

## «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ» – ЖУРНАЛУ 10 ЛЕТ!



**Поздравляю издателей, авторов и читателей журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» с юбилейной датой – 10-летием со дня выхода первого номера!**

10 лет жизни для любого СМИ, особенно специализированного, это в наше время солидная дата. Продолжительность издания журнала говорит о востребованности, об актуальности и своевременности поднимаемых тем, об удачном выборе авторов материалов.

Многое определяет издатель, в данном случае это Институт Ветеринарной Биологии и его ректор – Игорь Валерьевич Чуваев. Именно Игорю Валерьевичу принадлежит идея издания журнала, а затем к процессу подбора материалов, определения наиболее интересных и перспективных направлений для публикаций присоединилась мощная группа ученых,

преподавателей, специалистов из сферы ветеринарной медицины и ветеринарной биологии, образовавшая Редакционный совет издания.

10 лет пролетели незаметно, каждый номер журнала отображает научные и практические достижения и результаты исследований в области ветеринарии, зоотехнии, биологии, репродуктологии, молекулярной биологии и молекулярной генетики, популяционной биологии и других не менее интересных направлений.

Объектами изучения в публикуемых материалах является широкий спектр представителей животного мира: сельскохозяйственные и мелкие домашние животные, морские млекопитающие, рептилии, декоративные птицы и грызуны.

Очень важно, что журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» на основании решения экспертного совета Высшей Аттестационной Комиссии России (ВАК) Министерства образования и науки Российской Федерации был включен в Перечень ведущих периодических научных изданий России по направлениям: ветеринария, зоотехния, биология.

Это придает статусность изданию и прикладную важность издаваемым материалам.

От всей души поздравляю весь творческий коллектив, принимающий участие в издании журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» и желаю дальнейших успехов, освещения самых значимых тематических событий и достижений, реализации всех задуманных идей и проектов, увеличения заинтересованной читательской аудитории, крепкого здоровья, счастья и благополучия!

**А.А. Алиев, член Редакционной коллегии журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии», профессор, доктор ветеринарных наук, первый заместитель начальника Управления ветеринарии Санкт-Петербурга**

## ЮБИЛЕЙНЫЙ 15-Й МЕЖДУНАРОДНЫЙ БАЛТИЙСКИЙ ФОРУМ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ И ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ



4 сентября 2019 года в Санкт-Петербурге состоится 15-й Международный Балтийский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности.

В Балтийском форуме примут участие ведущие специалисты ветеринарной медицины Российской Федерации и зарубежные специалисты, врачи общей медицинской практики, руководители и сотрудники управлений ветеринарных служб субъектов Российской Федерации, Республики Беларусь, Казахстана, Дании, Финляндии и других европейских государств.

В этом году Балтийский форум будет работать в рамках XXV Европейского ветеринарного конгресса FECAVA, как соорганизатор Европейского ветеринарного конгресса и организатор секционных заседаний Международного форума птицеводов, а также секций: «Актуальные вопросы в ветеринарии сельскохозяйственных животных» и «Актуальные вопросы правового регулирования ветеринарии в Российской Федерации».

Для всех зарегистрированных участников Балтийского форума вход на торжественное открытие и выставку Европейского ветеринарного конгресса свободный (по бейджам Балтийского форума).

Участникам Балтийского форума и Европейского ветеринарного конгресса предоставляется возможность размещения на территории КВЦ «Экспофорум» в комфортабельной гостинице Hampton by Hilton по специальным ценам через сайт <https://www.baltvetforum.com/razmeshenie>.

С подробностями программы Балтийского форума можно ознакомиться на сайте [www.baltvetforum.com](http://www.baltvetforum.com).

**С уважением, Председатель Организационного комитета Балтийского форума ветеринарной медицины и продовольственной безопасности, первый заместитель начальника Управления ветеринарии Санкт-Петербурга, доктор ветеринарных наук, профессор А.А. Алиев**

**Председатель Фонда развития ветеринарии С.В. Валева**



## ЮБИЛЕЙНЫЙ 25-Й ЕВРОПЕЙСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ КОНГРЕСС FECAVA 2019 ВПЕРВЫЕ ПРОВОДИТСЯ В РОССИИ, В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ!

Европейