел. +7-960-853-48-20

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

E-mail: mgrushko@mail.ru. Тел. +7-960-853-48-20

Аннотация. У личинок жабы зеленой (*Bufo Viridis Laurenti*, 1768) с первых дней развития почка выполняла кроветворную функцию. Основная масса среди формирующихся элементов крови приходилась на клетки эритропоэтического и гранулопоэтического рядов. Малочисленными были клетки агранулоцитопоэтического ряда. На второй неделе развития личинки в мезонефросе наблюдались пойкилоцитоз эритроцитов и заполнение белком почечных канальцев. С первых дней развития в межклеточном пространстве печени были обнаружены элементы крови всех рядов кроветворения. Отмечены измененные эритроциты. Отмечено присутствие бластных клеток крови. К 20-м суткам личиночного развития печень головастика жабы имела выраженную сосудистую структуру. Элементный состав крови печени двадцатидневной личинки характеризовался преобладанием гранулоцитопоэтического и агранулоцитопоэтического рядов. В печени была отмечена значительная инфильтрация лимфоцитами. Костная ткань и кишечник у личинок функционируют как органы кроветворения только к 20-му дню после вылупления. При этом в бедренной кости обнаруживается красный костный мозг, который практически полностью состоит из кроветворных элементов красной крови.

Summary. The kidney performed a hematopoietic function from the first days of European green toad development (*Bufo Viridis Laurenti*, 1768). Major part among the formed blood elements consisted of cells of erythropoietic and granulopoiesis range. The cells of granulocytopenia series were scanty. Poikilocytosis of erythrocytes and filling protein of the renal tubules were observed into mid-kidney at the second week larvae development. Hematopoiesis blood cells of all series were discovered into intercellular space of the liver at first days of development. Erythrocytes with pathology were marked. The presence of blood blast cells were noted. The liver of toad tadpole had an expressed vascular structure to the 20th day of larval development. The elemental blood composition of twenty-day-old larvae liver was characterized by a prevalence of granulocytopenia and granulocytopenia range. Infiltration by lymphocytes was marked in the liver. The larvae bone and intestine function as haemopoiesis organs only to the 20th day after hatching. Thus the red bone marrow was detected in the femur; it composed from hematopoietic elements red blood almost entirely.

Введение

Процесс развития всегда сопровождается возникновением новых, постоянных и необратимых структурных изменений, которые занимают определенный период индивидуального

развития, характерный только для представителя данного вида [1]. Представление о гистоструктуре в динамике дает ключ к пониманию не только особенностей физиологии органов организма в разные возрастные периоды, но

и многих процессов патологии [4]. Земноводные характеризуются вполне развитой кровеносной и иммунной системами, таким образом, особый интерес представляет изучение физиологии и развития кровеносных органов личинок жабы зеленой. Гибель организма, аномалии, связанные с отклонениями от нормального хода развития, различные нарушения морфологической структуры клеток крови могут служить показателями неблагополучного состояния среды обитания животных [3]. В последние годы в связи с изменившейся экологической обстановкой большой интерес представляет изучение постэмбрионального развития организмов. Цель исследования – изучить развитие и морфофизиологию органов кровеносения личинки жабы зеленой в раннем онтогенезе.

Материалы и методы

Объектами исследования по изучению раннего онтогенеза и определению особенностей развития органов кровеносения послужили личинки жабы зеленой (*Bufo viridis Laurenti*, 1768), выловленные в городском водоеме Золотой Затон г. Астрахани. Анализу было подвергнуто 108 штук личинок с момента выклева до достижения ими двадцатидневного возраста. Было изготовлено более 1075-ти сагиттальных срезов [2].

Изучение гематологических показателей крови проводили по методам, рекомендованным Житеновой с коллегами (1989) и Ивановой (1983).

При оценке эритропоза определяли процентный состав незрелых эритроцитов. Методика подсчета незрелых эритроцитов сводилась к подсчету по всему препарату 500 эритроцитов, среди которых отмечали количество незрелых форм и выражали в процентах. За 100 % принимали общее количество эритроцитов. Лейкоцитарную формулу определяли, подсчитывая в окрашенных препаратах крови 200 лейкоцитов, и выражали в процентном соотношении отдельные виды лейкоцитов.

Результаты исследований и обсуждение

В первые дни развития личинок жаб становление и дифференциация почки протека-

ло весьма сложно. После вылупления у личинки позади жаберной полости находился верхний уровень формирующегося мезонефроса - парного образования, лежащего вдоль тела. Пронефрос без четких границ переходил в мезонефрос. Морфологически пронефрос и мезонефрос были представлены изогнутыми почечными канальцами различного размера. На срезе их насчитывалось в среднем ($10 \pm 1,05$) штук. Стенки канальцев были построены из кубического эпителия. В первые дни развития личинок отмечалось очень мало межканальцевой ткани, которая была представлена бластными элементами крови, находящимися среди ретикулярных клеток. Основная масса среди формирующихся элементов крови приходилась на клетки эритропоэтического (70 %) и гранулопоэтического рядов (21 %). На клетки агранулоцитопоэтического ряда приходилось 8 %. Были выявлены эритробласты (5 %), пронормобласты (25 %) и базофильные нормобласты (25 %), встречались так же полихроматофильные нормобласты, но в меньшем количестве (15%). Среди клеток гранулоцитопоэтического ряда были отмечены миелобласты (до 9 %), а также их производные - промиелоциты (12 %). Агранулоциты были представлены лимфобластами, встречающимися редко (до 3 %) и монобластами (5 %). Таким образом, на этой стадии развития у личинок жаб наблюдались лишь бластные и созревающие клетки, зрелых клеток обнаружено не было.

Дальнейшее развитие органа (3-й и 4-й дни) шло по пути разрастания в хвостовой части парного образования – мезонефроса. Хорошо были видны оформленные почечные канальцы овальной формы, состоящие из кубического эпителия. Вновь формирующаяся мезонефральная ткань наблюдалась в каудальном направлении. На 3-й и 4-е сутки всего на срезе насчитывалось до ($30 \pm 2,1$) канальцев. Появлялись новые зачатки мезонефральных канальцев и зачаточное почечное тельце. Межканальцевая ткань была представлена ретикулярными клетками, между которыми были рассредоточены кровеносные элементы. Также в просветах некоторых почечных канальцев у личинок был обнаружен белок.

В дальнейшем наблюдалось увеличение разнообразия качественного состава форменных элементов крови в формирующемся органе. Все развивающиеся кроветворные элементы располагались хаотично. В мезонефросе с третьих на четвертые сутки развития увеличивалось образование клеток эритропоэтического ряда. Единичными здесь были эритробласты, про-нормобласты – по 2,5 % и базофильные нормобласты – 6 %; многочисленны полихроматофильные – (22 %) и оксифильные – (10 %) нормобласты. На срезе четырехдневной личинки жабы наблюдалось большое количество зрелых эритроцитов (20 %). Среди клеток гранулоцитопоэтического ряда основную массу составляли промиелоциты – 6,5 %, миелоциты, метамиелоциты и миелобласты – по 1 %. Также были выявлены палочкоядерные нейтрофилы – до 1 %. Моноциты и лимфобласты составляли всего по 2 % от общей численности клеток. На этой стадии развития шло интенсивное размножение клеточных элементов, поскольку выявлялись клетки, находящиеся на разных стадиях митотического деления. Среди всего многообразия клеточных элементов эритропоэтического ряда были выявлены измененные клетки, у 21 % клеток эритропоэтического ряда регистрировался пойкилоцитоз. Пойкилоцитоз наступает при угнетении эритропоэза под влиянием каких-либо вредных факторов [6].

Постепенно по мере развития личинки, на 5-е сутки развития, увеличивалось число клеток эритропоэтического ряда, которые по-прежнему доминировали. Значительно увеличилось число клеток гранулоцитопоэтического ряда (18 %), наряду с единичными лимфобластами появились зрелые лимфоциты (1,5 %). Вместе с общим числом клеток крови увеличивается и количество клеток с патологическими изменениями. Так, у 35 % клеток эритропоэтического ряда был отмечен пойкилоцитоз.

На 16-е сутки у личинок была резко выражена дифференцировка тканей органа. Висцеральный край почки был представлен более плотным скоплением эпителиальной

ткани. В этой части почки шло интенсивное формирование почечных канальцев и почечных телец. Дистальный край почки характеризовался наличием сформированных почечных канальцев и почечных телец. Расположены они были более рыхло, чем у висцерального края. На 16–20-й дни развития у личинки формирующиеся элементы крови по периферии почки были в большей степени рассредоточены и малочисленны, чем в центральной паренхиме, где располагались более плотно. Дифференцировались клетки эритропоэтического (60 %), гранулоцитопоэтического (30 %) и агранулоцитопоэтического (10 %) рядов. По-прежнему среди всех развивающихся клеток преобладали дефинитивные эритроциты (45 %), но также в большом количестве присутствовали молодые бластные и созревающие клетки крови грануло- (13 %) и эритропоэтического (4 %) ряда. У личинок этого возраста также было мало клеток лимфоидного ряда. У клеток эритропоэтического ряда также регистрировался пойкилоцитоз. Кроме этого, у 15 % эритроцитов была отмечена полихромазия. На 20-й день личиночного развития жабы было заметно лишь незначительное уплотнение межканальцевой ткани почки в каудальной части. Просвет канальцев в краниальной части мезонефроса был больше, чем в каудальной и не изменился по сравнению с личинками 16-го дня развития. Таким образом, почка росла за счет увеличения числа вновь образующихся элементов (рис. 1).

Селезенка обнаруживается у личинок на ранних стадиях развития. На вторые сутки развития селезенка личинок жабы зеленой располагалась в каудальном направлении, в петлях кишечника под зачатком мезонефроса. Она представляла собой плотное скопление мезенхимных клеток. На первом этапе развития мезенхима закладки селезенки была тесно связана с покрывающим ее целомическим эпителием. Сначала закладка представляла собой небольшое овальное образование, состоящее из хаотично расположенных круглых, довольно однородных мезенхимных клеток. Мезенхима представлена почти совсем недифференцированными

клетками. Клеток крови на этом этапе обнаружено не было.

На 5-6-е сутки в петлях молодой ретикулярной ткани появляются первые очаги размножающихся кроветворных клеток. В межклеточном пространстве находились немногочисленные клетки крови, представленные гематоцитами (38 %), моноцитами (17 %), промиелоцитами (3,5 %), миелоцитами – (16,5 %), эритроцитами – (13 %), пронормоцитами (14 %), базофильными нормоцитами (8 %). Клетки располагались хаотично. Происходила закладка просвета первичных сосудов.

На 9-е сутки в селезенке личинок была заметна разветвленная сеть щелей, что можно считать «прообразом» формирующейся сосудистой системы органа [3]. Были заметны редкие эндотелиальные клетки, которые выстилали стенку формирующихся сосудов. В просвете этих «сосудов» фиксировались единичные эритроциты. Мезенхимный ретикулум, расположенный между сосудами уже в большей степени, к этому возрасту замещен дифференцирующимися гемопоэтическими клетками, ретикулярными клетками. Снаружи орган покрыт тонкой соединительнотканной капсулой. В поверхностном слое формирующегося органа редко определялись идущие от капсулы вглубь закладки тяжи вытянутых клеток с вытянутыми светлыми ядрами – развивающимися трабекулами. Строгой упорядоченности по локализации формирующихся клеток не отмечено. В этот период выявлено эритроидное (61 %), лимфоидное кроветворение (33 %), очень редко – гранулоцитопоз (4 %) и мегакариоцитопоз (2 %). Среди формирующихся эритроцитов 6,0 % составляли эритроциты, остальное количество приходилось на созревающие и зрелые клетки, которые были в одинаковых соотношениях. Из лимфоидных клеток были отмечены плазмобласты (6,0 %), проплазмциты (2,0 %), лимфобласты (8,0 %), пролимфоциты (7 %) и лимфоциты (8 %). Наличие клеток лимфоидного ряда на ранних стадиях личинки указывает на интенсивное формирова-

ние защитных функций формирующихся личинок, которые тесно контактируют с окружающей средой.

У личинки на 12-е сутки развития селезенка значительно увеличилась в размерах, также отмечен и рост разнообразия кровяных элементов крови. Гематоциты встречаются по-прежнему довольно часто – до 19 %, количество моноцитов – 10 %, промиелоцитов – 6 %, миелоцитов – 13,5 %, промиелоцитов – 8,5 %; эритроцитов – 12 %, пронормоцитов – 14 %, базофильных нормоцитов – 8 %, полихроматофильных нормоцитов – 4 %, а также клеток белой крови - лимфоцитов – 5 %.

У 14-дневной личинки жабы стенки сосудов сформированы в большей степени, т. е. четко прослеживаются эндотелий, выстилающий сосуды. Полость сосудов была заполнена кроветворными элементами. По-прежнему четкой локализации формирующихся элементов крови не отмечено. В строме органа зафиксированы гранулы гемосидерина, свидетельствующие о разрушении эритроцитов.

По-прежнему среди формирующихся клеток доминировали эритроциты. Доля формирующихся лимфоидных клеток возросла до 40 %. Доля миелопоэза незначительна.

Несмотря на довольно раннее возникновение первых гемопоэтических очагов в эмбриональной селезенке, максимум ее активности, а, следовательно, и наиболее важное значение как органа кроветворения, происходит позже – к 16-20-му дню. При этом осуществляется эритроидное кроветворение, гранулопоэз. Лимфопоэз невелик. Эритро- и гранулопоэз в селезенке сохраняются на высоком уровне недолго – в течение личиночного развития миелоидное кроветворение, и особенно эритропоэз в селезенке, заметно снижаются, а впоследствии практически прекращаются или сохраняются на очень низком уровне. Интенсивность лимфоидного кроветворения в этот период, напротив, значительно возрастает. На ранних стадиях развития лимфоидного аппарата селезенки лимфоидные клетки располагаются мелкими, диффузно распределенными группами.

Развиваясь и увеличиваясь в размерах, селезенка к третьей неделе развития (16–20-е сутки) несколько перемещается в каудальном направлении. Сформировавшийся орган имеет овальную форму и четко выраженную разветвленную сеть щелей (рис. 2). Эту сеть можно считать прообразом сосудистой системы селезенки. Lewis (1956) показал, что первичный кровоток в селезенке осуществляется именно по этой сети, образование истинной стенки внутриорганных сосудов происходит позже. В межклеточном пространстве хаотично располагаются гемопоэтические островки, состав которых сильно дифференцирован. Гемоцитобласты встречаются теперь реже (12 %). Монобласты составляли 10 %, промоноциты – 12% и моноциты – 14%; миелобласты – 0,5%, промиелоциты – 1%. Увеличивается количество лимфоидных клеток: лимфобласты – 6,5 %, пролимфоциты – 2 %, лимфоциты – 2%. Среди элементов красной крови на эритробласты приходился 1%, на пронормобласты – до 0,5%, на базофильные нормобласты – 2%, на полихроматофильные – 3,0 %. В селезенке появляются зрелые эритроциты (6,5 %); оксифильных нормобластов – 4%.

Селезенка выполняет целый ряд разнообразных и важных функций, поэтому и гистогенез этого органа представляется весьма сложным [3]. Селезенка выполняет кроветворную функцию, при этом в развитии более специализируется на производстве белой крови и характеризуется как орган агрануло- и лимфоцитопоэза.

На ранних этапах развития личинки печень представляет собой обширное образование, клетки которого напоминают форму многоугольника, как у зрелых гепатоцитов. Кроме того, они образуют скопления в виде столбиков (слабая балочная структура), но в основном клетки лежат рыхло. В межклеточном пространстве были отмечены элементы крови эритропоэтического ряда (31,7 %), гранулоцитопоэтического (65,3%) и агранулоцитопоэтического (3 %) рядов.

Много зрелых клеток всех рядов кроветворения. Отмечены клетки крови, находящиеся на разных стадиях деления. Среди

зрелых эритроцитов у 2 % были выявлены патологические клетки (пойкилоциты).

Подобное соотношение форменных элементов крови говорит о том, что с первых дней после вылупления личинки печень активно функционирует как кроветворный орган. Наличие формирующихся элементов крови на столь раннем сроке развития личинок объясняется активным экстравазальным кроветворением в печени.

На 3-и и 4-е сутки развития личинки соотношение элементов крови в печени не изменилось по сравнению с первыми двумя днями после ее вылупления. Тенденция развития элементов крови в печени личинки жабы зеленой остается неизменной и к концу седьмых суток развития. Преобладающее большинство клеток относится к эритропоэтическому ряду (28 %) и к гранулоцитопоэтическому ряду (24 %). Бластные клетки встречались редко и были единичными. При этом большинство эритропоэтических клеток представлено оксифильными нормобластами (15 %), на зрелые эритроциты приходилось 13 %. Основную долю гранулоцитопоэтических клеток составляли сегментоядерные нейтрофилы (13 %). Обнаружено большое количество мегакариоцитов (12 %), а также клеток с патологиями – пойкилоцитов (17 %). Несколько изменилось соотношение элементов белой крови в печени: обнаружено незначительное количество лимфобластов (0,5 %); численность пролимфоцитов достигла 1 %. Содержание лейкоцитов не увеличивалось. Гепатоциты печени личинки к этому периоду располагались более плотно, чем в первые дни. Наряду с этим была отмечена жировая дистрофия гепатоцитов.

Гепатоциты образуют выраженную балочную структуру. Печень занимает больше половины всей брюшной полости. Увеличивается процентное соотношение клеток белой крови (лимфоцитопоэтический ряд). Клетки эритропоэтического ряда группируются в эритробластические островки, состоящие из клеток разной степени зрелости. Обнаруживаются гранулы гемоседерина.

К 20-м суткам личиночного развития печень головастика жабы приобретает хорошо

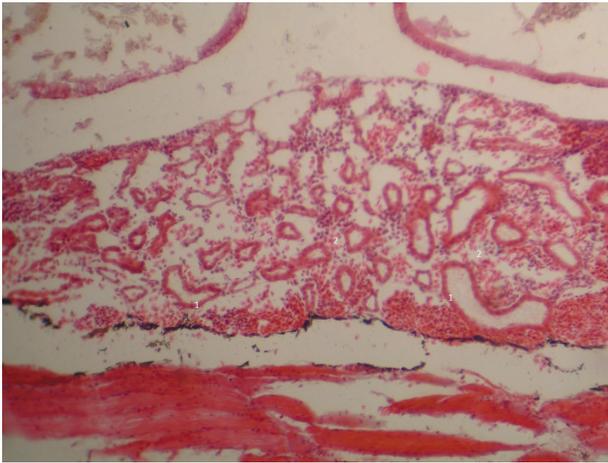


Рис. 1. Мезонефрос личинки жабы зеленой на 16-е сутки развития: 1 – почечные канальца; 2 – формирующиеся элементы крови. Окр. гематоксилин и эозин, об. х 10, ок. х 10.

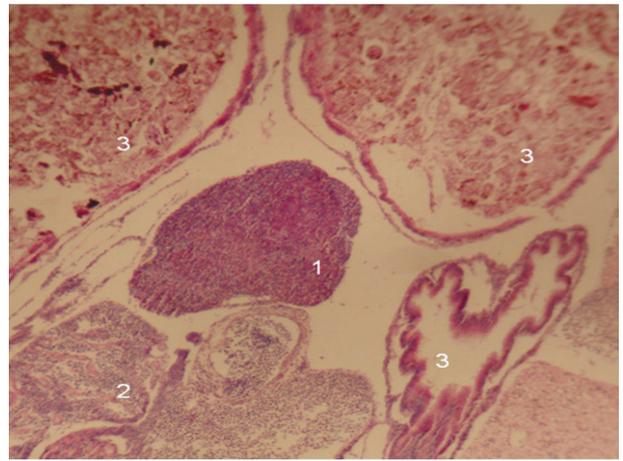


Рис. 2. Селезенка личинки жабы зеленой на 14-е сутки развития: 1 – селезенка; 2 – мезонефрос; 3 – кишечник. Окр. по Браше, об. х 10, ок. х 4.

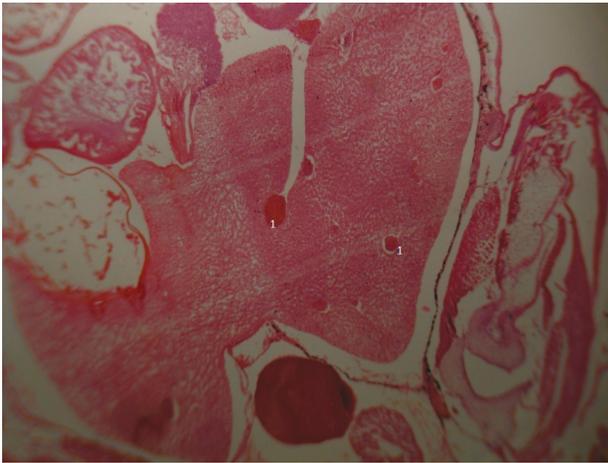


Рис. 3. Печень личинки жабы зеленой на 20-е сутки развития: 1 – сосуды, переполненные элементами крови. Окр. гематоксилин и эозин, об. х 10, ок. х 4.

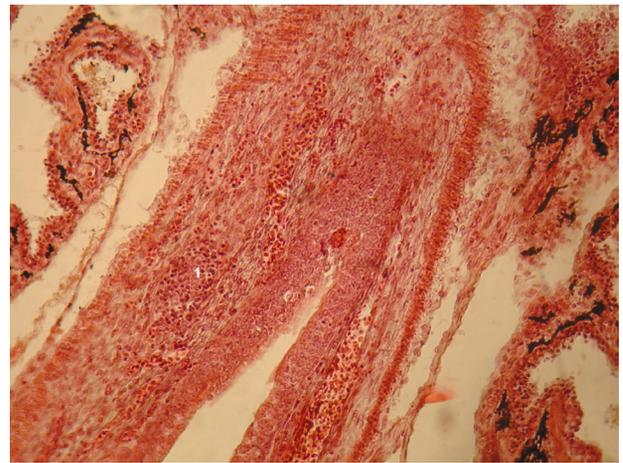


Рис. 4. Кроветворение в тканях кишечника личинки жабы зеленой на 20-е сутки развития: 1 – клетки крови. Окр. гематоксилин эозин, об. х 10, ок. х 10.

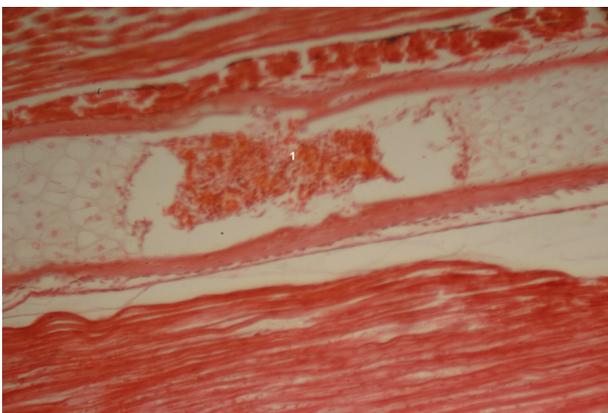


Рис. 5. Кроветворение в костной ткани личинки жабы зеленой на 20-е сутки развития: 1 – клетки крови. Окр. гематоксилин и эозин, об. х 10, ок. х 10.

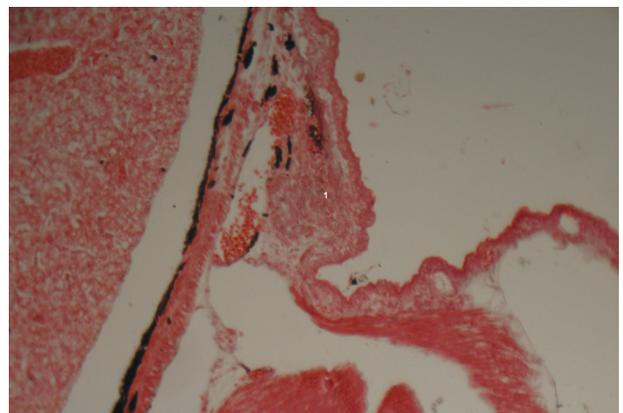


Рис. 6. Узелки кроветворения в подмышечных впадинах на 20-е сутки развития: 1 – клетки крови. Окр. гематоксилин и эозин, об.х 10, ок. х 10.

выраженную сосудистую структуру (рис. 3). Расширенные сосуды печени переполнены эритроцитами.

В этот период развития у личинок жабы в печени отмечалось снижение её кроветворной функции. Отмечены участки скопления зрелых лимфоцитов, что, возможно, является следствием воспалительного процесса. Эритроциты регистрировались только в сосудах.

Кишечник личинок жабы зеленой начинает функционировать как орган кроветворения только к 20-му дню развития личинки. При этом, основные очаги кроветворения располагались в заднем нисходящем отделе кишечника (клоаке), который имел более толстую мышечную оболочку, чем промежуточная и средняя кишка. Кишечные ворсинки, уменьшающиеся в размерах в промежуточном отделе кишечника, в задней кишке полностью исчезли, при этом внутренняя поверхность кишки покрыта многослойным эпителием. Мышечные волокна пронизаны многочисленными кровеносными сосудами, наполненными элементами крови (рис. 4). Очаги кроветворения представлены немногочисленными узелками в мышечной оболочке задней кишки – (2±1) на срезе. В узелках происходили процессы эритропоэза, грануло- и агранулоцитопоэза. Источником для этих процессов явились гемоцитобласты, которые составили до 25 % кроветворных элементов. Зрелые эритроциты были единичными, нейтрофилы составляли 15 %, пролимфоциты – 9 %, а лимфоциты – 11 %. Все элементы крови в узелках располагались хаотично. В среднем и промежуточном отделах кишечника встречались небольшие группы клеток, по 5–6 шт., состоящие из лимфоцитов и нейтрофилов.

На 20-е сутки развития также формируется костная ткань. При этом в бедренной кости обнаруживается красный костный мозг, среди элементов ретикулярной ткани встречаются развивающиеся клетки красной крови (рис. 5). При этом основную часть составляли гемоцитобласты 65%. На эритроциты приходилось до 35% элементов крови, которые располагались небольшими островками в общей массе гемоцитобластов. Красный

костный мозг функционировал пока что как орган эритропоэза.

Следует отметить, что к 20-му дню развития личинки конечности жабы зеленой полностью сформированы. В подмышечных впадинах передних конечностей закладываются узелки кроветворения (рис. 6). Они представляют собой полости в соединительной ткани. В них обнаруживаются клетки гранулоцитопоэза и агранулоцитопоэза.

При этом клетки гемоцитобласты составляют 15%, лимфоциты – 50%, молодые клетки лейкоцитов до 20 %, сегментоядерные нейтрофилы – 9 % и пролимфоциты – 6 %. Встречаются единичные эритроциты. Все клетки крови сосредоточены у стенок полостей, которых на срезах насчитывается 1–2 шт.

Выводы

1. Почки личинок жабы зеленой включаются в процесс кроветворения на 1-2-е сутки после вылупления. На ранних стадиях развития почка является основным органом кроветворения у личинок, в ней преобладают процессы эритропоэза.

2. Селезенка головастиков выполняет кроветворную функцию на 5-6-е сутки после вылупления, при этом в большей степени специализируется на производстве белой крови и характеризуется как орган агрануло- и гранулопоэза.

3. Печень начинает функционировать как кроветворный орган на 1–2-е сутки после вылупления личинки и является универсальным органом кроветворения, т.к. здесь на разных этапах развития преобладают различные ряды кроветворения. К концу личиночного периода развития кроветворная функция органа затухает.

4. Костный мозг и кишечник включаются в процесс кроветворения только на 20-е сутки после вылупления. При этом костный мозг является в этот период органом эритропоэза, а в кишечнике на данном этапе развития преобладают процессы гранулоцитопоэза.

Список литературы

1. Валькович, Э. И. Общая и медицинская эмбриология: учеб. пособие для вузов, 3-е изд. [Текст] / Э. И. Валькович. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2008. – 395 с.

2. Волкова, О. В. Основы гистологии с гистологической техникой: учеб. пособие для вузов [Текст] / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М. : Медицина. – 1982. – 304 с.

3. Волкова, О. В. Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека [Текст] / О. В. Волкова, М. И. Пекарский. - М. : Медицина, 1976. – 416 с.

4. Грушко, М. П. Особенности гистологической организации некоторых органов кроветворения озерной лягушки (*Rana ridibunda*) [Текст] / М. П. Грушко // Вестник Астраханского государственного технического университета. – 2010. – № 1 (49). – С. 78–81.

5. Грушко, М. П. Морфофизиологические особенности кроветворения у костистых рыб (на примере воibly (*Rutilus rutilus caspicus*)) / М. П. Грушко // Вопросы рыболовства. – 2010. – № 2 (42). – С. 327–340.

6. Житнева, Л. Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб: учеб. пособие для вузов [Текст] / Т. Г. Полтавцева, О. А. Рудницкая. – Ростов-на-Дону : Ростовское книжное издательство, 1989. – 111 с.

7. Минеева, О. В., Минеев, А. К. Патологические изменения клеток красной крови озерной лягушки (*Rana ridibunda*) Саратовского водохранилища [Текст] / О. В. Минеева, А. К. Минеев // Zoocenosis. – 2009.

8. Светашева, Д. Р., Грушко, М. П. Формирование почки у амфибий в личиночный период развития на примере Жабы зеленой (*Bufo viridis*, 1768) [Электронный ресурс] / Д.Р. Светашева, М.П. Грушко // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/116-12288>. – 02.07.2017.

КАК ОФОРМИТЬ ПОДПИСКУ НА ЖУРНАЛ?

А. Через подписной каталог

Индекс в каталоге «Газеты. Журналы» Агентства «Роспечать» – 33184

Б. Через редакцию журнала

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

ЧОУДПО «Институт Ветеринарной Биологии»
ИНН 7802196720 КПП 781301001

Р/с 40703810400000000022 в АО «Горбанк», г. Санкт-Петербург
К/с 30101810200000000814 БИК 044030814

В поле «Назначение платежа» указать:

«Предоплата за подписку на журнал «Актуальные вопросы
ветеринарной биологии» на 2018 г. согласно инф. письму б/н
от 26.09.17 г. НДС не облагается. Адрес подписки: ...»

Стоимость редакционной подписки на 2018 год:
2000 рублей.

Адрес редакции: Санкт-Петербург, ул. Ораниенбаумская, 3-Б.
Т./ф. (812) 232-55-92, т. 927-55-92.
E-mail: virclin@mail.ru; www.invetbio.spb.ru

УДК 619:579.842.11:615.33.015.8:636.5(477.63/.65)

Ключевые слова: колибактериоз, антибиотикорезистентность, антибактериальные препараты

Key words: colibacillosis, antibiotic resistance, antibacterial drugs

Мартыненко А. А.

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭШЕРИХИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ПТИЦЕХОЗЯЙСТВАХ ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГИОНА УКРАИНЫ

*ANTIBIOTIC SENSITIVITY AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF ESCHERICHIA COLI
ISOLATED FROM POULTRY FARMS OF UKRAINE'S CENTRAL REGION*

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»
Национальной академии аграрных наук Украины, экспериментально-инновационный отдел ветеринарной медицины

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

Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine,

National Scientific Center of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine,

Experimental and Innovative Department of Veterinary Medicine

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

Мартыненко Анна Адольфовна, к. в. н., зав. отдела.

E-mail: anna29.10.76@i.ua. Тел. +3068-850-52-09

Martynenko Anna A., PhD in Veterinary Science, Head of the Dept.

E-mail: anna29.10.76@i.ua. Тел. +3068-850-52-09

Аннотация. Выявлено, что *E. coli* в 2007–2016 гг. была ведущим этиологическим агентом инфекций в птицеводствах центрального региона Украины. Представлены результаты анализа ста антибиотикограмм *E. coli*, выделенных из патологического материала от сельскохозяйственной птицы. Дана сравнительная оценка антибиотикорезистентности выделенных штаммов в различные периоды. В работе показана тенденция нарастания резистентности к 64 % представленных препаратов, что подтверждает принадлежность эшерихий к группе бактерий, наиболее быстро развивающей устойчивость. Установлены антибактериальные препараты для эффективной эмпирической терапии колибактериоза в промышленном птицеводстве. Доказана целесообразность использования флорфеникола, амикацина, гентамицина и цефтриаксона как наиболее эффективных средств в отношении этого вида грамотрицательной микрофлоры. Автором показана необходимость поиска потенциальных биомаркеров раннего развития бактериальных инфекций в организме птицы с целью ограничения применения антибиотиков как эффективной меры контроля антибиотикорезистентности.

Summary. It was discovered that *E. coli* was the most frequent etiological agent of infections at poultry farms in Ukraine's central region in 2007-2016 years. The article presents results of analysis of one hundred antibiograms of *E. coli* isolated from poultry pathological materials. It provides the comparative evaluation of the antibiotic resistance of isolated strains at different periods. The work shows the increasing resistance tendency up to 64 % in examined drugs. This confirms the fact that *Escherichia* belong to bacterial group with the most rapid resistance development. A group of antibacterial drugs has been selected for effective empirical colibacillosis therapy in industrial poultry farming. It has been proved that it is viable to use florfenicol, amikacin, gentamicin and ceftriaxone as the most effective drug for this species of gram-negative microflora. The author states that there is a need to search for the potential biomarkers of early development of bacterial infections into the bird's body. It will be a limit of antibiotics using and will become an effective measure for antibiotic resistance control.

Введение

На сегодняшний день проблема быстрого формирования резистентности к применяемым антибактериальным препаратам (АБП) среди различных микроорганизмов имеет важное значение в медицине и науке [5]. Ответом на возрастающую проблему стало создание в гуманной медицине систем надзора за устойчивостью к противомикробным препаратам (CAESAR, EARS-Net), которая при-

звана обеспечить получение сопоставимых и достоверных данных о распространенности и тенденциях в ключевой группе инвазивных бактерий. В ряде стран использование антибиотиков в птицеводстве для нужд производства пищевых продуктов превышает уровни их использования у людей, что является дополнительным фактором, влияющим на возникновение резистентных микроорганизмов, которые легко могут распространяться среди

людей, животных, птицы и в окружающей среде [9]. Циркуляция внехромосомных генетических элементов, отвечающих за формирование устойчивости к действию АБП в конкретных микроценозах (птичники, инкубаторы) среди доминирующей микрофлоры, детерминируется множеством факторов: спектрами микроорганизмов, применяемыми стратегиями химиотерапии, наличием бактерионосителей. В каждом микроценозе существуют свои пути формирования и распространения антибиотикорезистентности, конечным этапом которых является образование стационарных экovarов, обладающих множественной устойчивостью к АБП. Полирезистентные микроорганизмы являются причиной возникновения тяжелых форм инфекций, вызванных условно-патогенной микрофлорой, а также разнообразных инфекционных болезней (колибактериоз, сальмонеллез, пастереллез и др.). Это подтверждает необходимость внедрения в работу врачей ветеринарной медицины комплекса аналитических исследований и организованных мероприятий по проведению динамического мониторинга за структурой и уровнем лекарственной устойчивости микроорганизмов [7]. Данные об антибиотикорезистентности различаются в зависимости от географического района их выделения и меняются с течением времени [5]. В связи с этим, при разработке схем рациональной антибактериальной терапии встает вопрос о целесообразности длительного применения препаратов в ветеринарной практике.

Цель работы – выявить закономерности выработки (изменения) устойчивости к АБП патогенных микроорганизмов из родов *Escherichia*, выделенных от сельскохозяйственной (с.-х.) птицы в центральном регионе Украины.

Материалы и методы

Материалом для работы послужили данные из лабораторных журналов за 2007–2016 гг., полученные в рутинной практике. Проанализированы результаты исследований 128-ми бактериальных культур, выделенных из патологического материала от разновозрастной с.-х. птицы в центральном регионе

Украины. При выделении микроорганизмов посева образцов биоматериала проводили на неселективные, селективные обогащенные и дифференциально-диагностические питательные среды. Идентификацию возбудителей осуществляли по общепринятым методикам. Определение чувствительности выделенных культур к АБП различных семи фармакологических групп проводили методом диффузии в агаре с использованием стандартных бумажных дисков производства ООО «Аспект» (Украина), НИЦФ (Россия), BBL (США). Уровень антибиотикорезистентности изучали к 17-ти антибактериальным препаратам с различным механизмом действия и широтой применения в ветеринарной практике: ингибирующие синтез клеточной стенки микроорганизмов (β -лактамы), синтез белка и функции рибосом (аминогликозиды, макролиды, тетрациклины, фениколы), а также нарушающие функции клеточных мембран (полимиксины). Биологические свойства определяли на белых мышах (массой 15–18 г) путем подкожного введения суточной культуры в дозе 0,2 см³.

По результатам детекции антибиотикорезистентности энтеробактерии группировали в четыре кластера: I – антибиотикочувствительные штаммы, II – моно-, III – умеренно (к двум – пяти АБП), IV – полирезистентные (к шести и более препаратам), V (к максимальному количеству протестированных антимикробных препаратов) [8].

Результаты исследований

Наиболее часто из представителей семейства *Enterobacteriaceae* в патологическом материале от с.-х. птицы выделяли *Escherichia coli* (*E. coli*). Этого возбудителя обнаруживали в исследуемых пробах в 78,13 % случаев, преимущественно в виде моноинфекции, причем наибольшее количество было в 2007 (72,6 %), 2011–2012 гг. (100 %).

Данные о чувствительности культур микроорганизма к АБП за последние десять лет представлены в таблице 1.

Как видно из данных таблицы 1, среди сравниваемых АБП наименьшей активностью в отношении штаммов *E. coli* обладал амоксициллин (15 % чувствительных микро-

Уровень резистентности к АБП патогенных для птицы культур *E. coli* в центральном регионе Украины

Группа антибактериальных препаратов	АБП	Культур <i>E. coli</i>	
		исследовано, шт.	резистентных, %
фторхинолоны	норфлоксацин	89	44,9
	офлоксацин	32	50,0
	ципрофлоксацин	44	23,7
	энрофлоксацин	63	23,8
	энроксил	48	39,6
	байтрил	45	31,1
β-лактамы	цефазолин	42	40,5
	цефтриаксон	24	12,5
	амоксцициллин	20	85
фениколы	флорфеникол	9	0
тетрациклины	доксциклин	26	69,2
	тетрациклин	13	38,5
аминогликозиды	гентамицин	49	22,4
	амикацин	16	12,5
полимиксины	колистин	26	61,5
	полимиксин	11	72,7
комбинированные	триметоприм	23	39,1

организмов). Наибольшая активность в отношении данного вида возбудителя отмечалась у фениколов (флорфеникол); аминогликозидов II поколения (амикацин, 87,5 % чувствительных культур) и гентамицина (77,6 %), а также у β-лактамов (цефтриаксон, 87,5 %).

По результатам данных, представленных на рисунке 1, у патогенных для с.-х. птицы культур *E. coli* в период 2011–2016 гг. выявлена тенденция нарастания резистентности к 64 % представленных АБП по сравнению с предыдущим периодом (2007–2010 гг).

Наблюдалось снижение чувствительности кишечной палочки к АБП тетрациклинового ряда. Так, резистентность *E. coli* к тетрациклину увеличилась на 50,0 %; а к доксициклину – на 30,8 %.

Также мы проанализировали чувствительность *E. coli* к АБП группы фторхинолонов. Полученные данные свидетельствуют о тенденции к снижению эффективности четырех АБП группы фторхинолонов. Так, норфлоксацин снизил свою активность на 42,8 %; офлоксацин – на 38,1 %, ципрофлоксацин – на 35,3 %, байтрил – на 9,9 %. Стабильную активность с положительной динамикой про-

демонстрировал энрофлоксацин. Его активность в период 2011–2016 гг. увеличилась на 14,9 %.

В ходе работы было выявлено и снижение эффективности АБП группы полимиксинов (колистин) в отношении кишечной палочки на 43,3 %.

Анализ спектров антибиотикорезистентности (рис. 2) показал уменьшение I кластера (антибиотикочувствительные штаммы) на 24,1 %; увеличение II (моно-) и III (умереннорезистентные штаммы) кластеров в период 2011–2015 гг. на 14,1 и 10,8 % соответственно. Изолятов, относящихся к V кластеру (устойчивые ко всем АБП), выявлено не было.

Обсуждение результатов

Сведения о распространенности устойчивых микроорганизмов на территории Украины ограничены и часто различаются в зависимости от профиля ветеринарного учреждения, вида обследуемых животных и птицы. Так, например, чувствительность *E. coli* к энрофлоксацину, по данным Древалю Д. В. [3], варьирует от 73,0 % до 51,0 %.

Проведенный микробиологический мониторинг выявил, что *E. coli* является ведущим этиологическим агентом инфекций у с.-х. птицы в центральном регионе Украины. Эти данные соответствуют наблюдениям других авторов о наиболее частом выделении (37–50 %) этого вида грамотрицательной микрофлоры как у молодняка, так и у взрослой птицы в последние десятилетия [7, 3]. Кроме того, по данным ВОЗ 2017 года, *E. coli* входит в группу крайне приоритетных бактерий по уровню потребности в создании новых антибиотиков, поскольку этот возбудитель может вызывать тяжёлые и часто смертельные инфекции, такие как инфекции кровотока и пневмонию [2]. Выявленная у патогенных для с.-х. птицы культур *E. coli* в период 2011–2016 гг. тенденция нарастания резистентности к 64 % представленных АБП подтверждает принадлежность эшерихий к группе бактерий, наиболее быстро развивающей устойчивость [1]. Тенденция к снижению чувствительности кишечной палочки к АБП тетрациклинового ряда наблюдалась и в различных птицеводствах России на протяжении 2013–2014 гг. [6]. Результаты оценки чувствительности к гентамицину, наряду с подтвержденной эффективностью [7], показали невозможность их экстраполяции на другие аминогликозиды (амикацин). Сообщения Гаркавенко Т. О. [4] о практически полной перекрестной резистентности между фторхинолонами не подтвердились несмотря на то, что эти препараты не имеют существенных отличий в уровне антибактериальной активности относительно эшерихий. Выявление наибольшей активности в отношении *E. coli* у фениколов (флорфеникола) подтверждается результатами исследований Древаль Д. и Мазуренко В. [3].

Уменьшение кластера антибиотикочувствительных штаммов в период 2011–2015 гг. доказывает, что селективный прессинг антибиотиков снижает количество только чувствительных микроорганизмов, давая возможность устойчивым популяциям активно размножаться [1]. Открытие горизонтальной передачи гена резистентности у *E. coli* через плазмиды [10] свидетельствует о возможном распространении панрезистентных микроорганизмов

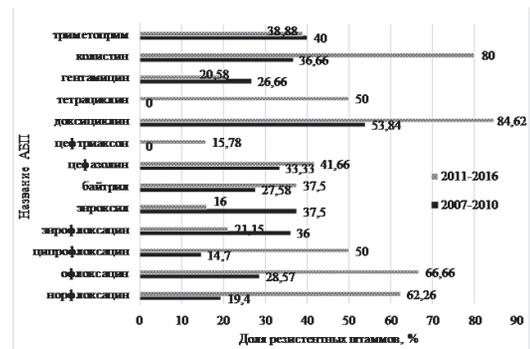


Рис. 1. Динамика антибиотикорезистентности микроорганизмов *E. coli* к АБП.

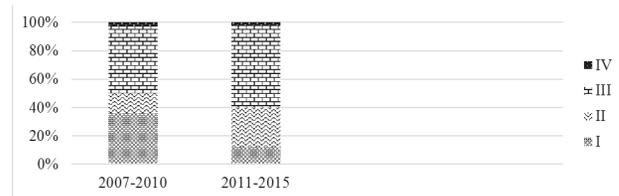


Рис. 2. Профили антибиотикорезистентности патогенных для с.-х. птицы *E. coli*.

и о необходимости внедрения препаратов, препятствующих формированию плазмидной устойчивости либо обеспечивающих элиминацию плазмид из резистентных бактерий [1]. Таким образом, перспективным направлением ветеринарной науки остается поиск и идентификация потенциальных биомаркеров раннего развития бактериальной инфекции в организме птицы, что позволит использовать обоснованные схемы лечения и предупредит дальнейшее распространение антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

Выводы

1. Ведущим этиологическим агентом инфекций у сельскохозяйственной птицы в центральном регионе Украины является *E. coli*. В исследованных пробах, в период 2007–2016 гг., *E. coli*, обнаруживали в 78,1 % случаев.

2. Тенденция нарастания антибиотикорезистентности, в период 2011–2016 гг., у патогенных для сельскохозяйственной птицы культур *E. coli* подтверждает их принадлежность к группе бактерий, наиболее быстро развивающей устойчивость.

3. В схему эффективной эмпирической терапии колибактериоза в промышленном пти-

цеводстве центрального региона Украины целесообразно включать флорфеникол, амикацин, гентамицин и цефтриаксон, поскольку эти антибиотики, по результатам исследований, обладали наибольшей активностью в отношении возбудителей данного вида.

4. Актуальным направлением современной ветеринарной науки является поиск и идентификация потенциальных биомаркеров раннего развития бактериальных инфекций в организме птицы, что будет способствовать ограничению применения антибиотиков как эффективной меры контроля антибиотикорезистентности.

Список литературы

1. Антибиотикорезистентность микроорганизмов и современная стратегия использования антибактериальных препаратов [Электронный ресурс] / ООО «КРКА ФАРМА» // Ценовик. – 2012. – № 11. – С. 94–96. – Режим доступа: http://www.tsenovik.ru/archive/tsenovik%20archives/Cenov_11_12.rar.

2. ВОЗ опубликовала список микроорганизмов, для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/index.php?article=2686>.

3. Гаркавенко Т.О. Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів [Текст] / Т. О. Гаркавенко [та ін.]. – Київ : Держ. наук.-досл. ін-т з лаб. діагностики та вет.-сан. експертизи, 2014. – 78 с.

4. Древаль Д., Мазуренко В. Чувствительность бактериальных штаммов, выделенных от кур, к антими-

кробным препаратам [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://cvd.com.ua/publications/chuvstvitel-nost-bakterial-nykh-shtammov-vydelennykh-ot-kur-k-antimikrobnym-preparatam/>.

5. Науменко З.С. Сравнительная оценка динамики антибиотикорезистентности бактерий, выделенных у больных с острым и хроническим гнойным процессом в ортопедотравматологическом стационаре [Текст] / З. С. Науменко, В.В. Гостев, Н.А. Богданова // Гений ортопедии. – 2010. – № 3. – С. 141–145.

6. Новикова, О. Б. Правильный подход к антибиотикотерапии – залог здоровья птицы, качества и безопасности выпускаемой продукции [Электронный ресурс] / О.Б. Новикова, С.В. Щепеткина, О.А. Ришко // БИО. – 2015. – № 7/8. – С. 22–26. – Режим доступа: http://animal-health.ru/docs/stati/birds/pravelnii_podhod.pdf.

7. Парамонова, Н.Ю. Результаты территориального мониторинга антибиотикорезистентности кишечной палочки [Текст] / Н.Ю. Парамонова, С.В. Фирченкова // Вестн. ветеринарии. – 2011. – № 4. – С. 78–79.

8. Профиль антибиотикорезистентности условно-патогенных энтеробактерий реки Ангары [Текст] / М.Ф. Савченков [и др.] // Сиб. мед. журн. – 2013. – № 6. – С. 120–122.

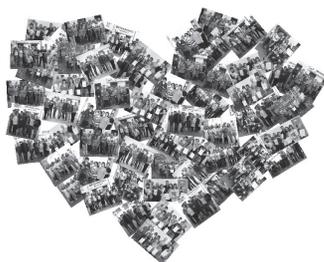
9. Резолюция 51-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения (WHA 51.17): Возникающие и другие инфекционные болезни: резистентность к противомикробным препаратам [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA51/rar17.pdf.

10. Liu Y.Y. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study [Текст] / Y.Y. Liu [et al.] // Lancet Infect. Dis. – 2016. – Vol. 16. – № 2. – P. 161–168.



ЧОУДПО «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. (812) 612-13-34 или (812) 232-55-92 доб. 208

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

УДК 57: 579.2

Ключевые слова: бактерии, штамм, свойства, бактериоскопия, морфология, питательная среда

Key words: bacteria, strain, properties, bacterioscopy, morphology, nutrient medium

Садртдинова Г. Р.

**ХАРАКТЕРИСТИКА РОСТА БАКТЕРИЙ ВИДА KLEBSIELLA OXYTOCA
НА СРЕДАХ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ
В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ**
*GROWTH CHARACTERISTIC OF BACTERIA KLEBSIELLA OXYTOCA AT NUTRIENT MEDIA
USED AT DIFFERENTIAL DIAGNOSTIC OBJECTIVES*

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина»

Адрес: 432017, г. Ульяновск, б. Новый Венец, д. 1

*Ulyanovsk State Agrarian University named after Stolypin P. A.,**Federal State Budget Institution of Higher Education**Address: 432017, Ulyanovsk, bly. Noviy Venetz, 1*

Садртдинова Гузелия Рафиковна, ассистент. E-mail: sadrtdinova-guzlik@yandex.ru Тел. (8422) 55-95-47

Sadrtdinova Guzeliya R., Assistant. E-mail: sadrtdinova-guzlik@yandex.ru. Tel. +7 (8422) 55-95-47

Аннотация. В статье представлены результаты исследований, связанные с изучением особенностей культивирования бактерий вида *Klebsiella oxytoca* на питательных средах, используемых в дифференциально-диагностических целях: Эндо, Левина, Плоскирева. Отмечены ростовые особенности изучаемых штаммов на каждой из сред. Скучный рост с образованием мелких колоний бактерий наблюдался на среде Эндо. Отмечено, что наряду со штаммами, хорошо ферментирующими лактозу, имелись штаммы со слабой лактазной активностью. Поэтому в зависимости от степени ферментации лактозы на дифференциально-диагностических средах бактерии образовывали как ярко-малиновые, так и светло-розовые колонии (штаммы *K. oxytoca* 24 и *K. oxytoca* 26 образовывали лактозоотрицательные колонии светло-розового цвета). Наиболее благоприятной средой для культивирования является среда Плоскирева. На ней штаммы *K. oxytoca* образовывали крупные слизистые колонии (2–3 мм) правильной формы, с ровными краями. Сравнительный анализ эффективности использования сред в дифференциально-диагностических целях заключался в посеве гетерогенных штаммов и штаммов вида *K. oxytoca* на среду Плоскирева. Среда была использована как наиболее благоприятная по составу, на которой рост бактерий вида *K. oxytoca* отличался своим обильным и «пышным» ростом. Культивирование осуществляли при одинаковых температурных режимах (37 °С), наблюдение за посевами осуществляли в течение 48-ми часов. Анализ результатов, полученных в ходе 48-часового культивирования штаммов на среде Плоскирева, позволил отметить сходные культуральные свойства штаммов *K. oxytoca* 1, *K. oxytoca* 24, *E. cloacae* 397, *E. coli* 383 – образование выпуклых светло-розовых колоний правильной формы, с ровными краями и слизистой консистенцией. Штамм *S. marcenscens* 21 через 48 часов образовывал красный пигмент, что позволяло дифференцировать данный вид от изучаемого штамма вида *K. oxytoca*. Использование питательных сред Эндо, Левина и Плоскирева в исследованиях не обеспечивает полноценной идентификации бактерий этого вида.

Summary. The article presents results of studies related to the study of peculiarities cultivation bacteria *Klebsiella oxytoca* on nutrient media used for differential diagnostic purposes: Endo, Levina, Ploskireva. Growth peculiarities of the studied strains on each of the media were noted. Scant growth, with the formation of small bacterial colonies, was observed on the Endo medium. It was noted that along with strains, which are good fermenting lactose, there were strains with weak lactase activity. Therefore, depending on the degree of fermentation of lactose, the bacteria formed bright-crimson and light-pink colonies on differential diagnostic media (strains *K. oxytoca* 24 and *K. oxytoca* 26 formed lactose-negative colony of light pink color). The most favorable medium for cultivation is Ploskirev medium. It strains *K. oxytoca* formed large mucous colonies (2-3 mm) of regular shape, with even margins. A comparative analysis of the effectiveness of using of media for differential diagnostic purposes consisted of sowing heterogeneous strains and strains of the species *K. oxytoca* on Ploskirev medium. The medium was used as the most favorable in composition, on which the growth of *K. oxytoca* species was noted for its abundant and «magnificent» growth. The cultivation was carried out under the same temperature conditions (37 °C), the crops were monitored for 48 hours. Analysis of the results obtained during a 48-hour culture of strains on Ploskirev medium made it possible to note similar cultural properties of the strains *K. oxytoca* 1, *K. oxytoca* 24, *E. cloacae* 397, *E. coli* 383-the formation of convex light pink colonies with regularform, smooth edges and with mucous consistence. Strain of *S. marcenscens* 21 formed a red pigment after 48 hours, which made it possible to differentiate this species with the studied strain of species *K. oxytoca*. The using of Endo, Levina and Ploskirev nutrient media for studies does not provide a complete identification of bacteria of this species.

Введение

В мире достаточно распространенными являются заболевания, вызванные с условно-патогенными микроорганизмами, среди которых *Klebsiella* занимает ведущее место. В зависимости от состояния иммунной системы человека этот возбудитель может явиться причиной как легкого инфекционного заболевания, так и тяжелого септического проявления [2]. Бактерии вида *Klebsiella oxytoca* представляют собой грамотрицательные факультативно-анаэробные бактерии. Оптимальными условиями культивирования являются температура роста (35–37) °С и время инкубирования (20–24) часа. Штаммы бактерий данного вида, как правило, индолоположительны (в связи с чем и были выделены в отдельный вид), отрицательны по аргининдигидролазе и орнитиндекарбоксилазе, обладают подвижностью при 10 °С [3]. Непременной особенностью *Klebsiella* считают «пышный» и обильный рост с образованием на плотных питательных средах (среда Эндо, среда Плоскирева, среда Левина) больших, выпуклых, частично сливающихся колоний слизистой консистенции [5].

При первичной идентификации бактериального агента применяют бактериологический метод и бактериоскопию. Бактериологический метод связан с посевом материала на питательные среды, позволяющие дифференцировать штаммы гетерогенных бактерий (анализируя характер выросших колоний). В практике наиболее часто используются среды Эндо, Левина, Плоскирева, ВСА [1,8]. Стоит отметить, что рост на этих средах штаммов гетерогенных бактерий или бактерий, являющихся сопутствующей микрофлорой при выделении бактерий рода *Klebsiella*, имеет ряд отличий: бактерии рода *Escherichia* на среде Эндо образуют ярко-малиновые колонии с металлическим блеском (у *Klebsiella* лишь некоторые штаммы способны образовывать колонии с металлическим блеском, цвет колоний – малиновый); на среде Левина бактерии рода *Escherichia* образуют черно-синие колонии с металлическим блеском (у *Klebsiella* колонии сине-розо-

вого цвета); на среде Плоскирева бактерии рода *Escherichia* образуют по краям среды колонии серого цвета, в центре – розовые или брусничного цвета, с желтоватым оттенком (у *Klebsiella* колонии светло-красного цвета); бактерии рода *Enterobacter* на среде Эндо образуют нежно-розовые колонии (у *Klebsiella* колонии подобного цвета встречаются редко); на среде Левина рост бактерий рода *Enterobacter*, в отличие от рода *Klebsiella*, подавляется; на среде Плоскирева бактерии рода *Enterobacter* образуют колонии бежевого цвета или с явно выраженным бежевым оттенком (у *Klebsiella* колонии светло-красного цвета); бактерии рода *Serratia* на среде Эндо, Левина и Плоскирева образуют бесцветные, прозрачные (пигментообразующие штаммы – красные) колонии, причем хороший рост отмечается при 30 °С (у *Klebsiella* оптимальной температурой роста является (35–37) °С, колонии малинового цвета) [4]. Бактериоскопия заключается в окрашивании мазков по Граму.

Цель исследований заключалась в изучении особенностей роста бактерий вида *K. oxytoca* на питательных средах, используемых для бактериологической идентификации и дифференциации.

Материалы и методы

В работе использовались 7 штаммов бактерий, выделенных нами из внешней среды и типированных как бактерии *K. oxytoca*, и 1 штамм, полученный из коллекции кафедры МВЭиВСЭ (Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина) – АТСС 8724. В качестве гетерогенных штаммов использовали бактерии семейства *Enterobacteriaceae*: *E. coli* 383, *E. cloacae* 397, *S. marcescens* 21. Для изучения особенностей роста штаммов бактерий использовали среды, которые наиболее часто используются в практике: среда Эндо (ГНЦ прикладной микробиологии, г. Оболенск), среда Левина (ГНЦ прикладной микробиологии, г. Оболенск), среда Плоскирева (ГНЦ прикладной микробиологии, г. Оболенск). Посев на среды суточных культур осуществляли после «подращивания» на мясопептонном бульоне (ГНЦ прикладной микробиологии,

г. Оболенск) в течение 24-х часов. Суточную культуру каждого штамма высевали на отобранные питательные среды штрихом. Инкубировали посевы в течение 24-х часов при 37 °С [6, 7].

Результаты исследований

Анализ роста бактерий на средах проводили по следующим критериям: величина колоний, форма колоний, характер контура края, рельеф колоний, цвет, консистенция.

Характер роста бактериальных колоний дифференцировали:

- слабый (диаметр выросших колоний едва достигает 1-го мм, количество колоний < 20; диаметр колоний < 0,5 мм, количество колоний > 50);

- средний (диаметр выросших колоний (1–2) мм, количество – (20–50); диаметр – (2–3) мм, но количество колоний < 30);

- обильный (диаметр выросших колоний (2–3) или (3–4) мм, количество > 50).

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1.

Результаты, представленные в таблице 1, позволяют отметить хороший, обильный рост на среде Плоскирева у 62,5 % всех исследуемых штаммов (*K. oxytoca* 1, *K. oxytoca* 2, *K. oxytoca* 3, *K. oxytoca* 25, *K. oxytoca* ATCC 8724). Слизистые пышные колонии достигали диаметра 2–3 мм, цвет колоний варьировал от светло-розового до розового.

Рост на среде Левина у 50,0 % штаммов (*K. oxytoca* 1, *K. oxytoca* 10, *K. oxytoca* 25, *K. oxytoca* ATCC 8724) средний, с синерозовыми колониями в диаметре 1–2 мм. У 37,5 % штаммов (*K. oxytoca* 3, *K. oxytoca* 24, *K. oxytoca* 26) рост слабый, количество синерозовых колоний достигало 20.

На среде Эндо отмечен самый слабый рост бактерий, с образованием мелких и редких колоний с металлическим блеском. Отметим, что два штамма (*K. oxytoca* 24, *K. oxytoca* 26) образовывали лактозоотрицательные колонии.

Бактерии *K. oxytoca*, *E. cloacae* и *S. marcescens* согласно системе дифференциации, предложенной Э. Юингом и П. Эдварсом (объединение по сходству биохимиче-

ских и культуральных признаков), относят к одной трибе – *Klebsielleae*. Бактерия *E. coli* является модельным микроорганизмом в микробиологических исследованиях (поскольку является одним из самых хорошо изученных микроорганизмов). Кроме того, *E. coli* является микроорганизмом, культуральные свойства которого схожи со многими энтеробактериями (в частности, *Klebsiella*), что приводит к значительным затруднениям при выделении бактерий.

Сравнительный анализ эффективности использования сред в дифференциально-диагностических целях заключался в посевах гетерогенных штаммов и штаммов вида *K. oxytoca* на среду Плоскирева (наиболее благоприятная по составу питательная среда, на которой рост бактерий вида *K. oxytoca* отличается своим обилием и «пышным» ростом). Инкубация посевов производилась в условиях термостата при 37 °С, с наблюдением за изменениями в течение 2-х суток (табл. 2).

Согласно результатам, представленным в таблице 2, отмечены сходные культуральные свойства бактерий *K. oxytoca* 1, *K. oxytoca* 24, *E. cloacae* 397, *E. coli* 383 – это образование выпуклых светло-розовых колоний правильной формы, с ровными краями и слизистой консистенцией. Рост *S. marcescens* 21 отличается от данных видов характеристикой выросших колоний и образованием через 48 часов красного пигмента.

Заключение

В результате проведенных исследований обильный рост с образованием большого количества слизистых «пышных» колоний правильной формы отмечен на среде Плоскирева (62,5 % всех изучаемых штаммов *K. oxytoca*), формирование небольшого количества колоний (или большого количества, но мелких колоний) фиксируется на среде Эндо, на среде Левина рост бактерий можно охарактеризовать как средний – с образованием средней величины и небольшого количества колоний. Использование среды Плоскирева в исследованиях не обеспечивает прямой идентификации

Характеристика роста штаммов бактерий *K. oxytoca* на ДДС

Исследуемый штамм	Питательная среда	pH среды	Условия инкубации	Результат	Характеристика роста
<i>K. oxytoca 1</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии малинового цвета, лактозо(+), 2–4 мм	Средний
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 1–3 мм	Средний
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2–3 мм	Обильный
<i>K. oxytoca 2</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии малинового цвета, лактозо(+), 2-4 мм	Средний
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 1-2 мм	Обильный
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2-3 мм	Обильный
<i>K. oxytoca 3</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии малинового цвета, лактозо(+), 2-4 мм	Обильный
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 1 мм	Слабый
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2-3 мм	Обильный
<i>K. oxytoca 10</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии малинового цвета, лактозо(+), 1-2 мм	Средний
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 2 мм	Средний
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2-3 мм	Средний
<i>K. oxytoca 24</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии светло-розового цвета, лактозо(-), 1-2 мм	Слабый
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 1 мм	Слабый
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2-3 мм	Средний
<i>K. oxytoca 25</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии малинового цвета, лактозо(+), 1-2 мм	Средний
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 1-2 мм	Средний
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2-3 мм	Обильный
<i>K. oxytoca 26</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии светло-розового цвета, лактозо(-), 1-2 мм	Средний
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 1 мм	Слабый
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2-3 мм	Средний
<i>K. oxytoca ATCC 8724</i>	Эндо	7,4±0,2	37 °С, 24 часа	Куполообразные слизистые колонии малинового цвета, лактозо(+), 2-3 мм	Средний
	Левина	7,2±0,2	37 °С, 24 часа	Слизистые колонии сине-розового цвета, 1-2 мм	Средний
	Плоскирева	7,0±0,2	37 °С, 24 часа	Светло-розовые колонии, 2-3 мм	Обильный

бактерий, в связи с чем необходимо выделение их в чистой культуре и последующая идентификация широким набором тестов, что длительно и трудоемко. Анализ полученных данных позволяет заключить о недостатках всех этих сред, т.к. на них помимо бактерий рода *Klebsiella* хорошо растут и другие бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, что затрудняет отбор колоний для проведения дальнейшей идентификации.

Для определения принадлежности культур к клебсиеллам необходима постановка целого ряда подтверждающих тестов (тесты на подвижность, сероводород, мо-

чевину, фенилаланиндезаминазу, цитрат Симмонса, малонат, лизиндекарбоксилазу, инозит) и, следовательно, значительное время и материальные затраты. В целях ускорения исследования, значительного сокращения объема работы и материальных средств считаем эффективным разработку хромогенной питательной среды для одноэтапного выделения и прямой идентификации бактерий рода *Klebsiella*.

Список литературы

1. Бульканова, Е.А. Биологические свойства бактерий рода *Klebsiella* и их значение в патологии животных [Текст] / Е. А. Бульканова, С. Н. Золотухин, Е. Н. Митрохина // Вестник Ульяновской государ-

Таблица 2.

Сравнительный анализ эффективности использования среды Плоскирева в дифференциально-диагностических целях

Исследуемый штамм	Среда Плоскирева			
	Условия культивирования	рН среды	Характеристика колоний	
			Через 24 часа	Через 48 часа
<i>K. oxytoca 1</i>	37+1 °С	7,0+0,2	Выпуклые колонии светло-розового цвета, диаметром 2-3 мм. Правильной формы, с ровными краями, слизистой, тянущейся консистенции	Выпуклые колонии светло-розового цвета, правильной формы, с ровными краями, слизистой, тянущейся консистенции. Отмечали увеличение некоторых колоний до 3,5 мм
<i>K. oxytoca 24</i>	37+1 °С	7,0+0,2	Выпуклые колонии светло-розового цвета, диаметром 2-3 мм. Правильной формы, с ровными краями, слизистой консистенции	Выпуклые колонии розового цвета, правильной формы, с ровными краями, слизистой консистенции. Отмечали увеличение некоторых колоний до 3 мм
<i>E. coli 383</i>	37+1 °С	7,0+0,2	Выпуклые колонии розового цвета, диаметром 1,5-2,5 мм. Правильной формы, с ровными краями, слизистой консистенции	Выпуклые колонии розового цвета, правильной формы, с ровными краями, слизистой консистенции. Отмечали увеличение некоторых колоний до 3,5 мм
<i>E. cloacae 397</i>	37+1 °С	7,0+0,2	Выпуклые колонии светло-розового, с заметным при проходящем свете желтоватым оттенком, диаметром 2-3,5 мм. Правильной формы, с ровными краями, слизистой консистенции	Выпуклые, колонии светло-розового цвета, с заметным при проходящем свете желтоватым оттенком. Увеличение размера колоний не наблюдали (2-3,5 мм). Правильной формы, с ровными краями, слизистой консистенции
<i>S. marcescens 21</i>	37+1 °С	7,0+0,2	Выпуклые, прозрачные бесцветные колонии сальмонелл, диаметром 1-2 мм. Правильной формы, с ровными краями, мажущей консистенции	Выпуклые колонии с заметным красным пигментом, диаметром 1-2 мм. Правильной формы, с ровными краями, мажущей консистенции

ственной сельскохозяйственной академии. – 2004. – № 12. – С. 34–40.

2. Бухарова, Е.В. Патогенный потенциал *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus* при ассоциативном симбиозе у детей первого года жизни [Текст] / Е.В. Бухарова, В.В. Долгих, С.М. Попкова, Е.Б. Ракова, Н.М. Шабанова, У.М. Немченко, Е.И. Иванова, Л.В. Сердюк // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12–2. – С. 20–24.

3. Евтеева, Н.И. Новые природные резервуары и биологические свойства штаммов *Klebsiella pneumoniae* [Текст] / Н.И. Евтеева, А.И. Речкин // Симбиоз Россия 2008: Сборник научных трудов I Всероссийского, с международным участием конгресса студентов и аспирантов биологов. – Казань, 2008. – С. 114–119.

4. Золотухин С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных [Текст] / С.Н. Золотухин. – Ульяновск, 2004. – С. 64–75.

5. Поздеев О.К. Энтеробактерии: руководство для врачей [Текст] / О.К. Поздеев, Р.В. Федоров. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 720 с.

6. Родионова, А.В. Сравнительная оценка дифференциально-диагностических свойств питательных сред, используемых для выделения бактерий рода *Klebsiella* [Текст] // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: Материалы IX-й Международной студенческой научной конференции. – Ульяновск: УГСХА, 2016. – Т. II. – С. 184–187.

7. Садртдинова Г.Р. Биохимическая активность бактерий вида *Klebsiella oxytoca* [Текст] / Г.Р. Садртдинова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Материалы VII международной научно-практической конференции. – Ульяновск: УГСХА, 2016. – Т. III. – С. 261–265.

8. Сельников О.П. Микробиологическая и патоморфологическая характеристика клебсиеллезной инфекции [Текст] / О. П. Сельников // Микробиология. – 1992. – Т. 54. – № 2. – С. 75–80.

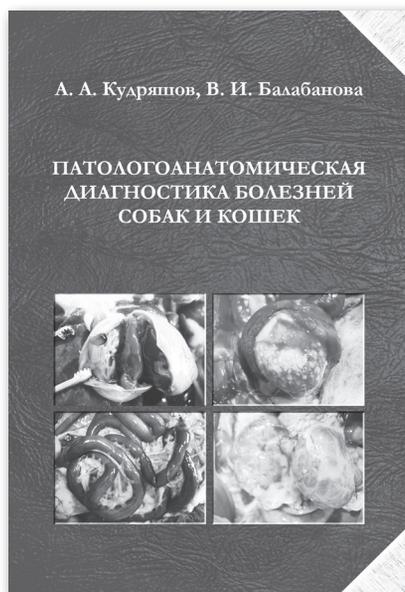
Патологоанатомическая диагностика болезней собак и кошек

Авторы: Кудряшов А. А.,
Балабанова В. И.

Формат: 170 x 250 мм, твёрдый переплет, 328 с. с илл.

Описание: В книге представлены рекомендации по проведению и протоколированию вскрытия мелких домашних животных и в частности собак и кошек, а также материалы по патологоанатомической и дифференциальной диагностике большинства инфекционных и наиболее важных инвазионных и незаразных болезней. Из незаразных болезней разобраны те, которые наиболее часто приводят к смерти и в диагностике которых определяющее значение имеют результаты вскрытия.

Впервые представлены данные по патологоанатомиче-



скому описанию отравлений собак ИЗОНИАЗИДОМ, ЦИАНИДАМИ И КРЫСИНЫМИ ЯДАМИ, а также представлена информация по патогенезу данных отравлений.

Текст иллюстрирован авторскими снимками органов с патологоанатомическими изменениями при ряде болезней.

В книгу включены снимки препаратов и рисунков музея кафедры патологической анатомии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины.

Книга предназначена для ветеринарных специалистов и студентов ветеринарных факультетов вузов.

Допущено Министерством сельского хозяйства Российской Федерации в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности «Ветеринария».

Заказ книги: т. 8 (812) 232-88-61, E-mail: ivb-info@mail.ru ; invetbio@yandex.ru; через сайт <http://invetbio.spb.ru/Kudryashov-2016.htm> Код заказа П10

УДК 578.823.2. 57.083.3

Ключевые слова: Вирус Блутанга, вакцина, адъюванты, реактогенность, иммуногенность

Key words: Bluetongue disease, vaccine, adjuvants, reactogenicity, immunogenicity

Жугунисов К.Д.¹, Таранов Д.С.¹, Ершебулов З.Д.¹, Жунушов А.Т.², Абдураимов Е.О.¹

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ АДЬЮВАНТОВ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БЛУТАНГА
THE COMPARATIVE EVALUATION OF DIFFERENT ADJUVANTS AT MANUFACTURING OF AN INACTIVATED BLUETONGUE DISEASE VACCINE

¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности

Адрес: 080904, Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский

*Research Institute of Biological Safety Problems**Address: 080904, Kazakhstan, Zhambylskaya region, Kordayskiy district, urban-type settlement Gvardeyskiy*²Институт биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики

Адрес: 720071, Кыргызстан, г. Бишкек, проспект Чуй, д. 265

*Institute of Biotechnology of National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic**Address: 720071, Kyrgyzstan, Bishkek, Chui av., 265*

Жугунисов Куандык Даулетбаевич, магистр ветеринарных наук, науч. сотрудник

Zhugunisov Kuandyk D., Master of Veterinary Sciences, Researcher

Таранов Дмитрий Сергеевич, магистр биологических наук, науч. сотрудник

Taranov Dmitriy S., Master of Biological Sciences, Researcher

Ершебулов Закир Джаппарович, магистр биологических наук, начальник отдела обеспечения качества

Yershebulov Zakir D., Master of Biological Sciences, Head of Quality Assurance Department

Жунушов Асанкадыр Темирбекович, д. в. н., профессор, директор Института биотехнологии

Zhunushov Asankadyr T., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director of the Institute of Biotechnology

Абдураимов Ергали Орынбасарович, д. в. н., главный ученый секретарь

Abduraimov Yergaly O., Doctor of Veterinary Sciences, Chief Executive Secretary

Аннотация. В данной работе были проведены сравнительные исследования по оценке эффективности различных адъювантов при изготовлении инактивированной вакцины против вируса блутанга. Определены следующие параметры: pH, вязкость и стабильность эмульсии, реактогенность и иммуногенность сорбированной и эмульгированной вакцин. Результаты исследования показали хорошую стабильность эмульгированной вакцины с масляным адъювантом и отсутствие реактогенности у овец при внутримышечном введении. Тогда как сорбированная вакцина обладала реактогенностью, вызывая образование припухлости и повышение температуры тела животных на 2–3 сут. Изучение иммуногенных свойств на 40-е сут показало, что иммунный ответ эмульгированной вакцины значительно выше, чем у сорбированного препарата.

Summary. The results of studies of the comparative evaluation of different adjuvants for the manufacture of inactivated sorbate and emulsified vaccines against bluetongue virus are presented in this work. Such parameters as pH, viscosity and emulsion stability, vaccine reactogenicity and immunogenicity are identified in the experiments. The results of the study showed a good stability of emulsified vaccine with oil adjuvant and a lack of reactogenicity in sheep by intramuscular administration. Whereas the sorbed vaccine had a reactogenicity causing swelling and increasing of animal's body temperature during 2–3 days. The study of immunogenic properties on 40th day showed that the immune response of the emulsified vaccine is significant higher than that of the sorbed vaccine.

Введение

Блутанг (катаральная лихорадка овец, синий язык) – инфекционная, неконтагиозная, переносимая трансмиссивными насекомыми вирусная болезнь домашних и диких жвачных животных. В настоящее время известны 27 серотипов вируса блутанга [7], которые дают небольшие перекрестные реакции. Блутанг в естественных условиях поражает домашних и диких жвачных животных, в частности, вызывая тяжелое клиническое заболевание у овец [3].

В настоящее время эффективным методом борьбы с блутангом является специфическая вакцинопрофилактика. Применение моно- или поливалентных вакцин, содержащих инактивированный вирус, является самым эффективным методом борьбы с заболеванием в очагах и эндемичных регионах. Из-за определенных рисков, связанных с использованием живых вакцин, в том числе тератогенности, реверсии вирулентности, подавления иммунитета и генетической ассоциации

серотипов, инактивированные вакцины считаются более безопасными и использовались во многих европейских странах для контроля вспышек, снижения вирусемии и циркуляции вирусов [9].

Для повышения эффективности инактивированных вакцин против блутанга были проведены многие исследования по поиску вспомогательных веществ, способных повысить гуморальный и клеточный иммунный ответ организма. В настоящее время в составе инактивированных вакцин против блутанга используются минерально-солевые и масляные адъюванты. Соли алюминия, которые представляют собой коллоидные дисперсии гидроксида алюминия (ГОА), являются одним из наиболее часто используемых адъювантов в вакцинах из-за их безопасности и низкой стоимости. Соли алюминия были использованы в ветеринарии и в вакцинах человека с 1930-х годов. Тем не менее, их главный недостаток – неспособность вызывать клеточный иммунный ответ, в частности, цитотоксический Т-клеточный ответ. Алюминиевые соли стимулируют синтез антител в регионарных лимфоузлах и вызывают скопление плазматических клеток в местах образования поствакцинальных гранул [4].

Из веществ органической природы в качестве адъюванта часто используют сапонины. Известно, что сапонины, относящиеся к большой группе гликозидов растительного происхождения, имеют сложное химическое строение и обладают различными токсическими, гемолитическими и адъювантными свойствами [1].

В последнее время в практику вошел новый тип адъюванта, приготовленный на основе минеральных и неминеральных масел и их смесей. При использовании такого адъюванта предварительно растворенный или суспендированный в воде антиген очень тонко диспергирует в масле, в результате чего получают эмульсию типа «вода в масле», то есть капельки воды с антигеном находятся в масляной фазе. Биопрепараты с масляными адъювантами имеют более высокую иммуногенность, чем сорбированные вакцины. Вакцины с масляными адъювантами отличаются высокой иммуногенной активностью,

но их применение сдерживается вследствие индуцирования серьезных местных реакций, образования абсцессов и т.д. По сравнению с масляными, сорбированные вакцины, содержащие в качестве сорбентов-адъювантов гели гидрата окиси алюминия, фосфата алюминия, фосфата кальция, имеют меньшую токсичность для животных, однако могут, особенно при подкожном введении, вызывать образование стерильных абсцессов и длительно персистирующих узелков.

Целью работы был подбор адъювантов, изучение их эффективности в составе инактивированных вакцин в сравнительном аспекте для оценки их способности вызывать гуморальный ответ и местную реакцию животных.

Материалы и методы

В исследованиях использовали вирус блутанга 16-го серотипа с биологической активностью $(6,91 \pm 0,08)$ Ig ТЦД50/см³, наработанный в культуре клеток ВНК-21/17.

Инактивацию вируса блутанга проводили 0,1 % бета-пропиолактоном (БПЛ) в течение 12 ч при температуре 37 °С.

Составление сорбированной инактивированной вакцины. К инактивированной суспензии вируса блутанга добавляли 6 % ГОА до конечной концентрации (5–10) мг/мл, затем тщательно перемешивали и выдерживали при температуре (2–6) °С в течение суток для адсорбции вирусного антигена. Через 24 ч осторожно, не взбалтывая, декантировали 1/3 надосадка, доливали новую партию инактивированной вирусной суспензии до первоначального объема, тщательно перемешивали и выдерживали еще 24 ч. К полученной сорбированной вакцине добавляли 10 % сапонины до конечной концентрации 0,5 мг/мл, перемешивали и разливали в стерильные флаконы.

Составление эмульгированной инактивированной вакцины. Вакцину готовили путем объединения масляного адъюванта Montanide ISA-71VG (Seppic, Франция) и охлажденного инактивированного антигена вируса блутанга в соотношении 7:3, путем тщательного перемешивания при помощи лабораторного миксера (T25 basic ULTRA-

TURRAX) при обороте 3000 об/мин в течение 10 мин.

Определение физических характеристик вакцин

Определение рН. Значения рН полученных образцов измеряли с помощью рН-метра С830, в трёх повторностях при постоянной температуре 25 °С.

Определение вязкости. Вязкость определяли на вискозиметре ВПЖ-2 согласно наставлению к прибору и выражали данные в мм²/с.

Контроль стабильности эмульгированной инактивированной вакцины. Стабильность эмульсии приготовленных инактивированных вакцин контролировали согласно инструкции компании «Serpic» (Франция) при помощи экспресс-метода центрифугирования.

Животные

В эксперименте были использованы кролики (массой от 2,0 до 3,0 кг) и овцы (породы казахские меринсы) в возрасте 6–9 мес, массой от 16,0 до 21,0 кг. На протяжении всего периода исследований животные содержались в виварии Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ), Жамбылская область, Казахстан. Животных содержали в тихой и климатически контролируемой среде со свободным доступом к стандартному корму и воде. Перед экспериментом у всех овец брали сыворотку крови и исследовали в РН (реакция нейтрализации) и методом ТФ-ИФА на обнаружение группоспецифических антител к вирусу блутанга. Эксперименты проводили в соответствии с руководящими принципами, изложенными Комитетом по этике экспериментирования животных НИИПББ. Животные были использованы для вакцинации и оценки гуморального ответа, а также в тесте по оценке реактогенности.

Вакцинация животных: оценка реактогенности и гуморального ответа

Овцы методом рандомизации были разделены на три группы по пять голов: 1-я группа контрольная (физиологической раствор), 2-я группа (вакцинирована ГОА вакциной), 3-я группа (вакцинирована эмульгированной вакциной). Препараты вводили овцам вну-

тримышечно по 2 см³ с внутренней стороны бедра. От животных каждой группы на 0, 7, 14, 21, 28 и 40-й день опыта из яремной вены брали образцы для получения сыворотки, которую тестировали на наличие специфических и нейтрализующих антител в реакциях ТФ-ИФА и РН.

Определение титра антител с помощью РН и ТФ-ИФА

Реакцию нейтрализации проводили в соответствии с методом Haig and MaRAA [5] с использованием контрольного штамма ВТВ-16 и серотип-специфической сыворотки против данного серотипа.

Постановку ИФА проводили согласно инструкции изготовителя (ID-Vet, Франция).

Результаты исследований

Получение и характеристика адьювантных вакцин

Сорбированную (ГОА) и эмульгированную (ISA-71VG) вакцину приготовили согласно инструкции производителя. ГОА-вакцина была получена в виде коллоидной дисперсии розоватого цвета. Эмульгированная вакцина получена в виде эмульсии белого цвета, однородной консистенции. После приготовления двух типов вакцин измеряли значения рН, вязкости и стабильности эмульсии. Результаты представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что значения рН ГОА-вакцины составило в среднем ($6,68 \pm 0,27$), тогда как в эмульгированной вакцине рН показало значение ($7,21 \pm 0,22$). Вязкость сорбированной и эмульгированной вакцин составили ($21,2 \pm 0,11$) и ($25,5 \pm 0,35$) мм²/с соответственно. Статистические анализы показали, что при определении рН у видов вакцин нет существенных различий, тогда как при изучении вязкости сорбированная вакцина значительно ниже ($P < 0,001$) по сравнению с эмульгированной вакциной. При определении стабильности методом центрифугирования у образцов эмульгированной вакцины не происходило отделения водной фазы на дне, что свидетельствует о хорошей стабильности эмульсии изготовленного препарата согласно рекомендации производителя.

Физические параметры сорбированной и эмульгированной вакцин

Параметры	Состав препарата		р-значение
	ГОА+Антиген	ISA-71VG+Антиген	
рН	6,68±0,27	7,21±0,22	ns
Вязкость (мм ² /с)	21,2±0,1	25,5±0,4	< 0,001
Стабильность эмульсии	не определяли	стабильна	–
значения приведены как среднее ± стандартное отклонение (n=3)			

Реактогенность адъювантов в составе инактивированной вакцины

При изучении реактогенности особое внимание уделяли учету местных и общих реакций. Местные реакции учитывали по появлению инфильтрата в ответ на введение образцов. Общие реакции оценивали на основании клинических признаков при ежедневной термометрии в течение 14-ти суток после введения образцов.

В результате проведенных работ установлено, что у животных после введения образцов с содержанием ГОА 10 мг/см³ на месте введения появлялись инфильтраты размером (91,5×1,5) см. У животных данной группы отмечалось повышение температуры тела до 40,5 и 40,6°С в течение первых (2–3) суток (рис. 1) и хромота, инфильтрат рассасывался постепенно, исчезая на (5–8) сутки.

При изучении реактогенности эмульгированной вакцины установлено, что у животных после внутримышечного введения в объеме 2 см³ в месте введения не отмечались какие-либо клинические изменения или повышение температуры тела (рис. 1). Клиническое состояние у животных оставалось

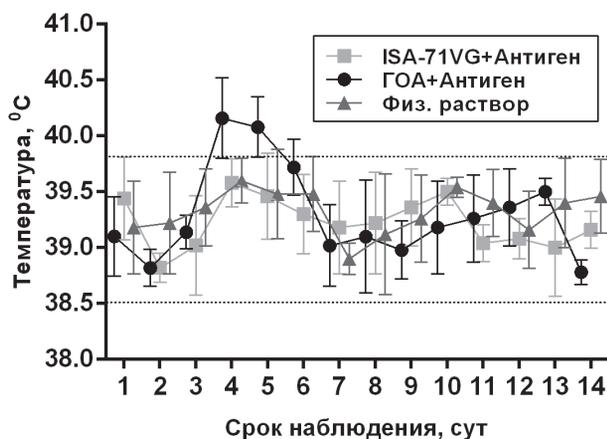


Рис. 1. Температурная реакция животных, привитых сорбированной и эмульгированной вакцинами.

удовлетворительным на протяжении всего периода наблюдения.

Определение иммуногенности экспериментальных вакцин против блутанга

В следующей серии опытов изучали иммуногенность приготовленных сорбированной и эмульгированной вакцин на овцах, используя на каждый препарат по 5 голов животных. Результаты изучения динамики формирования группоспецифических антител представлены в таблице 2.

Результаты исследований и данные, представленные в таблице 2, показали, что при иммунизации как сорбированной, так и эмульгированной вакцинами в организме овец в течение 7-ми суток не выявляются группоспецифические антитела. Изучение сывороток крови вакцинированных животных на 14, 21 и 28-е сутки после иммунизации показало формирование группоспецифических антител в титрах от 1:200 до 1:1600. Исследования показали, что у животных, вакцинированных сорбированной вакциной, на 40-е сутки после введения титр группоспецифических антител снижается, когда как при иммунизации эмульгированной вакциной наблюдается существенное повышение титров антител до 1:6400. При этом в разный период времени (7, 14, 21 и 28-е сут) между средними титрами антител у животных, привитых сорбированной и эмульгированной вакцинами, существенной разницы не отмечалось, когда как на 40-е сут значимая разница наблюдалась между титрами антител двух групп животных, привитых данными вакцинами (p<0,001).

Наряду с проявлением группоспецифических антител, выявляемых в ТФ-ИФА, весьма важным является обнаружение вируснейтрализующих антител (ВНА), т. к. именно

Таблица 2.

Результаты исследований динамики формирования группоспецифических антител у вакцинированных животных

Вид вакцины	Номер животного	Титр антител в ТФ-ИФА, сут					
		0	7	14	21	28	40
ISA-71VG + Анtigen	131	н/о	н/о	1:400	1:800	1:800	1:6400
	369	н/о	н/о	1:400	1:800	1:800	1:6400
	367	н/о	н/о	1:400	1:800	1:1600	1:6400
	137	н/о	н/о	1:400	1:800	1:1600	1:6400
	296	н/о	1:100	1:200	1:800	1:1600	1:3200
Средний±SD	–	0	20±44	360±89	800±0,0	1280±438	5760±1431
ГОА+Антиген	635	н/о	1:100	1:200	1:200	1:800	1:200
	378	н/о	н/о	1:200	1:200	1:800	1:200
	416	н/о	н/о	1:200	1:200	1:1600	1:200
	512	н/о	н/о	1:200	1:200	1:1600	1:200
	375	н/о	н/о	1:200	1:800	1:800	1:800
Средний±SD	–	0	20±44	200±0,0	320±268	1120±438	320±268
ISA-71VG + Анtigen против ГОА+Антиген	–	н/с	н/с	н/с	н/с	н/с	< 0,001

Примечания: «н/о» - не обнаружено; «н/с» - нет существенной разницы.

данный вид антител является важным показателем иммуногенности вакцинных препаратов. Поэтому в экспериментах необходимо было выяснить и динамику формирования ВНА в организме вакцинированных животных. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 2.

Результаты проведенных исследований показали, что на 7-е сутки после вакцинации у животных не выявляются ВНА. Исследования сывороток крови с 14-е по 40-е сутки после вакцинации показали повышение титра ВНА в пределах 2,0 и 7,0 log₂ соответственно у всех животных, независимо от типа использованных вакцин. Однако, у животных, вакцинированных сорбированной вакциной, наибольший пик отмечен на 28-е сутки и незначительное снижение на 40-е сутки, тогда как у животных, иммунизированных эмульгированной вакциной, динамика формирования антител не снижалась в течение 40-ка суток и составила 7,0 log₂.

Обсуждение результатов

Задачей вакцинации является создание напряженного и длительного иммунитета

путем максимального вовлечения в иммуногенез защитных механизмов организма, что во многом связано с выбором и использованием неспецифических стимуляторов иммуногенеза – адъювантов. Поскольку многие инактивированные вирусные вакцины вызывают слабые иммунные реакции, стали использовать адъюванты, добавление которых дало возможность в различной степени возместить этот недостаток.

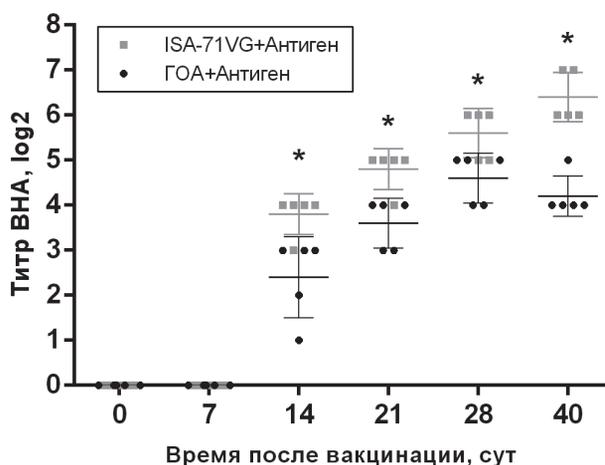


Рис. 2. Результаты исследования динамики формирования ВНА у вакцинированных животных. Значения приведены как средние титры антител ± SD. * - p<0,05.

По мнению Учителя И.Я., адьювантами могут быть вещества различной природы, оказывающие разный местный эффект: создающие «депо», вызывающие воспалительную реакцию и др. Адьюванты участвуют в процессах, происходящих на начальных этапах антителогенеза. Введение адьювантов усиливает клеточную пролиферацию и дифференцировку клеток, активируют их метаболизм, но, прежде всего, адьюванты изменяют функциональную активность клеток моноцитарной фагоцитирующей системы. Последнее имеет наиболее существенное значение для интенсивности иммуногенеза и его длительности [1].

При проведении опытов нами были получены два типа инактивированных вакцин на основе соли алюминия и минерального масла. При определении значений рН двух экспериментальных вакцин было установлено, что у эмульгированной вакцины значение рН оказалось слабощелочным и не должно вызывать реакции раздражения в месте введения. Тогда как рН сорбированной вакцины показало слабокислый показатель, что вызывает раздражение мышечной ткани, незначительное повышение температуры в течение 2–3 суток и образование припухлости в месте введения препарата, которая постепенно рассасывается в течение 5–6 суток.

Вакцины с адьювантами должны вводиться парентерально через шприцы, и при этом вязкость имеет решающее значение. По данным Jain et al. [6] установлено, что вязкость парентеральных препаратов может повлиять на проходимость через шприц. В результате проведенных нами исследований было установлено, что низкая вязкость препарата наблюдалась у ГОА-адьюванта, что обеспечивает легкую проходимость через шприц. При этом эмульсия типа «вода в масле» также легко проходила через шприц, хотя её вязкость была выше, чем вязкость у ГОА-вакцины.

Главным недостатком инактивированных эмульгированных вакцин является нестабильность эмульсии в процессе хранения препарата, приводящая к снижению иммуногенности препарата.

По исследованию многих авторов [2], существует зависимость стабильности эмуль-

сии от степени очистки вируссодержащей суспензии, входящей в состав препарата. Авторами отмечено, что даже частичное разрушение эмульсии вследствие повышенного содержания балластных белков в инактивированной вакцине снижает антигенную активность препарата в 1,5–2 раза. В связи с этим для изучения стабильности эмульсии тестируемой вакцины нами был использован экспресс-метод центрифугирования. Данный метод используется при проведении контроля качества ветеринарных и человеческих вакцин, приготовленных с использованием масляных адьювантов. В результате проведенных нами исследований установлено, что вакцина, приготовленная на основе масляного адьюванта с типом эмульсии «вода-масло», оказалась стабильной, хотя при составлении данной вакцины не проводили очистки антигена.

Большинство адьювантов вызывают нежелательные эффекты в месте инъекции, наиболее частым является воспалительный ответ [8]. Согласно данным литературы, допускается образование инфильтрата в месте инъекции вакцины без проявления побочных реакций, таких как: повышение температуры тела, угнетённое состояние и проч. Тем не менее, среди более 100 различных соединений, описанных в литературе как адьюванты, большинство были слишком реактогенными для использования в области здравоохранения и ветеринарии.

В результате экспериментальных исследований установлено, что для составления инактивированных сорбированных вакцин против блютанга допустимым является использование ГОА в концентрации не более 10 мг/мл, превышение концентрации приводит к нежелательным побочным реакциям в организме овец. При использовании соли алюминия в вакцинах для человека существуют ограничения по содержанию алюминия. В европейских странах эти пределы составляют 1,25 мг/мл, а в США – 0,85 мг/мл. В ветеринарных вакцинах нет такого определенного предела для допустимого содержания в адьювантах соли алюминия. Хотя Valtulini сообщил, что до 12 мг алюминий в вакцинах хорошо переносится у свиней, в то

время как вакцинные препараты, содержащие 40 мг, индуцируют гранулемы [10].

Результаты определения реактогенности эмульгированных вакцин показали, что у овец после введения образцов не отмечались какие-либо изменения или повышение температуры тела. Клиническое состояние животных оставалось удовлетворительным на протяжении всего периода наблюдения.

Известно, что определение иммуностимулирующих свойств адъювантов или их способность формирования антител в условиях *in vivo* является одним из основных критериев оценки эффективности адъювантов.

При изучении иммуногенности тестируемых вакцин установлено, что обе вакцины, приготовленные из разных адъювантов, индуцировали образование антител в организме овец неодинаковой напряженности. Эмульгированная вакцина вызывала у вакцинированных животных более выраженный серологический ответ. Эти различия были особенно ярко заметны в опытах на 40-е сутки после вакцинации, что, видимо, было обусловлено тем, что масляные адъюванты способны вызывать весьма длительную плазмоцитарную реакцию по сравнению с адъювантами неорганической природы, способствующими формированию продолжительного поствакцинного иммунитета.

Заключение

Таким образом, в результате анализа литературных данных, в качестве эффективных адъювантов для вакцины против блутанга чаще всего используются ГОА, комплекс ГОА с сапонином и масляный адъювант Montanide ISA. При сравнительном изучении иммуностимулирующей эффективности и реактогенности подобранных адъювантов

в виду наилучших иммунобиологических показателей был признан оптимальным и включен в состав вакцины масляный адъювант Montanide ISA-71VG.

Список литературы

1. Сергеев, В.А. Вирусы и вирусные вакцины [Текст] / В.А. Сергеев. – Москва, 2007. – 507 с.
2. Aucouturier, J., Ganne, V. Assessment of oil adjuvants in Newcastle disease vaccine [Текст] / J. Aucouturier, V. Ganne // Proceedings of the XX World Poultry congress. – Montreal, 2000. – 128 p.
3. García-Bocanegra, I. Role of wild ruminants in the epidemiology of bluetongue virus serotypes 1, 4 and 8 in Spain [Текст] / A. Arenas-Montes, C. Lorca-Oró, J. Pujols, A. A. González, S. Napp [et al] // Vet Res. – 2011. – № 42. – P. 1–7.
4. Gupta, R. K. Aluminum compounds as vaccine adjuvants [Текст] / R. K. Gupta // Adv. Drug Deliv. Rev. – 1998. – № 32. – P. 155–172.
5. Haig, D. G., Mara, D. A. The cytopathic action of Bluetongue virus on tissue cultures and its application to the detection of antibodies in the serum of sheep [Текст] / D. G. Haig, D. A. Mara // Onderstepoort J. Vet Res. – 1956. – № 27 (2). – P. 171–177.
6. Jain, J., Fernandes, C., Patravale, V. Formulation development of parenteral phospholipid-based microemulsion of etoposide [Текст] / J. Jain, C. Fernandez, V. Patravale // AAPS Pharm Sci. Tech. – 2010. – № 11. – P. 826–831.
7. Jenckel, M. Complete coding genome sequence of putative novel bluetongue virus serotype 27 [Текст] / E. Bréard, C. Schulz, C. Sailleau, C. Viarouge, B. Hoffmann, D. Höper, M. Beer, S. Zientara // Genome Announc. – 2015. – № 3 (2). – P. 15–16.
8. Lindblad, E. B. Safety Evaluation of Vaccine Adjuvants, in Vaccine Adjuvants and Delivery Systems (ed M. Singh) [Текст] / E. B. Lindblad. – John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. – 2007.
9. Noad, R., Roy, P. Bluetongue vaccines [Текст] / R. Noad, P. Roy // Vaccine. – 2009. – № 27. – P. 86–89.
10. Valtulini, S. Aluminium hydroxide-induced granulomas in pigs [Текст] / S. Valtulini, C. Macchi, P. Ballanti, Y. Cherel, A. Laval, J. M. Theaker [et al.] // Vaccine. – 2005. – № 23 (30). – P. 3999–4004.

Подписной индекс журнала
«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»:

Агентство «Росспечать» – **33184**

УДК 636.934.57:591.446

Ключевые слова: цитоархитектоника, заглочный медиальный лимфатический узел, норка, самки, самцы
Key words: cytoarchitecture, medial retropharyngeal lymph node, mink, females, males

Кошкина Н.А., Сунцова Н.А.

ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА ЗАГЛОТОЧНОГО МЕДИАЛЬНОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА У САМЦОВ И САМОК НОРОК В ВОЗРАСТЕ 3-Х МЕСЯЦЕВ *THE CYTOARCHITECTURE OF THE MEDIAL RETROPHARYNGEAL LYMPH NODE OF 3 MONTHS OLD MINK MALES AND FEMALES*

ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет»
Адрес: 610000, Россия, г. Киров, Московская ул., д. 36
*Vyatskiy State University, Federal State Budget Institution of Higher Education
Address: 610000, Russia, Kirov, Moskovskaya str., 36*

Кошкина Наталья Александровна, к. б. н., доцент.
E-mail: natalya-koshkina03@mail.ru. Тел. +7-919-522-88-89
*Koshkina Natalia A., PhD in Biological Sciences, Associate Professor.
E-mail: natalya-koshkina03@mail.ru. Тел. +7-919-522-88-89*
Сунцова Надежда Анатольевна, д. б. н., профессор.
E-mail: suntsova_nadi@mail.ru. Тел. +7-953-960-55-97
*Suntsova Nadezhda A., Doctor of Biological Sciences, Professor.
E-mail: suntsova_nadi@mail.ru. Тел. +7-953-960-55-97*

Аннотация. С помощью гистологических методов изучены особенности цитоархитектоники заглочного медиального лимфатического узла 10-ти самцов и самок норок в возрасте 3-х месяцев. Выявленные количественные различия в содержании лимфоцитов, митозов, зрелых плазматических клеток, макрофагов свидетельствуют о более высоком уровне процессов иммуногенеза в заглочном медиальном лимфатическом узле у самцов в сравнении с самками. Следовательно, заглочный медиальный лимфатический узел у самцов является наиболее функционально активным по сравнению с самками в этой возрастной группе.

Summary. *With the help of histological methods we studied the characteristics of cytoarchitectonic medial retropharyngeal lymph node of 10 males and females of mink at the age of 3 months. Quantitative differences in the content of lymphocytes, mitoses, mature plasma cells, macrophages indicate to more high level of processes of immunogenesis into the medial retropharyngeal lymph node of males with comparison to females. Consequently, the medial retropharyngeal lymph node of males is the most functionally active compared to females into this age group.*

Введение

Известно, что органы иммуногенеза, в том числе и лимфатические узлы, являются лабильными структурами, функционально взаимосвязаны друг с другом и действуют согласованно, обеспечивая индивидуальный иммунологический статус организма [2, 7, 8]. Лимфатические узлы одними из первых реагируют на воздействие различных факторов внешней и внутренней среды комплексом морфофункциональных преобразований, что сопровождается изменением соотношения коркового и мозгового вещества, уменьшением числа и площади первичных и вторичных лимфоидных узелков, расширением герминативных центров. В зависимости от причины, вызвавшей реакцию лимфатического узла, в нем происходят соответствующие структурные изменения [1, 2, 8, 9].

Изучение количественного состава лимфатических узлов у норок является довольно актуальным и находит определенный научный интерес среди специалистов в данной области. По данным литературных источников, клеточный состав некоторых лимфатических узлов у норок описан в работах Маталасова В. П. (1997), Сунцовой Н. А. (2009) [5, 9]. Также сведения о клеточном составе некоторых поверхностных лимфатических узлов самок норок в раннем постнатальном онтогенезе фрагментарно представлены в работах Кошкиной Н. А. (2014) [4]. Тем не менее, в изученной нами доступной научной литературе отсутствуют сведения о клеточном составе заглочного медиального лимфатического узла у норок в возрасте 3-х месяцев. Поэтому изучение данного вопроса мы считаем необходимым.

Целью данного исследования является изучение клеточного состава заглочного медиального лимфатического узла самцов и самок норок стандартной темно-коричневой породы (СТК) в возрасте 3-х месяцев.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужил заглочный медиальный лимфатический узел самцов ($n_{\sigma}=5$) и самок ($n_{\text{♀}}=5$) норок породы СТК в возрасте 3-х месяцев. Итого 10 животных.

Все действия, обеспечивающие контакты с экспериментальными животными, осуществлялись согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР) (Каркищенко Н. Н., 2004) и в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18.13.1986 г.

Исследованный материал получали от клинически здоровых животных в ООО звероводческом племенном хозяйстве «Вятка» Слободского района Кировской области с 2010 по 2012 гг.

В исследовании были использованы гистологические, электронно-микроскопические, статистические, а также зоотехнические методы исследования.

Все гистометрические измерения производили окулярной сеткой с помощью микроскопа марки МБИ – ДЗУ11. Определяли длину и ширину лимфоидных узелков в лимфатических узлах в поле зрения микроскопа при увеличении 20×8 . Параллельно фиксировали лимфатические узлы в жидкости Толеснички (1976) и в нейтральном формалине. Материал заливали в парафин по общепринятой методике, срезы толщиной 4–5 мкм изготавливали на микротоме. Полученные срезы окрашивали гематоксилином Гарриса с последующей окраской эозином, а также метиловым зеленым пиронином по Браше.

Клеточный состав определяли в функционально различных зонах лимфатического узла: в первичных и вторичных лимфоидных узелках, межузелковой зоне, паракортикальной и мозговой зонах. Подсчитывали все

клетки в 10-ти полях зрения морфологической специализированной, усовершенствованной сеткой случайного шага С. Б. Стефанова (1985, 1988), Н. С. Кухаренко (1974) на микроскопе марки МБИ – ДЗУ11. Идентификацию клеток проводили по Г. С. Катинас (1981). Фотографировали цифровым фотоаппаратом Samsung MW 800.

Для электронно-микроскопического исследования в постэмбриональный период у самцов и самок норок в возрасте 3-х месяцев участки заглочного медиального лимфатического узла фиксировали в 3 %-м буферном растворе глутарового альдегида, дофиксировали в осмии. Обезвоживали материал в спиртах различной крепости и ацетоне. На ультрамикротоме типа NOVA получали полутонкие и ультратонкие срезы. Полученные полутонкие срезы окрашивали 1 % раствором толуидинового синего. Ультратонкие срезы контрастировали до 60-ти минут в уксуснокислом ураниле и 5–15 сек. в цитрате свинца. Просматривали ультратонкие срезы в трансмиссионном микроскопе УЕМ – 100С «УЕОЛ». Электронно-микроскопические исследования проводились в ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН».

Статистическая обработка результатов проведена по программе «Biostatistica 6.0», анализ результатов – с использованием средней арифметической и ее ошибки, критерия t-Стьюдента. Значимыми считали различия при уровне вероятности ($P \leq 0,05$).

Результаты исследований

Заглочный медиальный лимфатический узел располагается на дорсальной стенке глотки рядом с краниальными глубокими шейными узлами. Крупный, имеет овальную вытянутую форму, серо-красный цвет. Заглочный медиальный лимфатический узел покрыт соединительнотканной капсулой, от которой внутрь лимфатического узла отходят капсулярные трабекулы [2, 7].

Внутри лимфатического узла, между трабекулами, ретикулярные волокна и клетки формируют трехмерную сеть с петлями различной формы и величины. В петлях этой сети располагаются клетки лимфоидного

ряда, распознающие и уничтожающие чужеродные структуры, которые попадают в лимфатический узел. Более стабильной частью паренхимы лимфатического узла является ретикулярная основа [7, 8].

Гистологически в заглоточном медиальном лимфатическом узле 3-месячных норок все морфофункциональные зоны сформированы: корковое вещество (зона), паракортикальная зона и мозговое вещество.

Корковое вещество (зона), более темное на окрашенных гистологических срезах (из-за плотно лежащих лимфоцитов), находится ближе к капсуле, занимает периферические отделы лимфатического узла [2, 7].

В корковой зоне у самцов и самок отчетливо просматриваются первичные лимфоидные узелки (без центров размножения) и вторичные лимфоидные узелки с центрами размножения – герминативными центрами, являющимися основным местом пролиферации клеток.

Количество лимфоидных узелков на срезе лимфатического узла у самцов составляет (5-6), размером от (67×100,5) до (201×301,5) мкм. У самок их несколько меньше – до (4-5) от (100,5×134) до (201×234,5) мкм. Лимфоидные узелки находятся непосредственно под капсулой, имеют овальную или округлую форму (рис. 1).

У самцов в первичных лимфоидных узелках заглоточного медиального лимфатиче-

ского узла основными клетками являются лимфоциты ($85,0 \pm 3,1$ %).

По данным электронной микроскопии, у самцов и самок норок в исследуемом лимфатическом узле лимфоциты имеют округлое ядро, интенсивно окрашенное и содержащее большое количество гетерохроматина. Мелкодисперсный хроматин рассеян в виде небольших глыбок по всему срезу ядра. В ядре имеется также ядрышко. Цитоплазма представлена в виде узкого тонкого ободка вокруг ядра. В ней находятся овальной формы митохондрии (до 8), островки эндоплазматического ретикулума, а также многочисленные рибосомы (рис. 2).

Количество иммуно- и плазмобластов в первичных лимфоидных узелках составляет ($1,00 \pm 0,14$) %. Число ретикулярных клеток и макрофагов колеблется в пределах ($2,00 \pm 0,18$) % (рис. 3). Количество макрофагов варьирует в пределах 2 %.

У самцов в герминативных центрах лимфоидных узелков (вторичные лимфоидные узелки) наблюдаются картины митозов, количество которых составляет ($4,00 \pm 0,32$) %, причем в герминативных центрах лимфоидных узелков их больше, чем в мозговой зоне (табл. 1). Кроме того, у самцов в этой возрастной группе во вторичных лимфоидных узелках просматриваются незрелые и зрелые плазматические клетки. Количество незрелых плазмочитов варьирует в пределах

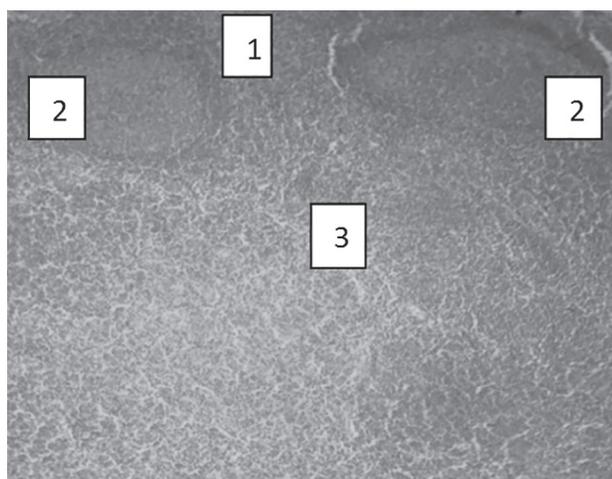


Рис. 1. Заглоточный медиальный лимфатический узел самца норки в возрасте 3 месяца. Метиловый зеленый Пиронин по Браше. Об. 8 х ок. 10.
1 – корковая зона; 2 – первичный лимфоидный узелок; 3 – паракортикальная зона

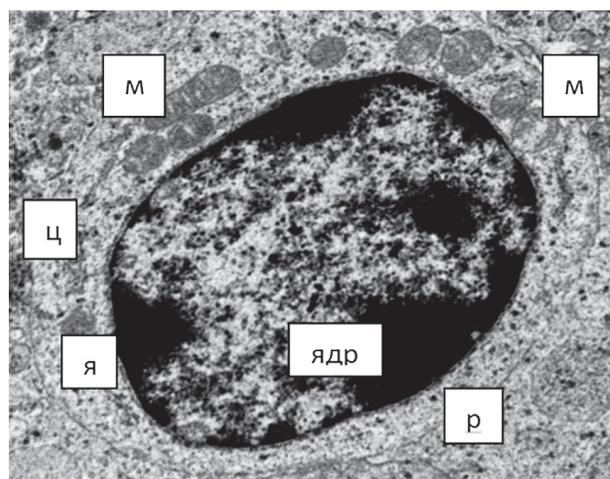


Рис. 2. Лимфоцит из лимфоидного узелка заглоточного медиального лимфатического узла самца норки в возрасте 3-х мес: я – ядро; ядр – ядрышко; ц – цитоплазма; м – митохондрии; р – рибосомы. Ув. x 10000 p

($3,00 \pm 0,24$) %, и это больше, чем в мозговой зоне ($2,00 \pm 0,22$) % ($P \leq 0,05$). Концентрация зрелых плазматических клеток у самцов составляет ($2,00 \pm 0,18$) % (табл. 1).

У самок в первичных лимфоидных узелках количество лимфоцитов составляет 86 %. Число иммунобластов больше в 2 раза по сравнению с самцами (табл. 1) ($P \leq 0,05$), при этом плазмобласты не выявлены. Количество ретикулярных клеток больше, чем у самцов, и составляет ($3,00 \pm 0,24$ %). У самок в герминативных центрах вторичных лимфоидных узелков так же выявлены митотически делящиеся клетки, но их в 2 раза меньше по сравнению с самцами ($P \leq 0,05$) (табл. 1). Однако зрелых плазматических клеток во вторичных лимфоидных узелках заглочного медиального лимфатического узла у самок выявлено немного (1 %).

Межузелковая и паракортикальная зоны у самцов и самок имеют однотипный клеточный состав. Преобладающими клетками как у самцов, так и у самок являются лимфоциты (95–96 %). Достаточно редко встречаются единичные иммуно- и плазмобласты и небольшое количество ретикулярных клеток (1–2 %). Также присутствуют макрофаги и незрелые плазматические клетки (1 %) (табл. 1). Зрелые плазматические клетки выявлены только у самцов (1 %).

Мозговая зона очень схожа по клеточному составу с первичными и вторичными лимфоидными узелками. Помимо основных клеток, лимфоцитов, также на гистологических срезах просматриваются клетки, формирующие соединительнотканый остов, – ретикулоциты, и клетки других популяций – иммунобласты, плазмобласты, макрофаги.

У самцов количество лимфоцитов в мозговой зоне увеличивается до ($89,00 \pm 2,76$ %). Встречаются иммунобласты, но их концентрация небольшая (1 %), плазмобласты не выявлены. Количество ретикулярных клеток и макрофагов варьирует в пределах 2 %. Снижается количество митозов (в 2 раза), по сравнению с таковым в герминативных центрах лимфоидных узелков ($P \leq 0,05$). Зрелых и незрелых плазматических клеток встречается меньше (в 2 и 1,3 раза) по сравнению с количеством плазматических клеток во вторичных лимфоидных узелках.

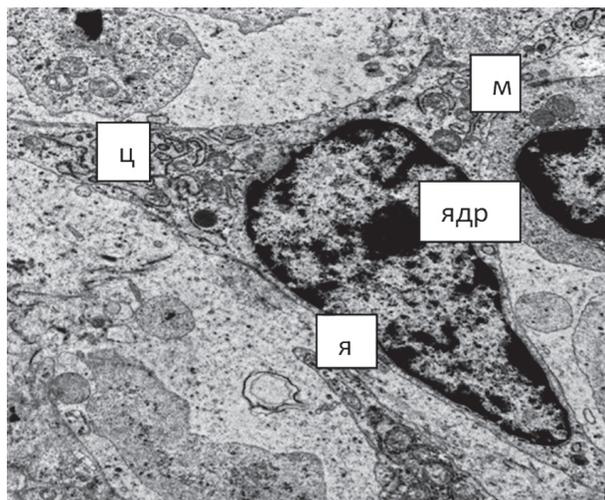


Рис.3. Ретикулярная клетка из лимфоидного узелка заглочного медиального лимфатического узла самца норки в возрасте 3-х мес: я – ядро; ядр – ядрышко; ц – цитоплазма; м – митохондрии. Ув. $\times 8000$ раз

У самок наблюдается следующая картина: количество лимфоцитов больше, чем у самцов (табл. 1). Число иммунобластов и ретикулярных клеток колеблется в пределах (2–3) % (табл. 1). Количество митозов (в 2 раза) и незрелых плазматических клеток (в 1,3 раза) уменьшается по сравнению с числом таковых в герминативных центрах лимфоидных узелков ($P \leq 0,05$). В мягкотных тяжах заглочного медиального лимфатического узла у самцов и самок выявлены единичные тучные клетки.

Обсуждение результатов

Проведенные исследования выявили особенности клеточного состава заглочного медиального лимфатического узла у самцов и самок норки в возрасте 3-х месяцев. В корковой зоне к данному возрасту у самцов и самок отмечено весьма большое количество лимфоидных узелков (до 5-6) по сравнению с другими представителями куньих, а также разных видов млекопитающих [9, 10]. Вероятно, это связано с тем, что корни заглочного медиального лимфатического узла берут начало с передней части головы, собирают лимфу от глотки, пищевода и гортани, и поскольку данный лимфатический узел находится близко, то, соответственно, раньше всех сталкивается с антигенами различной природы, а, значит, и развивается быстрее, чем остальные [5]. Клеточный состав ис-

следуемого лимфатического узла более разнообразен в герминативных центрах лимфоидных узелков и мозговой зоне. При этом у самцов и самок количество лимфоцитов во всех изученных зонах заглочного медиального лимфатического узла доминирует над клетками других популяций и варьирует в пределах (85–89) %. Количество иммунобластов в 2 раза превышает число таковых клеток у самок по сравнению с самцами ($P \leq 0,05$). Плазмобласты единичны и встречаются преимущественно у самцов (1 %).

Макрофаги чаще отмечены у самцов, и их достоверно больше в герминативных центрах лимфоидных узелков и мягкотных тяжах по сравнению с самками ($P \leq 0,05$). Ретикулярные клетки зафиксированы во всех зонах заглочного медиального лимфатического узла, однако их достоверно больше у самок (в 1,5 раза) по сравнению с самцами ($P \leq 0,05$). Картины митозов зафиксированы у самцов и самок. Причем больше всего их наблюдается в герминативных центрах лимфоидных узелков самцов (в 2 раза) по сравнению с сам-

Таблица 1.

Клеточный состав заглочного медиального лимфатического узла самцов и самок норок в возрасте 3-х месяцев, %

Клетки	Самцы (X)	Самки (Y)
Герминативный центр лимфоидного узелка		
1. Лимфоциты	85,0±3,1	86,0±2,7
2. Иммунобласты	1,00±0,14 ^y	2,00±0,18 ^x
3. Плазмобласты	1,00±0,14	–
4. Ретикулярные клетки	2,00±0,18 ^y	3,00±0,24 ^x
5. Макрофаги	2,00±0,18 ^y	1,00±0,14 ^x
6. Митозы	4,00±0,32 ^y	2,00±0,18 ^x
7. Плазматические зрелые	2,00±0,18 ^y	1,00±0,14 ^x
8. Плазматические незрелые	3,00±0,24 ^y	4,00±0,32 ^x
Межузелковая зона		
1. Лимфоциты	96,0±2,2	95,0±2,2
2. Иммунобласты	–	1,00±0,14
3. Плазмобласты	1,00±0,14	–
4. Ретикулярные клетки	1,00±0,14 ^y	2,00±0,18 ^x
5. Макрофаги	1,00±0,14	1,00±0,14
6. Плазматические незрелые	1,00±0,14	1,00±0,14
Паракортикальная зона		
1. Лимфоциты	95,0±1,7	97,0±1,5
2. Иммунобласты	1,00±0,14	–
3. Плазмобласты	1,00±0,14	1,00±0,14
4. Ретикулярные клетки	2,00±0,18	2,00±0,18
5. Плазматические зрелые	1,00±0,14	–
Мякотные тяжи		
1. Лимфоциты	89,0±2,8	87,0±3,0
2. Иммунобласты	1,00±0,14 ^y	2,00±0,18 ^x
3. Ретикулярные клетки	2,00±0,18 ^y	3,00±0,24 ^x
4. Макрофаги	2,00±0,18 ^y	1,00±0,14 ^x
5. Митозы	2,00±0,22 ^y	1,00±0,14 ^x
6. Плазматические зрелые	1,00±0,14	1,00±0,14
7. Плазматические незрелые	2,00±0,22 ^y	3,00±0,32 ^x
8. Тучные клетки	1,00±0,14	1,00±0,14

Примечание: ху - различия между группами статистически значимы при $P \leq 0,05$.

ками. Полученные результаты согласуются с имеющимися данными литературы о преимущественном преобладании клеточного состава у самцов, нежели чем у самок [6, 9].

В первичных, вторичных лимфоидных узелках и мозговой зоне так же отчетливо просматриваются незрелые и зрелые плазмациты, наличие которых является одним из важнейших показателей иммуногенеза [3].

Таким образом, такое распределение клеточного состава у самцов и самок позволяет предположить, что процессы иммуногенеза в заглочном медиальном лимфатическом узле у самцов происходят активнее, чем у самок.

Выводы

1. В заглочном медиальном лимфатическом узле у норок в возрасте 3-х месяцев дифференцированы все морфофункциональные зоны в этом возрасте. В корковой зоне отчетливо просматриваются первичные и вторичные лимфоидные узелки.

2. Количественные структурные признаки заглочного медиального лимфатического узла у самцов и самок норок определяются их клеточным составом и полом.

3. Дифференцировка клеток, способных к выработке антител (иммунобласты, незрелые и зрелые плазмациты), происходит преимущественно в герминативных центрах вторичных лимфоидных узелков и в мозговой зоне.

4. Митозы зафиксированы в герминативных центрах вторичных лимфоидных узелков и мякотных тяжах, причем у самцов их количество достоверно больше (в 2 раза), чем у самок. Колебания иммуно- и плазмобластов, ретикулярных клеток у самцов и самок составляют до 3 %.

5. Численное представительство зрелых плазмацитов в герминативных центрах первичных лимфоидных узелков больше, чем

в мозговой зоне, причем только у самцов. У самок отмечено преобладание незрелых плазматических клеток.

Список литературы

1. Абрамов, В. В. Интеграция иммунной и нервной систем [Текст] / В. В. Абрамов // Иммунология. – 1999. – № 3. – С. 62–64.
2. Бородин, Ю. И. Функциональная анатомия лимфатического узла [Текст] / Ю. И. Бородин, М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген, В. Н. Григорьев, В. А. Труфакин, М. Д. Шмерлинг // Новосибирск: Наука. Сиб. от-ние. – 1992. – 257 с.
3. Григоренко, Д. Е. Особенности клеточного состава собственной пластинки слизистой оболочки 12-перстной кишки в подростковом и юношеском возрастах [Текст] / Д. Е. Григоренко // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2003. – № 1-2. – С. 114–117.
4. Кошкина, Н. А. Цитоархитектоника поверхностных лимфатических узлов у самок норок в раннем постнатальном онтогенезе [Текст] / Н. А. Кошкина // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2014. – №4 (24). – С. 42–46.
5. Маталасов, В. П. Сравнительная анатомия и возрастные изменения лимфатической системы норки и песца в постнатальном онтогенезе [Текст] : автореф. ... д. биол. наук / В. П. Маталасов. Омск. – 1997. – 27 с.
6. Панфилов, А. Б. Сравнительная характеристика лимфоидной ткани тонкого отдела у норки и хоря клеточного содержания [Текст] / А. Б. Панфилов // Физиологические основы повышения продуктивности пушных зверей / Матер. 2-го междунар. симпозиума. – Петрозаводск, 1998. – С. 25.
7. Сапин, М. Р. Иммунная система человека [Текст] / М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген // Монография. – М. : Медицина, 1996. – 304 с.
8. Сапин, М. Р. Лимфатическая система и ее роль в иммунных процессах [Текст] / М. Р. Сапин // Морфология. – 2007. – С. 18–21.
9. Сунцова Н.А. Морфология лимфоидной ткани кишечника [Текст] : дис. ... док. биол. наук / Н. А. Сунцова. – М., 2009. – 36 с.
10. Чумаков, В. Ю. Морфофункциональная характеристика капсулы регионарных лимфатических узлов некоторых млекопитающих [Текст] / В. Ю. Чумаков, Е. Ю. Складнева, А. Е. Медкова и [т.д.] // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 8. – С. 82–83.

Подписной индекс журнала
«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»:

Агентство «Росспечать» – 33184

УДК 619:636.2.034:519.146

Ключевые слова: корова, альвеола, железистая ткань, соматические клетки

Key words: cow, alveolus, glandular tissue, somatic cells

Сулейманов С.М.¹, Павленко О.Б.¹, Миронова Л.П.², Паршин П. А.¹

МОРФОЛОГИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ МОЛОКА У ЗДОРОВЫХ КОРОВ В ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ MORPHOLOGY OF MAMMARY GLAND AND MILK CELLULAR COMPOSITION OF HEALTHY COWS IN THE LACTATION PERIOD

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»

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

Voronezh State Agricultural University of a name of the emperor Peter I,

Federal State Budget Institution of Higher Education

Address: 394087, Russia, Voronezh, Michurin str., 1

²ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт»

Адрес: 346493, Россия, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0

The North Caucasian Zone Research Veterinary Institute,

Federal State Budget Scientific Institution

Address: 346493, Russia, Novocherkassk, Rostovskoye highway, 0

Сулейманов Сулейман Мухитдинович, д. в. н., профессор каф. анатомии и хирургии.

E-mail: suleimanov@List.ru. Тел. +7 (473) 255-83-02

Suleymanov Suleyman M., Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Dept. of Anatomy and Surgery.

E-mail: suleimanov@List.ru. Тел. +7 (473) 255-83-02

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

Pavlenko Olga B., PhD in Veterinary Sciences, Associate Professor of the Dept. of Anatomy and Surgery

Миронова Людмила Павловна, д. в. н., профессор, ведущий науч. сотрудник лаборатории паразитологии
Mironova Lyudmila P., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Leading Researcher of Laboratory of Parasitology

Паршин Павел Андреевич, д. в. н., зав. кафедрой ветеринарно-санитарной экспертизы.

Email: doctor.57@mail.ru. Тел. 8 (473) 253-91-82

Parshin Pavel A., Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Dept. of Veterinary and Sanitary Examination.

Email: doctor.57@mail.ru. Тел. 8 (473) 253-91-82

Аннотация. Изучена структурная и ультраструктурная организация молочной железы у клинически здоровых коров в период лактации. Она характеризовалась развитой железистой тканью с неоднородной структурой и находилась на повышенном уровне функциональной активности. Паренхима ее состояла из различных по величине и форме альвеол, заполнялась на 50–70 % молочным секретом. Стенка альвеол преимущественно была выстлана плоскими и кубическими эпителиальными клетками, реже – цилиндрическими. Размеры и формы секреторных клеток находились в прямой зависимости от активности и стадии секреторного цикла, что подтверждают и ультраструктурные исследования молочной железы у коров в период лактации. Содержание соматических клеток в молоке у клинически здоровых коров в период лактации находилось в пределах 182–277 тыс. Соматические клетки в 58 % случаев являлись малыми эпителиальными клетками, а в 38,7 % – из лимфоцитами.

Summary. *The structural and ultrastructural organization of a mammary gland of clinically healthy cows during lactation period was studied. It was characterized by the developed glandular tissue with non-uniform structure and with increased level of functional activity. It's parenchyma was consisted from alveoluses of various size and form, it was filled for 50–70 % with a milk secret. The wall of alveoluses was mainly covered by flat and cubic epithelial cells, is more rare – cylindrical ones. The sizes and forms of secretory cells were in direct dependence on activity and a stage of a secretory cycle that confirm also ultrastructural researches of a cows mammary gland at lactation period. The maintenance of somatic cells into milk of clinically healthy cows during lactation period had limits 182–277 thousand. About 58 % somatic cells were small epithelial cells and 38,7 % ones were lymphocytes.*

Введение

Проблема мастита, особенно его субклиническое течение, продолжает оставаться актуальной. Ее решение может быть осуществлено на основе фундаментальных ис-

следований. Возникновение и развитие патологии в молочной железе у коров полностью согласуется с ее структурной организацией в период активного функционирования. Морфологические изменения в ткани вы-

мени коров имеют сложный характер. Для того, чтобы учитывать особенности ее организации при выполнении лечебных мероприятий, необходимо изучать структурные и ультраструктурные особенности молочной железы у коров в норме.

Материалы и методы

Материалом для исследования гистоархитектоники молочной железы служили гистологические образцы размером (10,0×1,0×1,0) см³, затем иссекались образцы (0,05-1,0) см³ срединной части органа от 3-х здоровых лактирующих коров, убитых на убойных пунктах по производственной необходимости. Взятие материала производилось в течение первого часа после убоя животного. Образцы ткани обрабатывали общепринятыми методами для электронно-микроскопического исследования [5, 6, 7]. После промывки в фосфатном буфере (не менее 15-ти минут) фрагменты ткани дополнительно постфиксировали в 1 %-м растворе OsO₄ на фосфатном буфере в течение 1,5 часов. Далее все образцы ткани обезвоживались в спиртах восходящей концентрации, обрабатывались в ацетоне и были заключены в эпоксидную смолу на основе Эпон-812. Заливка осуществлялась плоскопараллельным методом [8, 9]. Блоки с заключенными в них фрагментами тканей молочной железы далее затачивали на фрезе Leica или обычным лезвием под стереолупой. С полученных блоков изготавливали полутонкие срезы, которые окрашивали толудиновым синим или азуром II (основным фуксином) и изучали в световом микроскопе для прицельной заточки пирамиды перед приготовлением ультратонких срезов. Ультратонкие срезы толщиной 50 нм изготавливали на ультрамикротоме Ultracut-E (Leica, Германия) с использованием алмазного ножа Diamont (Швейцария), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе Jem 1011 (Jeol, Япония).

Результаты исследований

У лактирующих коров железистая ткань вымени представляла систему многократно ветвящихся трубчатых альвеол (рис. 1а), вну-

тридольковых выводных протоков и связывающей их внутридольковой соединительной ткани (рис. 1б).

Структура железистой ткани была неоднородной и состояла из крупных, средних и мелких альвеол, диаметр которых варьировал от 90,20 до 198,80 мкм. Крупные альвеолы плотно примыкали друг к другу (рис. 1а).

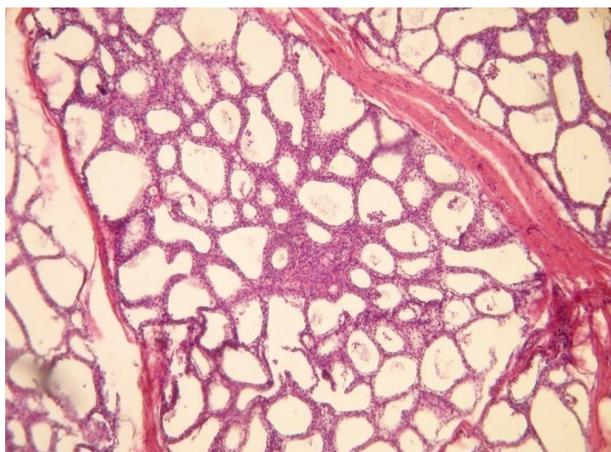
Альвеолы встречались различной формы: овальной и неправильной, просветы которых на 50-70 % были заполнены секретом. Стенка альвеол была выстлана плоским, кубическим и цилиндрическим эпителием. У основания лактоцитов четко определялись миоэпителиальные клетки. Внешний контур молочных альвеол был сформирован базальной мембраной. Высота клеток в среднем составляла (6,20±0,30) мкм, ширина – (8,20±0,30) мкм.

В альвеолах, переполненных секретом, эпителий был плоским. Высота лактоцитов колебалась от 6,0 до 7,10 мкм, ширина - от 7,0 до 8,90 мкм. Клетки плоского эпителия характеризовались наличием овального ядра, расположенного параллельно базальной мембране (рис. 1в).

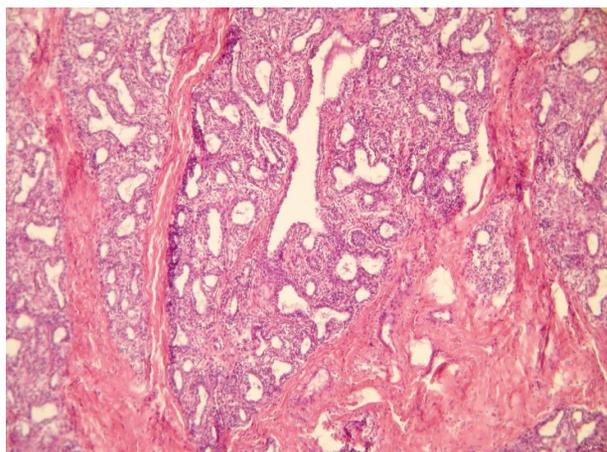
В альвеолах, содержащих незначительное количество секрета, лактоциты преимущественно имели кубическую форму. Они имели одинаковую высоту и ширину в пределах (8,90±0,20) мкм, а ядро – овальную форму (рис 1г).

В альвеолах с расширенными просветами внутренняя выстилка состояла из плоского однорядного железистого эпителия, а миоэпителиоциты не дифференцировались. Просветы альвеол местами были переполнены секретом (вероятно, вследствие нарушения оттока). Строма таких долек была скудной, с очаговыми лимфоидными инфильтратами. Протоки их местами были спавшимися, на других участках — кистозно-расширенными.

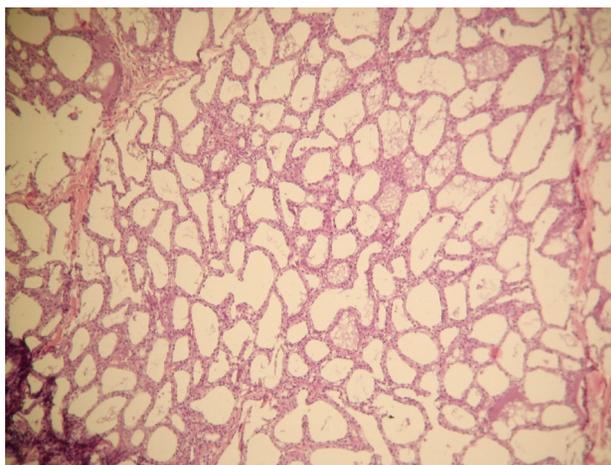
В целом молочная железа у лактирующих коров характеризовалась развитой железистой тканью, а структура долек была неоднородной, т.к. отражала различную степень функциональной активности молочной железы. Размеры и формы секреторных клеток находились в прямой зависимости от активности и стадии секреторного цикла (рис. 1е) [3].



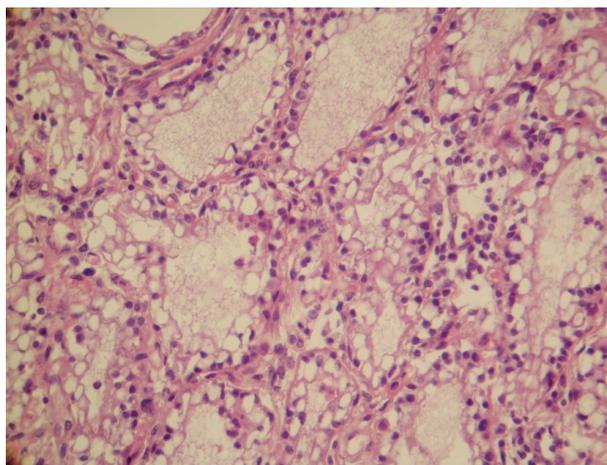
а



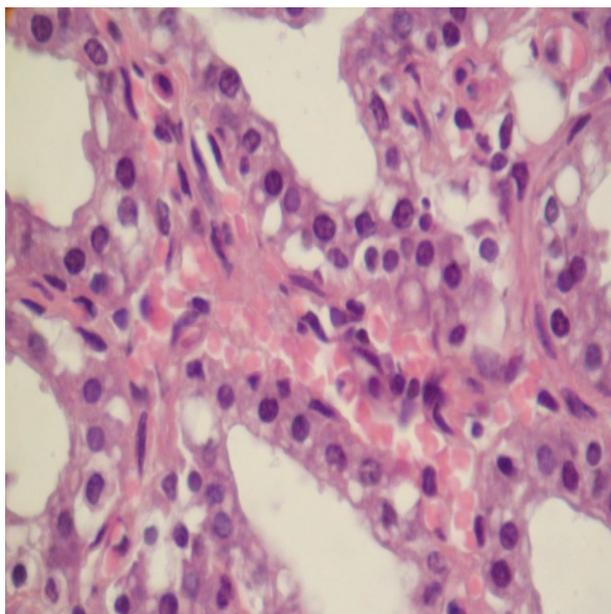
б



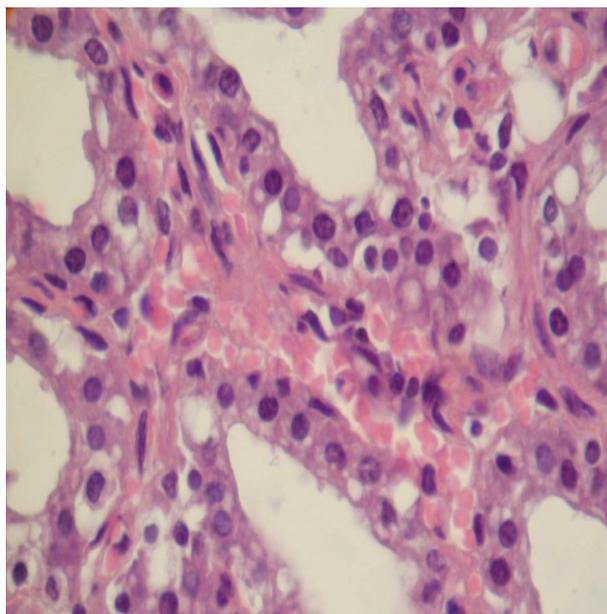
в



г



д



е

Рис. 1. а) Структурная организация молочной железы у лактирующей коровы. Ветвящееся трубчато-альвеолярное строение. Окр. гематоксилин и эозин, ок. х 7, об. х 10. б) Внутридольковый выводной проток, примыкающий к соединительнотканной перегородке четверти вымени. Окр. гематоксилин и эозин, ок. х 7, об. х 10. в) Неоднородная железистая ткань молочной железы, состоящая из крупных, средних и мелких альвеол различной формы. Окр. гематоксилин и эозин, ок. х 7, об. х 10. г) Переполненные молочным секретом альвеолы с кубическими и цилиндрическими лактоцитами. Окр. гематоксилин и эозин, ок. х 7, об. х 20. д) Гиперемия межальвеолярной стенки с миоэпителиальными клетками. Окр. гематоксилин и эозин, ок. х 7, об. х 40. е) Многочисленные альвеолы с секретирующими эпителиями. Полутонкий срез. Окр. Фуксин основной, ув. х 400.

На полутонких срезах были видны концевые отделы долек молочной железы, протоки, выстланные секреторным эпителием (рис. 2).

В ультраструктурной организации молочной железы у коров в период лактации наблюдались как эпителиальные клетки паренхимы, так и клетки стромы в различных функциональных состояниях, что представлено на рисунке 2.

Морфологию клеточного состава секрета молочной железы у здоровых лактирующих коров, количественное содержание соматических клеток в 1,0 мл секрета определяли по методу Прескотта-Брида [2], морфологический состав молока – по методике Сыроева А. А., Рязанского М. П. [4]. Окраску мазков молока проводили по Паппенгейму в модификации Хижняковой К. И.

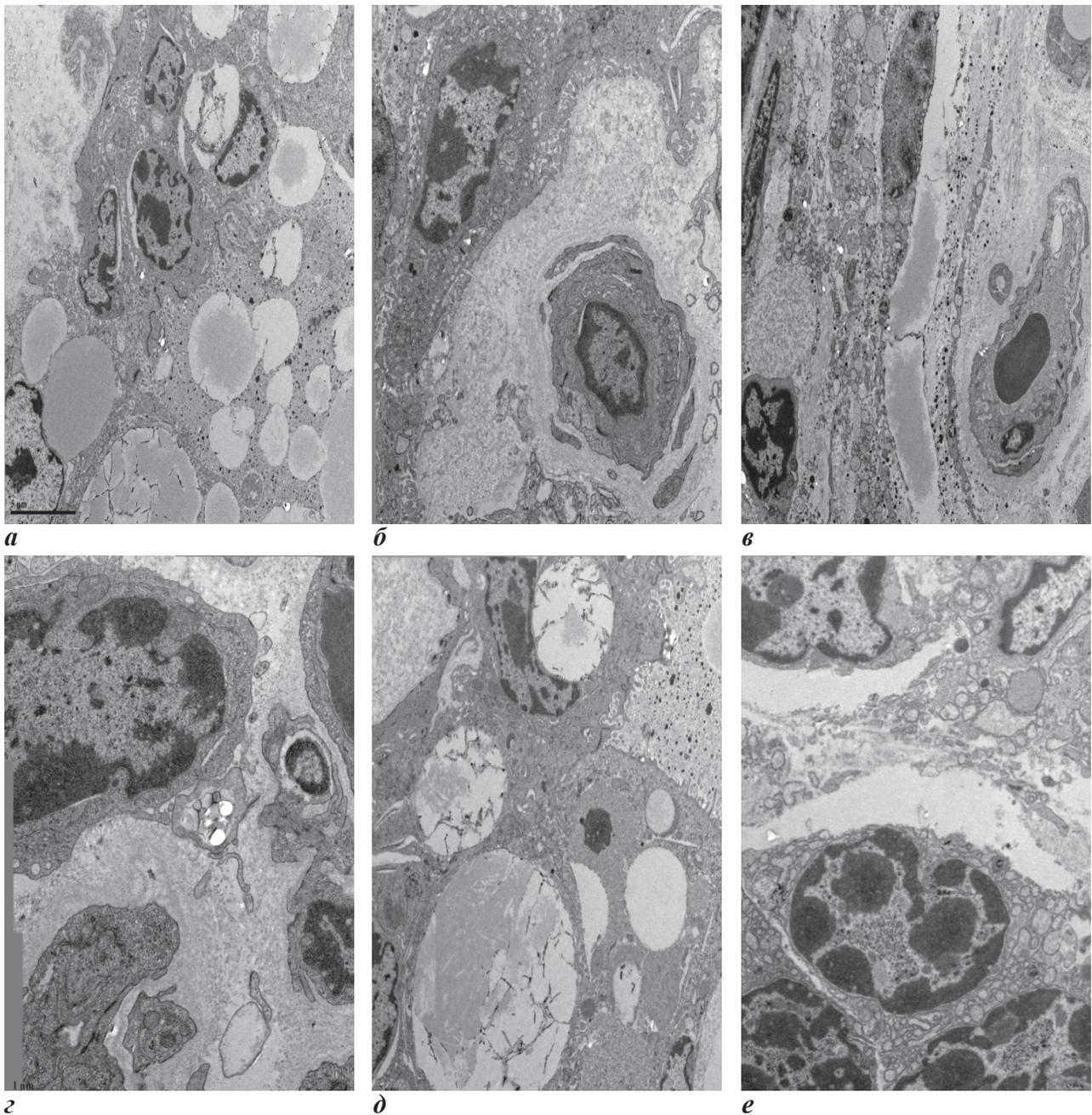


Рис. 2. а) Ультраструктура молочной железы коровы в период лактации. Эпителиальные клетки. Секреторные гранулы. Ув. 10000. б) В центре сосуд с перицитами. Ворсинки эпителиальных клеток слева и вверху. Ув. 20000. в) Сосуд с эритроцитом (справа). Лимфоцит (слева внизу). Ув. 12000. г) Слева вверху моноцит (в цитоплазме визуализируются пиноцитозные микровезикулы). Справа вверху - часть новообразованного сосуда. Ув. 30000. д) Апикальная поверхность эпителиальных клеток с ворсинками, секреторные гранулы. Ув. 15000. е) Плазматические клетки с хорошо развитым ШЕРом (шероховатым эндоплазматическим ретикулумом). Ув. 20000.

В секрете молочной железы, полученном от здоровых коров, содержание соматических клеток в 1,0 мл варьировало от 182 тыс. до 277 тыс., при этом преобладали малые эпителиальные клетки (58,0 %) и лимфоциты (38,7 %). Фагоциты отсутствовали. Результаты подсчета соматических клеток в секрете вымени и их видовой состав у здоровых коров приведены ниже (табл. 1).

За период наблюдения произошло снижение содержания средних эпителиальных клеток и повышение нейтрофилов с 22,5 до 42,0 %. Повысилось ($P < 0,05$) относительное содержание разных клеток. На протяжении опыта содержание лимфоцитов в секрете долей вымени оставалось на одном уровне. Эти изменения были недостоверны.

Заключение

При изучении гистоструктуры молочной железы у лактирующих здоровых коров мы установили, что она характеризуется развитой железистой тканью, структура долек была неоднородна, т.к. отражает различную степень функциональной активности молочной железы. Размеры и формы секреторных клеток находились в прямой зависимости от активности и стадии секреторного цикла. Альвеолы были различной формы: овальной и неправильной, просветы альвеол которых на 50-70 % были заполнены секретом. Стенка альвеол выстлана плоским,

кубическим и цилиндрическим эпителием. У основания лактоцитов четко определялись миоэпителиальные клетки. Высота клеток в среднем составляла $6,20 \pm 0,30$ мкм, ширина – $8,20 \pm 0,30$ мкм. В альвеолах, переполненных секретом, эпителий был плоским. Высота лактоцитов колебалась от 6,0 до 7,10 мкм, ширина – от 7,0 до 8,90 мкм. В альвеолах, содержащих незначительное количество секрета, лактоциты преимущественно были кубической формы. Они имели одинаковую высоту и ширину в пределах $8,90 \pm 0,20$ мкм, а ядро – овальную форму. В ультраструктурной организации клетки имели хорошо выраженные контакты – десмосомы. В них преобладали секреторные гранулы и гранулярная эндоплазматическая сеть, а на апикальной поверхности – многочисленные короткие ворсинки. Продолговатые ядра примыкали к базальной мембране клеток и содержали умеренное количество гетерохроматина на периферии кариолеммы. Содержание соматических клеток в молоке у клинически здоровых коров в период лактации находилось в пределах 182–277 тыс. Соматические клетки в 58,0 % случаев являлись малыми эпителиальными клетками, а в 38,7 % – лимфоцитами.

Список литературы

1. Архангельская, Т. Н. Сравнительное строение разных четвертей молочной железы коров [Текст] / Т. Н. Архангельская, А. П. Береснева // Анато-

Таблица 1.

Количество и видовой состав соматических клеток молока у здоровых лактирующих коров (в млн)

№ п/п	Клеточный состав	Количество клеток в 1,0 мл молока (млн)				
		здоровые доли вымени				
		1-й день	3-й день	5-й день	7-й день	10-й день
1	Кол-во клеток	0,277±0,138	0,212±0,039	0,217±0,117	0,238±0,069	0,182±0,003
2	Малые э. кл.	0,16±0,095	0,043±0,013	0,095±0,056	0,065±0,021	0,034±0,013
3	Средние э. кл.	0,03±0,021	0,008±0,001	0,013±0,002	0,008±0,004	0,008±0,001
4	Большие э. кл.	–	–	–	–	–
5	Нейтрофилы	0,017±0,002	0,047±0,03	0,082±0,069	0,060±0,04	0,043±0,017
6	Лимфоциты	0,108±0,099	0,79±0,021	0,86±0,008	0,106±0,017	0,113±0,002
7	Моноциты	0,004	–	–	–	–
8	Разные	0,030±0,026	0,013±0,004	0,021±0,013	0,008±0,002	0,013±0,004
9	Фагоциты	–	0,008	0,004	0,004	–

мия молочной железы с.-х. животных в состоянии нормы и при патологии. – Свердловск, 1985. – С. 33–37.

2. Ивашура, А. И. Система мероприятий по борьбе с маститами коров : монография [Текст] / А. И. Ивашура. - Москва : Росагропромиздат, 1991. – 240 с.

3. Павленко, О. Б. Структурная организация молочной железы у лактирующих коров [Текст] / О. Б. Павленко // Ветеринарная патология. – 2012. – Т. 40. – № 2. – С. 15–17.

4. Сысоев, А. А. Физиологические особенности воспроизводительной функции коров [Текст] / А. А. Сысоев, М. П. Рязанский. – М. : Колос, 1971. – 350 с.

5. Bozzola, J. J., Russell L. D. Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists [Текст] / J. J. Bozzola, L. D. Russel. - Boston : Jones and Bartlett Publishers, 1992.

6. Dabbs, D. Diagnostic Immunohistochemistry (2nd edit.) [Текст] / D. Dabbs. Philadelphia, – Churchill Livingstone, Elsevier, 2006.

7. Genoud, Ch., Knott, G. W., Sakata, K., Lu, B., Welker, E.. Altered synapse formation in the adult somatosensory cortex of Brain-Derived Neurotrophic Factor heterozygote mice [Текст] / Ch.Genoud, G. W. Knott, K. Sakata, B. Lu, E. Welker // J. Neurosci., 2004. – № 24. – 10. – P. 2394–2400.

8. Potts, M. A. Method for location specific histological features for electron microscopy [Текст] /J. Roy //Micr. Soc., 1965. - № 85. – 1. – P. 97–102.

9. Robinson, G., Gray, T. Electron microscopy 2: Tissue preparation, sectioning and staining in: Theory and practice of histological techniques. (eds. Bancroft JD, Stevens A.) [Текст] / G. Robinson, T. Gray // Churchill livingstone, New York. – 1990. – P. 525–562.

АППАРАТ ДЛЯ ИМПУЛЬСНОЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ТЕРАПИИ «УМИ-05»

На протяжении многих лет клиника БНПЦ ЧИН и Институт Ветеринарной Биологии (Санкт-Петербург) используют 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 27000 рублей

Заказать УМИ - 05 можно по тел./факсу: (812) 927-55-92 доб 208; (812) 612-13-34 доб. 208 или по e-mail: ivb-info@mail.ru. подробности на сайте: www.invetbio.spb.ru



УДК 619:616.12-073:636.8

Ключевые слова: вирусная инфекция, миокардит, кардиомиопатия, эхокардиография

Key words: viral infection, myocarditis, cardiomyopathy, echocardiography

Плисюк В.Н.

ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР КАРДИОМИОПАТИЙ У ДОМАШНЕЙ КОШКИ: КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *VIRAL INFECTIONS AS ETIOLOGICAL FACTOR OF DOMESTIC CAT'S CARDIOMYOPATHIES: THE CLINICAL STUDY*

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины

Адрес: 03041, Украина, г. Киев, ул. Героев Оборона, д. 15

National University of Bioresources and Nature Management of Ukraine

Address: 03041, Ukraine, Kiev, Geroyev Oborony str., 15

Плисюк Виталий Николаевич, аспирант. E-mail: 2976583@gmail.com

Plisyuk Vitaliy N., Post-Graduate Student. E-mail: 2976583@gmail.com

Аннотация. Влияние вирусных инфекций на развитие сердечно-сосудистой патологии имеет важное клиническое значение. Так, энтеровирусные инфекции являются одной из главных причин развития дилатационной кардиомиопатии у человека. Сама кардиомиопатия в таких случаях считается результатом течения вирусного миокардита. Целью работы было исследовать эхокардиографические изменения сердца у кошки домашней на фоне коронавирусной и парвовирусной инфекций.

Результаты проведенных нами исследований дают возможность утверждать, что одной из возможных причин развития кардиомиопатий у домашней кошки - это развитие миокардитов. Одним из этиологических факторов, способных вызвать миокардит у кошек, можно считать наличие коронавирусной инфекции и вирусной панлейкопении. В случаях, когда у кошек подтверждается миокардит вирусной этиологии, кардиомиопатию, которая при этом развивается, можно считать вторичной. Для более точной классификации формы кардиомиопатии больным кошкам целесообразно проводить эхокардиографию два и более раза с интервалами не более 6-ти месяцев.

Summary. *The impact of viral infection at the development of cardiovascular disease has important clinical significance. Enterovirus infections are the main reason of human's dilatational cardiomyopathy. Cardiomyopathy is considered as result of viral myocarditis in such cases.*

The aim of this study was to investigate the heart's echocardiographic changes at the background of domestic cat's coronavirus and parvovirus infections.

The results of our studies allowed that one of possible reasons of domestic cat's cardiomyopathy is development of myocarditis. The presence of coronavirus infection and viral panleukopenia can be considered as one of etiologic factor that cause domestic cat's cardiomyopathy.

The cardiomyopathy can be considered as secondary in a cases where cat's myocarditis of viral etiology was confirmed. The echocardiography of sick cats is advisable to effect twice and more times with an interval of no more than 6 months for more accurate classification of cardiomyopathy.

Введение

Частота проявления инфекционных процессов сердечно-сосудистой системы значительно ниже, чем, например, инфекций желудочно-кишечного тракта. Влияние вирусных инфекций на сердечную-сосудистую систему также не является исключением. Такие вирусные инфекции, как инфекционный перитонит кошек, герпесвирусная и парвовирусная инфекции, могут иметь важное клиническое значение в развитии сердечно-сосудистой патологии [1]. У человека развитие дилатационной формы кардиомиопатии свя-

зывают нередко с действием энтеровирусов. Наличие кардиомиопатии в таких случаях рассматривают как результат перенесенного вирусного миокардита [2, 3].

Согласно классификации кардиомиопатий ВОЗ (1996), инфекционные кардиомиопатии, в том числе вирусной этиологии, относятся к специфическим кардиомиопатиям [4, 5]. В 1997 г. Комитетом экспертов ВОЗ был предложен термин «воспалительная кардиомиопатия» (ВКМП). К «воспалительной кардиомиопатии» относят те болезни сердца, которые носят воспали-

тельный характер. Ряд проведенных исследований на животных показал наличие инфильтратов воспалительного характера и вирусных РНК в эндомикардиальных биоптатах больных кардиомиопатиями животных [5].

Целью работы было изучение эхокардиографических изменений сердца у кошек на фоне и коронавирусной, и парвовирусной инфекций.

Материалы и методы

Для исследования эхокардиографических изменений сердца у кошек, больных коронавирусной и парвовирусной инфекциями, применяли метод ультразвукового исследования сердца. Ультразвуковое исследование сердца (эхокардиография) проводилось на ультразвуковых системах «MyLabClass C» фирмы « Esaote» и «ImagicAgile» фирмы «KontronMedical» с использованием секторных (фазированных) мультимасточных датчиков. Для подтверждения диагноза «коронавирусная и парвовирусная инфекции» использовали методы иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) по общепринятым методикам.

Результаты исследований и обсуждение

В работе использованы данные исследований двух кошек породы шотландская вислухая, одного кота породы мейн-кун и четырех кошек породы домашняя короткошерстная. Возраст исследуемых кошек – от 8-ми месяцев до 7-ми лет.

У пяти кошек опытной группы методом иммуноферментного анализа сыворотки крови нами выявлено наличие антител к вирусу панлейкопении в высоком титре ($IgGFPLV = 1:160-1:640$). У двух кошек наличие антител к коронавирусной инфекции выявлено в низком титре ($IgGFcoV = 1:10-1:20$). Присутствие в сыворотке крови кошек антител к вирусам панлейкопении и коронавирусной инфекции свидетельствует о том, что в прошлом данные животные имели контакт с возбудителями и, возможно, перенесли эти инфекции в бессимптомной форме.

Наличие возбудителя коронавирусной инфекции у одного кота из исследованной группы было подтверждено положительным результатом ПЦР. Данный кот имел острое течение болезни [6], у других животных клинических проявлений болезни не наблюдалось.

Владельцы, чьи кошки не имели симптомов заболеваний, обращались в клинику ветеринарной медицины для предоперационного обследования.

Панлейкопения и коронавирусная инфекция кошек могут иметь субклиническое течение, при котором заболевание может клинически не проявляться. С течением времени данные инфекции могут приводить к тяжелым негативным последствиям, одним из которых является миокардит [7].

Всем обследованным животным было проведено ультразвуковое исследование сердца. У трех кошек при первом эхокардиографическом исследовании нами была диагностирована гипертрофическая кардиомиопатия (рис. 1), а при повторном эхокардиографическом исследовании сердца – дилатационная кардиомиопатия (рис. 2). Такое проявление патологии сердца во времени является промежуточной формой кардиомиопатии [6,8].

Признаки стеноза (обструкции) выносящего тракта левого желудочка имели четверо животных (рис. 3). У двух котов зарегистрировано наличие небольшого количества свободной жидкости в перикарде, объемом до 45 мл. Возможно, что наличие свободной

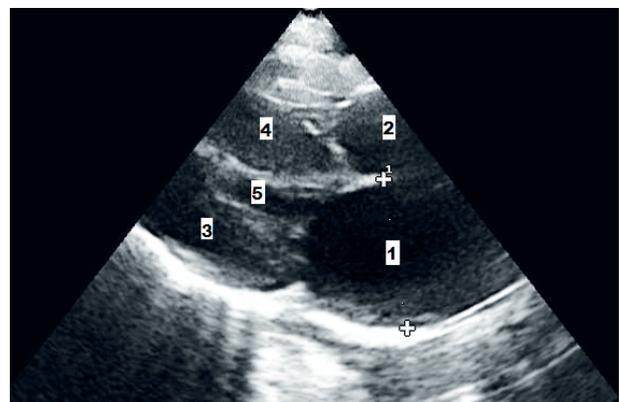


Рис. 1. Лимфоцит из лимфоидного узелка заглоточного медиального лимфатического узла самца норки в возрасте 3-х мес: я – ядро; ядр – ядрышко; ц – цитоплазма; м – митохондрии; р – рибосомы. Ув. x 10000 p

жидкости в перикарде может быть следствием вирусного плевроперикардита.

С помощью метода эхокардиографии очень трудно или почти невозможно подтвердить наличие острой стадии миокардита у больного животного. Миокард является хорошо васкуляризированной тканью, и у клинически здоровых животных, и у животных с острой стадией миокардита, поэтому эхогенность сердечной мышцы не изменяется и имеет вид выражено анэхогенной структуры (рис. 1). Только с развитием фиброзных изменений, которые являются результатом неполного завершения процесса воспаления в тканях [9], при проведении эхокардиографии отмечается повышение эхогенности миокарда стенки левого желудочка и/или межжелудочковой перегородки. Кроме того, может отмечаться наличие фиброзных очагов в виде гиперэхогенных пятен в миокарде больных животных (рис. 3) [10].

Подтверждением роли инфекционного миокардита является гистологическое исследование сердечной мышцы погибших кошек с диагнозом «кардиомиопатия» (рис. 4).

Проведение таких гистологических исследований возможно лишь после гибели животного, и они неприемлемы в ветеринарной медицине мелких домашних животных, ведь подтверждение диагноза должно быть прижизненным.

Выводы

1. Одной из возможных причин развития кардиомиопатии у кошек является миокардит.

2. Одним из возможных этиологических факторов, который способен вызвать миокардит у кошек, можно считать коронавирусную инфекцию и панлейкопению.

3. В случаях, когда у кошки подтвержден миокардит вирусной этиологии, кардиомиопатию, которая при этом развивается, можно считать вторичной.

4. Для более точной классификации формы кардиомиопатии больным кошкам целесообразно проводить эхокардиографию два и более раз с интервалами не более 6-ти месяцев.

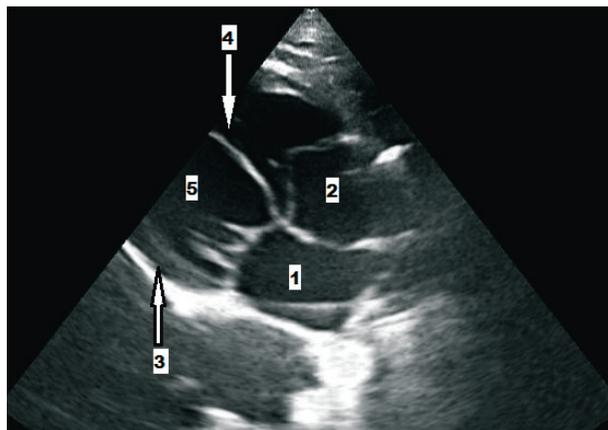


Рис. 2. Ультрасонограмма сердца кошки породы домашняя короткошерстная в возрасте 1-го года (через 5 месяцев после первого исследования). В-режим. Правая парастернальная позиция по длинной оси. Визуализируется: камера левого предсердия, расширенная до 18,0 мм (1) и правого предсердия до 16,7 мм (2), уже истончена свободная стенка левого желудочка – 4,1 мм (3) и межжелудочковая перегородка - 3,8 мм (4), расширена до 19,7 мм полость левого желудочка (5).

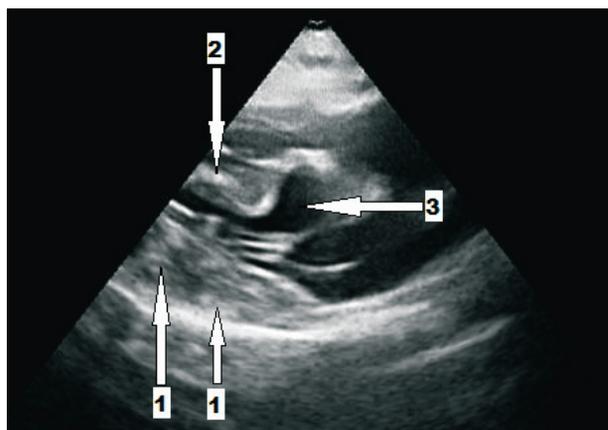


Рис. 3. Ультрасонограмма сердца кошки породы шотландская вислоухая в возрасте 4-х лет. В-режим. Правая парастернальная позиция по длинной оси. Визуализируется: наличие гиперэхогенных пятен в миокарде свободной стенки левого желудочка (1) и миокарде межжелудочковой перегородки (2), стеноз (обструкция) выводного тракта левого желудочка (3).

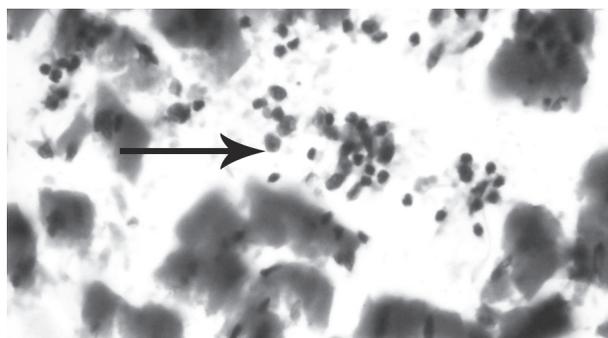


Рис. 4. Микрофотография гистологического среза миокарда кошки породы шотландская вислоухая. В межклеточном пространстве отмечена лимфогистиоцитарная инфильтрация (показана стрелкой). Окр. Гематоксилин и эозин, об. x 40, ок. x 10.

Список литературы

1. Адо, А. Д. Патологическая физиология [Текст] / Под ред. А. Д. Адо, М. А. Адо, В. И. Пыцкого, Г. В. Порядина, Ю. А. Владимирова. – М.: «Триада-Х», 2000. – 574 с.
2. Амосова, Е. Н. Кардиомиопатии [Текст] / Е. Н. Амосова. – К.: «Книга плюс», 1999. – 213 с.
3. Вингфилд, В. Е. Секреты неотложной ветеринарной помощи [Текст] / В. Е. Вингфилд. – М.; СПб.: «Издательство БИНОМ»; «Невский Диалект», 2000. – 608 с.
4. Ивкина, С. С., Бубневич, Т. Е., Кравчук, Ж. П., Румянцева, О. А. Кардиомиопатии у детей (Обзор литературы) [Текст] / С. С. Ивкина, Т. Е. Бубневич, Ж. П. Кравчук, О. А. Румянцева // Проблемы здоровья и экологии. – 2012. – № 3. – С. 22–28.
5. Плисюк, В. Н., Цвиліховський, Н. І. Диагностика рестриктивной кардиомиопатии у кошек (клиническое исследование) [Текст] / В. Н. Плисюк, Н. І. Цвиліховський // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2015. – № 4 (28). – С. 60–65.
6. Плисюк, В. М., Цвиліховський, М. І. Класифікація та етіологія кардіоміопатій у свійського kota: клінічний випадок проміжної форми кардіоміопатії [Текст] / В. М. Плисюк, М. І. Цвиліховський // Біологія тварин. – 2016. – Т. 18. – № 2. – С. 80–87.
7. Самуйленко, А. Я. Инфекционная патология животных: в 2 томах [Текст] / Под ред. А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьева, Е. А. Непоклонова, Е. С. Воронина. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – Т. 1. – 911 с.
8. Сторожаков, Г. И. Кардиомиопатии: эволюция взглядов на проблему [Текст] / Г. И. Сторожаков // Лечебное дело. – 2009. – № 1. – С. 3–12.
9. Рэмси, Я., Теннант, Б. Инфекционные болезни собак и кошек [Текст] / Я. Рэмси, Б. Теннант. – М.: «Аквариум Принт», 2005. – 304 с.
10. Maron, B. J., Towbin, J. A., Thiene, G., Antzelevitch, C., Corrado, D., Arnett, D., Moss, A. J., Seidman, C. E., Young, J. B. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies [Текст] / B. J. Maron, J. A. Towbin, G. Thiene, C. Antzelevitch, D. Corrado, D. Arnett, A. J. Moss, C. E. Seidman, J. B. Young // Circulation. – 2006. – Vol. 113, Issue 14. – P. 1807–1816.

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. Цветовое доплеровское картирование. Пунктирование. Кинопетля. Помощь. Персональные настройки. Все виды измерений. Вычисления. Заключение. Распечатка эхограмм. Архив. Ветеринарные расчеты и пиктограммы



Организованы курсы ветеринарные УЗИ



5,9 кг

Сканеры в настольной комплектации с возможностями стационарных. Легкие, компактные с автономным питанием. Кейс для переноски.



Датчики мультимодальные высокой плотности. Рабочие частоты от 2,5 до 10 МГц. Конвексные, линейные, полостные с



3,7 кг

Сканеры в мобильной комплектации. Брызгозащитное исполнение. Сенсорный экран. Ручка для переноски. Наплечный ремень.

**НПП
“РАТЕКС”**

Производство сканеров УЗИ с 1991 года

199178, С.-Петербург, ул. Донская, д. 19, пом.1Н
Тел./факс: (812)321-89-74, 321-57-71, (931)966-58-32
E-mail: rateks@rateks.com <http://rateks.com>

УДК 597.612.115.2: 57.089

Ключевые слова: рыбы, кровь, свертывание, коагулометр, плазменно-коагуляционный гемостаз

Key words: fish, blood, coagulation, coagulometer, plasma coagulation hemostasis

Фомина Л.Л., Кулакова Т.С., Березина Д.И.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЕННО-КОАГУЛЯЦИОННОГО ЗВЕНА СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА РЫБ КЛОТТИНГОВЫМИ МЕТОДАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОАГУЛОМЕТРА

DETERMINATION OF PLASMA-COAGULATION UNIT ACTIVITY OF FISH HEMOSTASIS SYSTEM BY CLOTTING METHODS USING THE COAGULOMETER

ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочно-хозяйственная академия имени Н. В. Верещагина»

Адрес: 160555, Россия, Вологда-Молочное, ул. Шмидта, д. 2

Vologda State Dairy Farming Academy named after N. V. Vereshchagin, Federal State Budget Institution of Higher Education

Address: 160555, Russia, Vologda-Molochnoe, Shmidt str., 2

Фомина Любовь Леонидовна, к. б. н., доцент каф. внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства.

E-mail: fomina-luba@mail.ru. Тел. +7-921-122-17-63

Fomina Lyubov' L., PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Dept. of Internal Non-communicable Diseases, Surgery and Obstetrics. E-mail: fomina-luba@mail.ru. Tel. +7-921-122-17-63

Кулакова Татьяна Сергеевна, к.с. -х. н., доцент каф. зоотехнии и биологии.

E-mail: dofas@yandex.ru. Тел. +7-911-510-40-75

Kulakova Tatyana S., PhD in Agricultural Sciences, Associate Professor of the Dept. of Zootechnics and Biology.

E-mail: dofas@yandex.ru. Tel. +7-911-510-40-75

Березина Дарья Игоревна, студентка факультета ветеринарной медицины и биотехнологий.

E-mail: reservoirdog.purple@yandex.ru. Тел. +7-981-421-10-22

Berezina Darya I., Student of Faculty of Veterinary Medicine and Biotechnology.

E-mail: reservoirdog.purple@ya.ru. Tel. +7-981-421-10-22

Аннотация. В работе приведены результаты измерения некоторых показателей плазменно-коагуляционного звена системы гемостаза рыб разных видов клоттинговыми методами с использованием коагулометра. Установлено, что у представителей костных рыб (*Cyprinus carpio*) активность внутреннего пути свертывания крови выше, чем у такого представителя костно-хрящевых рыб, как осетр (*Acipenser baerii*) – активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) составило (12,62±1,16) сек и (148,06±54,75) сек соответственно. В то же время, у последних быстрее происходит превращение фибриногена в фибрин – тромбиновое время (ТВ) составило (14,53±2,30) сек против (142,13±31,50) сек у карпов. При оценке содержания фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови рыб мы получили высокие, по сравнению с человеком и собаками, значения – (13±6,27) мг/100 мл у осетров, (13±3,14) мг/100 мл у карпов и (8,68±1,77) мг/100 мл у гибридов стерляди и севрюги.

Summary. The results of some parameter measurement of plasma-coagulation unit of hemostatic system of different fish species by clotting methods with using a coagulometer are presented. It was found that blood coagulation internal way activity at representatives of one fishes (*Cyprinus carpio*) is higher than at such representatives of bone-cartilaginous fish as sturgeon (*Acipenser baerii*) - activated partial thromboplastin time (APTT) was (12.62 ± 1.16) sec and (148.06 ± 54.75) sec respectively. At the same time the conversion of fibrinogen to fibrin of latterones is faster - thrombin time (TT) is (14.53 ± 2.30) sec versus (142.13 ± 31.50) sec in carp. When assessing the content of fibrin-monomer complexes (SFMC) in fish blood plasma, we obtained high values, in comparison with humans and dogs, (13 ± 6.27 mg) / 100 ml in sturgeons, (13 ± 3.14) mg / 100 ml in Carp and (8.68 ± 1.77) mg / 100 ml in sterlet and stellate sturgeon hybrids.

Введение

В настоящее время происходит эффективное развитие рыбного хозяйства, которое предусматривает получение высококачественной, экологически безопасной рыбной продукции.

Известно, что рыбы как в естественных, так и в искусственных условиях выращивания подвергаются множественному воз-

действию различных по природе и происхождению стресс-факторов, а усиление свертываемости крови у всех позвоночных отражает защитную реакцию организма на любое экстремальное взаимодействие, главным образом, на стресс.

Подробное изучение механизмов свертывания, а также определение нормированных

параметров гемостатической системы промысловых рыб позволит оценить физиологический статус животного, уровень его адаптации, влияние на его здоровье заводских условий выращивания. Полученные данные дадут начало изучению различных особенностей, а также патологий гемостаза, приводящих к гибели этих гидробионтов: изменение времени свертывания может быть показателем проблем коагуляции, которые могут быть вызваны дефицитом витаминов, сосудистыми аномалиями, повреждениями печени или другими факторами [10, 14].

Некоторые исследования, проведенные на костистых рыбах, указывают на то, что процесс коагуляции крови рыб принципиально схож с другими позвоночными, такими как млекопитающие, но в то же время многие факторы, относящиеся к системе свертывания крови у млекопитающих, до сих пор неизвестны у рыб [3, 7, 8].

В связи с тем, что рыбы являются пойкилотермными животными, методы оценки гемостаза, принятые в ветеринарной и гуманной медицине, могут не подходить для оценки гемостаза рыб, но поскольку гемостазиологические оценки постепенно становятся важными для диагностики здоровья рыб, адаптированная и стандартизированная методология анализа свертывания крови рыбы важна и срочно необходима [13].

Поэтому цель нашего исследования - определение и оценка показателей плазменно-коагуляционного звена гемостаза рыб разных видов клоттинговыми методами при помощи коагулометра.

Материалы и методы

Исследования проводили на карпах (*Cyprinus carpio Linnaeus*, 1758), осетрах (*Acipenser baerii Brandt*, 1869) и гибридах стерляди и севрюги (*Acipenser ruthenus/stellatus*). Рыба выращена в промышленных условиях в рыбноводческом хозяйстве ООО РТФ «Диана» Кадуйского района Вологодской области. Забор крови проводился шприцем из хвостового гемального канала в пластиковые пробирки, содержащие в качестве стабилизатора 3,8 %-й раствор цитрата натрия в соотношении 1:9. Все исследования крови проводили в первые

два часа после ее забора. Показатели плазменного гемостаза исследовались в бедной тромбоцитами плазме, для получения которой кровь рыб центрифугировали на лабораторной центрифуге со скоростью 3000 оборотов в минуту в течение 20 минут.

Параметры плазменно-коагуляционного гемостаза определяли на коагулометре «Thrombostat» производства Behnk Elektronik (Германия). Для оценки состояния плазменно-коагуляционного гемостаза определяли следующие показатели: АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время), ПВ (протромбиновое время), ТВ (тромбиновое время) с использованием человеческого тромбина, количественный анализ фибриногена. Фибринолитическую активность в плазме измеряли с помощью обнаружения растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в о-фенантролиновой пробе (планшетный вариант).

Полученные в ходе исследования результаты обрабатывались с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и STATISTICA 6.0. Значения результатов, полученных в работе, представлены в виде средней величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$). Достоверность различий показателей коагулограммы карпов, осетров и гибридов оценивали с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок.

Результаты исследований и обсуждение

Первую фазу свертывания крови (образование протромбиназы) характеризует активированное частичное тромбопластиновое время – тест, выявляющий исключительно плазменные дефекты активации X-фактора у млекопитающих. АЧТВ характеризует внутренний путь – протромбиназообразование и представляет собой многоступенчатый процесс, в результате которого в крови накапливается комплекс факторов, способных превратить протромбин в тромбин [4]. Для определения АЧТВ прогревали раствор кальция хлористого до + 37 °С и в течение всего анализа сохраняли при этой температуре. В пластиковую пробирку на 0,1 мл с исследуемой плазмой рыб вносили 0,1 мл раствора АЧТВ-реагента (АЧТВ-тест), тщательно перемешивали и прогревали её при + 37 °С в

течение 3-х минут. В кювету добавляли 0,1 мл рабочего раствора кальция хлорида, отмечали время образования сгустка [2].

По результатам нашего исследования, АЧТВ и некоторые другие показатели коагулограммы достоверно отличались у всех представленных видов костных рыб и хрящевых ганоидов (табл. 1).

На активность внешнего пути свертывания указывают показатели протромбинового времени. Протромбиновое время характеризует первую (образование протромбиназы) и вторую (образование тромбина) фазы свертывания крови и отражает активность протромбинового комплекса (факторов VII, V, X и собственно протромбина – фактора II). Для определения данного показателя прогревали реактив (ренам-пластин) до + 37 °С в течение 30-ти мин. Прогревали пробирку при температуре + 37 °С и вносили в нее 0,1 мл исследуемой цитратной плазмы. Прогревали 1 мин при температуре + 37° С. Вносили 0,2 мл раствора реагента, прогретого при температуре + 37 °С. Отмечали время образования сгустка фибрина [2].

При оценке внешнего пути свертывания крови (ПВ), имеющего преобладающее значение для рыб [6, 12], можно отметить, что костные рыбы (*Cyprinus carpio*) обладают достоверно более быстрым образованием сгустка при добавлении тканевого фактора, чем такие костнохрящевые, как *Acipenser baerii*, однако показатели костно-хрящевого гибрида (*Acipenser ruthenus/stellatus*) достоверно не отличались от костных рыб (*Cyprinus carpio*).

В то же время, данный показатель у рыб намного превышал нормативные значения

для человека (14-18 сек), собаки (6-11 сек), коровы (20-24 сек) и других млекопитающих. Это можно объяснить тем, что активация внешнего пути свертывания у рыб происходит с помощью слизи кожи, которая является богатым источником протромбокиназы [3].

Третью фазу свертывания крови (образование фибрина) оценивали с помощью показателей фибриногена и тромбинового времени.

Фибриноген (фактор I) – белок, синтезирующийся в основном в печени. В крови он находится в растворенном состоянии, но в результате ферментативного процесса под воздействием тромбина и фактора XIIIа может превращаться в нерастворимый фибрин. Для оценки количества фибриногена в крови рыб исследуемую плазму крови разводили буферным раствором (1:9). Прогревали пробирки до + 37 °С, вносили 0,2 мл анализируемой плазмы пациента, разведенной в 10 раз буферным раствором. Инкубировали кюветы с раствором при температуре + 37 °С точно 2 мин. Вносили 0,1 мл раствора тромбина (Фибриноген-тест), имеющего комнатную температуру. Отмечали время образования сгустка. По калибровочному графику определяли содержание фибриногена в исследуемых пробах [2].

Этот важный функциональный показатель системы плазменного гемостаза, обеспечивающий образование сгустка, – количество содержания фибриногена в плазме крови, также не имел достоверных отличий у всех исследованных животных. Это говорит о том, что функционирование ведущего фактора гемокоагуляции у этих позвоночных, предположительно произошедших от одного общего предка [11], остается

Таблица 1.
Параметры плазменно-коагуляционного гемостаза у костных (*Cyprinus carpio*) и костно-хрящевых рыб (*Acipenser baerii*, *Acipenser ruthenus/stellatus*)

Показатель	<i>Acipenser baerii</i> n=9	<i>Cyprinus carpio</i> n=16	<i>Acipenser ruthenus/ stellatus</i> n=6
ТВ (сек)	14,53±2,30	142,13±31,50*/*	28,85±5,39
ПВ (сек)	251,05±30,65	161,7±23,48*	201,13±55,49
АЧТВ (сек)	148,06±54,75	12,62±1,16*/*	8,4±1,08
Фибриноген (г/л)	2,9±0,50	4,8±0,71	4,38±0,84
РФМК (мг/100 мл)	13±6,27	13±3,14	8,68±1,77

Примечание: * – различия с *Acipenser baerii* достоверны ($p \leq 0,05$); /* – различия с *Acipenser ruthenus/stellatus* достоверны ($p \leq 0,05$).

на постоянном уровне и, вероятно, подвергается воздействию стабилизирующего отбора.

Тромбиновое время (ТВ) – скрининг-тест последней стадии свертывания крови, отражающий скорость превращения фибриногена в фибрин. Для оценки скорости общего пути свертывания (ТВ) прогревали пробирки до + 37 °С, вносили 0,2 мл анализируемой плазмы. Прогревали в течение 2-х мин при температуре + 37 °С. Вносили в ту же пробирку 0,2 мл рабочего раствора тромбина (Тромбин-тест), имеющего комнатную температуру +(18-25) °С. Отмечали время образования сгустка [2].

Анализируя полученные нами характеристики плазменно-коагуляционного звена свертывающей системы костных рыб и сравнивая их с соответствующими у костно-хрящевых, можно сказать, что скорость образования фибринового сгустка (ТВ) у костных рыб (*Cyprinus carpio*) достоверно меньше, чем у костно-хрящевых (*Acipenser baerii*, *Acipenser ruthenus/stellatus*), в то время как между показателями последних нет достоверных различий.

Также нами было проведена оценка содержания фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови рыб. Механизм образования (увеличения количества) фибрин-мономерных комплексов заключается в том, что в период активации процессов свертывания и нарастания содержания тромбина образуется большое количество фибрин-мономеров, часть которых не успевает полимеризоваться, но соединяется с фибриногеном, образуя макромолекулярные растворимые комплексы – растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК). Интересно заметить, что растворимые фибрин-мономерные комплексы являются маркерами тромбинемии при внутрисосудистом свертывании крови у человека и в норме не превышают ($3,0 \pm 0,1$) мг/100мл (А. П. Момот, А. Н. Мамаев, 2008). Для определения количества РФМК к 0,1 мл исследуемой плазмы крови рыб, взятой в пробирку, добавляли 0,1 мл раствора фенантролина. Немедленно включали секундомер. При непрерывном покачивании пробирки в проходящем свете регистрировали время от момента добавления реагента до начала появления первых зерен фибрина. Отмечали время их

появления в секундах и по таблице определяли количество РФМК в исследуемой плазме.

Анализ полученных данных показывает, что как костные, так и костно-хрящевые рыбы имеют достоверно одинаковое количество РФМК, намного превышающее количество РФМК у собак и человека, но ниже, чем у коров – животных с многокамерным желудком (рис. 1).

По данным доступной нам литературы о хрящевых рыбах, можно выделить J. H. Lewis [9], охарактеризовавшую некоторые показатели функционального состояния вторичного гемостаза нескольких видов акул и скатов, являющихся типовыми представителями хрящевых рыб. Согласно этим исследованиям, ТВ с использованием бычьего тромбина составило: 57,4 сек (*Squalus acanthias*), 33,8 сек (*Carcharhinus maculipinnis*), 29,8 сек (*Prionace glauca*), 44,4 сек (*Raja eglanteria*).

Исследование внешнего пути свертывания плазмы проводилось с различными тканевыми экстрактами и составило: при использовании мозгового – 8,6 сек (*Squalus acanthias*), 38,4 сек (*Carcharhinus maculipinnis*), 27,8 сек (*Prionace glauca*), 44,4 сек (*Raja eglanteria*); жаберного – 10,3 сек (*Squalus acanthias*), 32,4 сек (*Carcharhinus maculipinnis*), 25,4 сек (*Prionace glauca*), 68,2 сек (*Raja eglanteria*); и кожного – 31,4 сек (*Squalus acanthias*), 51,7 сек (*Carcharhinus maculipinnis*), 51,7 сек (*Prionace glauca*), 57,2 сек (*Raja eglanteria*).

Активация внутреннего пути свертывания крови (АЧТВ) составила более 120-ти сек.

В более ранних исследованиях [6, 13] также упоминается количественное содержание протромбина в плазме хрящевых рыб (*M. canis*). И J. H. Lewis, и Doolittle было показано, что

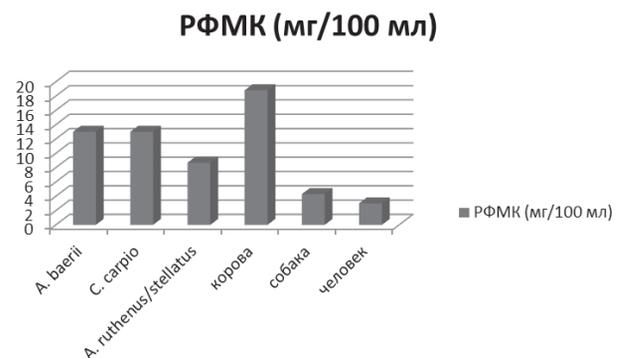


Рис. 1. Растворимые фибрин-мономерные комплексы у рыб в сравнении с собакой [1], коровой [5] и человеком (А. П. Момот, А. Н. Мамаев, 2008).

кальций при высоких концентрациях ускоряет процесс коагуляции как у костных, так и у хрящевых рыб.

К сожалению, ввиду фрагментарности данных иностранных авторов, а также различий в методологических условиях и рабочей среде, комплексно сравнить исследованный нами плазменно-коагуляционный гемостаз у костных и костно-хрящевых рыб с хрящевыми рыбами не представляется возможным.

Заключение

При определении показателей вторичного гемостаза рыб разных видов возможно применение клоттинговых методов, применяемых в ветеринарной и гуманной медицине. Полученные значения являются достоверными и сопоставимыми.

В результате сравнительного анализа плазменно-коагуляционного звена системы гемостаза у различных видов рыб нами было выявлено, что у представителей класса костных рыб (*C. carpio*) по сравнению с костно-хрящевыми (*A. baerii*) наиболее активна первая фаза гемокоагуляции (и внутренний, и внешний пути), на что указывают укороченные протромбиновое время и активированное частичное тромбопластиновое время.

В то же время, образование нерастворимого фибрина из фибриногена у последних происходит намного быстрее, хотя количество фибриногена у представителей различных классов не отличается.

Необходимо отметить, что количество растворимых фибрин-мономерных комплексов у разных видов рыб находится на одинаковом уровне, но значительно превышает таковое у собак и человека, и вместе с тем заметно ниже, чем у коров.

Из условного сравнения данных доступной нам литературы о гемостазе хрящевых рыб следует вывод, что по показателям вторичного гемостаза эти позвоночные более сходны с костно-хрящевыми, нежели с костными рыбами.

Список литературы

1. Баруздина, Е. С. Некоторые аспекты системы гемостаза у здоровых взрослых собак в условиях севера европейской части России [Текст] / Е. С. Баруздина, Ю. Л. Ошуркова // Новая наука: Теоретический и практический взгляд. – 2016. – № 3–2 (69). – С. 12–17.

2. Козлов, А. А. Пособие для врачей-лаборантов по методам исследования плазменного гемостаза. АЧТВ, протромбиновый комплекс, тромбиновое время, фибриноген [Текст] / А. А. Козлов, А. Л. Берковский, Н. Д. Качалова, Т. М. Простакова. – Москва, 2006.

3. Кудряшов, Б. А. Биологические проблемы регуляции жидкого состояния крови и ее свертывания [Текст] / Б. А. Кудряшов. – И. : Медицина, 1975. – 488 с.

4. Ткачева, Е.и С. Влияние акупунктуры на реологические свойства крови крупного рогатого скота [Текст] / Е. С. Ткачева, Ю. Л. Ошуркова // Молочно-хозяйственный вестник. – 2015. – №3 (19). – С. 53–58.

5. Ошуркова, Ю. Л. Сравнительная оценка гемостаза у коров в хозяйствах Вологодской области [Текст] / Ю. Л. Ошуркова, Е. Н. Соболева, Л. Л. Фомина // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2011. – №2, Ч.1. – С. 193–196.

6. Doolittle, R. F. Blood coagulation in fish [Текст] / R. F. Doolittle, D. M. Surgenor // American Journal of Physiology. – 1962. – Vol. 203 (5). – P. 964–970.

7. Herwald, H. Hemostasis in Invertebrates and Vertebrates: An Evolutionary Excursion [Текст] / H. Herwald, U. Theopold // J Innate Immun. – 2011. – Vol. 3. – P. 1–2.

8. Jagadeeswaran, P. Zebrafish: a genetic model for hemostasis and thrombosis [Текст] / P. Jagadeeswaran, M. Gregory, K. Day, M. Cykowski, B. That-taliyath // Thrombosis and Haemostasis. – 2005. – Vol. 3 (1). – P. 46–53.

9. Lewis, J. H. The Cartilaginous Fish [Текст] / J. H Lewis // Comparative Hemostasis in Vertebrates. – 1996. – P. 43–56.

10. Ranzani-Paiva, M. J. T. Clotting time and hematocrit of “dourado”, *Salminus maxillosus*, and carp, *Cyprinus carpio* [Текст] / M. J. T. Ranzani-Paiva, V. R. Silveira, E. R. Almeida-Dias, E. L. Rodrigues // Boletim Instituto Pesca. – 2000. – Vol. 26. – P. 113–116.

11. Rowley, A. F. Haemostasis in fish. An evolutionary perspective [Текст] / A. F. Rowley, D. J. Hill, C. E. Ray, R. Munro // Thrombosis and Haemostasis. – 1997. – Vol. 77. – P. 227–233.

12. Sheehan, J. Demonstration of the extrinsic coagulation pathway in teleostei: identification of zebrafish coagulation factor VII [Текст] / J. Sheehan, M. Templer, M. Gregory, R. Hanumanthaiyah, D. Troyer, T. Phan, B. Thankavel, P. Jagadeeswaran // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2001. – Vol. 15. – P. 8768–8773.

13. Tavares-Dias, M. A review of the blood coagulation system of fish [Текст] / M. Tavares-Dias, S. R. Oliveira // Revista Brasileira de Biociências. – 2009. – Vol. 7, n. 2 – P. 205–224.

14. Van Pittius, M. G. Effects of chromium during pH change on blood coagulation in *Tilapia sarrmanii* (Cichlidae) [Текст] / M. G. Van Pittius, J. H. Van Vuren, H. H. Du Preez. // Comparative Biochemistry and Physiology. – 1992. – Vol. 101. – P. 371–374.



Даты проведения
27 - 29 сентября 2017 года



МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «БАЛТИЙСКИЙ ФОРУМ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ И ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ» 2017

МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ВЕТЕРИНАРИИ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ:

Мастер-класс по кардиологии: Dr. Gerhard Wess (Германия).

Дипломат ECVIM-CA (Internal Medicine), ACVIM (кардиология), ECVIM-CA (кардиология).

Руководитель службы кардиологии клиники мелких животных внутренней медицины, LMU университет Мюнхена, Германия. Основатель www.EKGSERVICE.de.

Исследования:

- Кардиомиопатии кошек - новая и текущая диагностика, терапия, генетическое тестирование.
- Кардиомиопатия доберманов - генетическое тестирование, новые и расширенная диагностика, исследования.
- Биомаркеры.
- Новые эхокардиографические методы: TVI, деформация, скорость деформации, 3D/4D УЗИ.
- Интервенционная кардиология.
- Исследования митрального клапана.

Мастер-класс по гематологии: Dr. Kamil Tomsa (Швейцария).

Доктор ветеринарной медицины.

Образование: Университет ветеринарии и фармацевтики, Брно, Чешская республика.

Постдипломное образование: Университет ветеринарии и фармацевтики,

Отделение Радиологии, Брно, Чешская республика.

Практика: Университет Цюриха, Клиника мелких животных, Цюрих, Швейцария.

Ординатура: Июль 1996 – Декабрь 1996.

Университет Цюриха, Клиника мелких животных, Цюрих, Швейцария. Январь 1997 – Июнь 2001.

Университет штата Джорджия, Колледж ветеринарной медицины, отделение медицины мелких животных, Афины, штат Джорджия, США. Июль 2001 – Январь 2002.

Степень: Диплом Европейского Колледжа Ветеринарной Медицины – животные компаньоны.

Деятельность в настоящее время.

Частная практика: EnnetseeKlinik клиника мелких животных Хюненберг, Швейцария (Rothusstrasse 2b, 6331 Hünenberg, Switzerland).

Темы для обсуждения на форуме: Инфекционные заболевания, вызывающие нарушения свертывания крови. Иммуноопосредованную тромбоцитопению, диагностика и управление. Иммуноопосредованную гемолитическую анемию, диагностика и управление. ДВС-синдром и др.

Мастер-класс по дерматологии: Белова Светлана (Эстония).

Практикующий ветеринарный врач, Дипломант Европейского Колледжа по Ветеринарной Дерматологии (DirECVD), лектор по дерматологии Эстонского Университета Естественных Наук.

Начиная с 1999 года ежегодно принимает участие в работе международных ветеринарных конгрессов, семинаров и мастер-классов. С 2005 года является лектором по дерматологии в Эстонском Аграрном Университете, обучая студентов старших курсов клинической дерматологии. С 2007 - 2011 прошла резидентуру по программе Европейского Колледжа Ветеринарной Дерматологии в Цюрихском Университете и, успешно сдав экзамен, стала дипломированным дерматологом. Член Европейского Общества Ветеринарных Дерматологов, член Международного Общества

Ветеринарных Дерматологов, член Эстонской Ветеринарной Ассоциации Мелких Животных. Активно участвует в последипломном образовании, принимая в клинике стажеров из России и Прибалтики, участвуя в конференциях и мастер-классах, организованных в Эстонии, Латвии, Литве, России, Украине, Белоруссии, Польше, Венгрии. Первые лекции по дерматологии прочитала в 2002 году в Латвии. На сегодняшний день подготовила и прочитала более 50 лекций и мастер-классов по дерматологии на русском, английском и эстонском языках. Профессиональные интересы – пациенты с atopическим дерматитом, гистопатология, клиническая фотография.

Албеско Анатолий (Россия).

Главный ветеринарный врач ООО «Сеть ветеринарных клиник»

Окончил Одесский государственный аграрный университет по специальности «Ветеринарная медицина» в 2003г. С 2008 года и по настоящее время ведет прием исключительно дерматологических пациентов.

Неоднократно принимал участие в Московском международном ветеринарном конгрессе, Киевском международном конгрессе специалистов ветеринарной медицины, международной Национальной ветеринарной конференции в городе Москва (NVC 2013), в том числе и в качестве докладчика.

Прочитал более 30 лекций по актуальным вопросам дерматологии мелких домашних животных и вопросам организации специализированного дерматологического приема в Москве, Санкт-Петербурге, Ростове, Киеве, Одессе, Севастополе, Симферополе, Львове, Днепропетровске и других городах. Является автором и соавтором ряда статей на дерматологическую тематику. Окончил Школу ветеринарной дерматологии врача дерматолога, «подводным камням» в диагностике и лечении, необычным случаям и вопросам терапевтического сотрудничества.

Мастер-класс по хирургии: Dr. Marcel Keller (Швейцария).

Дипломат DECVS.

1988 - 1993 Факультет ветеринарной медицины, Университет Цюриха.

1994 - 1995 Практика мелких домашних животных, крупный репродуктивных животных.

1996 - 1999 Клиника хирургии мелких животных, анестезиология, Университет Цюриха.

2000 - 2003 Клиническая ординатура по хирургии мелких животных, кафедра хирургии мелких животных, Vetsuisse факультет Цюрихского университета - ветеринарный факультет (Vetsuisse-Fakultät) в Цюрихе относится к лучшим в Европе центрам ветеринарной медицины. Исследования которые проводятся на факультете: ветеринарная онкология, профилактика заболеваний животных, селекция. Кроме этого, исследования направлены также на защиту людей от последствий заболеваний животных, и охрану окружающей среды от возможного вреда, который может возникнуть в процессе хозяйственного использования животных.

2004 - 2005 доцент хирургии мелких животных, кафедра хирургии мелких животных, Vetsuisse факультет Цюрихского университета.

2005 - 2008 начальник хирургии, Kleintierklinik Rigiplatz, Cham, Швейцария.

Сентябрь 2008 - настоящее время начальник хирургии, Ennetsee Klinik für Kleintiere AG, Хюненберге, Швейцария.

Мастер-класс по репродукции собак:

научно-практический проект Центра Репродуктивной Биологии Управления ветеринарии СПб и ЗАО «Кантри» при участии специалистов польской компании Draminski, мирового лидера в производстве УЗИ сканеров для медицины и ветеринарии и создавших новое направление приборов для контроля половых циклов животных.

Место проведения: Санкт-Петербург, отель «Санкт-Петербург», Пироговская набережная 5/2

ПАРТНЕР ФОРУМА ГК «ВЕТПРОМ»

Контакты: сайт www.baltvetforum.ru, электронная почта: fondvet@yandex.ru

Телефоны: +7 921 953 55 74, +7 921 910 88 80

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. Оригиналы и копии присланных статей авторам не возвращаются. Материалы можно присылать 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 или переслать в редакцию по адресу: 197198, Россия, С.-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б. Телефон для связи: (812) 232-55-92. Факс (812) 232-88-61.

Подготовка материалов

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

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

Автор должен представить каждое изображение в отдельном файле в оригинальном размере (при обработке изображений в графических редакторах необходимо учесть, что для офсетной печати не подходят изображения с разрешением менее 300 dpi и размером менее 945 px по горизонтали).

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

В статье желательно использование не более 3–5 нетрадиционных сокращений для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте. Эти сокращения вводятся в круглых скобках после первого полного названия термина. В тех случаях, когда используемая аббревиатура узаконена международной классификацией, ее следует использовать в соответствующей транскрипции. Например, для сокращения термина «интерлейкин» должна быть использована аббревиатура в соответствии с международной номенклатурой «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Запрещается вводить какие-либо сокращения в название статьи. Названия микроорганизмов должны быть приведены в оригинальной транскрипции и наклонным шрифтом (*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 , \Leftrightarrow , ...) 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 соответствовать 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 (800–1200 печатных знаков). Аннотация не должна включать в себя название статьи и общих фраз, например: «В статье представлены данные о влиянии поваренной соли на продуктивность носорогов»... Аннотация должна отражать цель исследования, основные и конкретные результаты исследования с представлением цифровых данных. Сокращения в аннотации не допустимы.

7. Аннотацию статьи на английском языке (summary). Аннотация на английском языке должна быть корректным переводом (НЕ КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПЕРЕВОД) аннотации на русском 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

Подаявая статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы. Авторы 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 являются: 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 большое количество иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций), за публикацию цветных иллюстраций, 2) за размещение рекламной информации; 3) 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 согласно «Правилам рецензирования научных статей», согласованным с ВАК при Минобрнауки России.

По результатам рецензирования редакция журнала принимает решение о возможности публикации данного материала.

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 доставляется заказной бандеролью Почтой России.

Стоимость подписки на 2018 г. (4 номера): для юридических и физических лиц – 2 000 руб., для подписчиков из ближнего зарубежья – 2 400 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: invetbio@yandex.ru.

Физические лица могут оплатить стоимость подписки:

1) в любом банке (для получения образца заполненной квитанции обращайтесь по e-mail: invetbio@yandex.ru);

2) через платежную систему Яндекс-деньги: счет для оплаты 41001182195695 (в сообщении следует указать: «Подписка на "АВВБ-2017"», Ф.И.О. и почтовый адрес).

Полная информация о подписке на журнал – на сайте www.invetbio.spb.ru/journal/vb_podpiska.htm.

ПРИОБРЕТЕНИЕ ЖУРНАЛА «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»

Вы можете заказать любой из предыдущих номеров журнала по т.: (812) 927-55-92 или по e-mail: virclin@mail.ru, и мы вышлем Вам его заказной бандеролью. Стоимость 1 экз. журнала выпуска 2015 г. – 500 руб., 2016 г. – 600 руб., 2017 г. – 900 р. (без учета почтовых расходов).

Кроме того, Вы можете заказать (virclin@mail.ru) доставку отдельной статьи (+ содержание журнала и 1-я страница обложки журнала) по e-mail в сканированном виде. Стоимость сканирования и электронной пересылки 1 статьи – 300 руб. Статья пересылается после получения оплаты.

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); хондроитина сульфат (200 мг); витамин Е (20 мг); селенометионин (50 мг); органическая форма кальция (100 мг).

Биологическое 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

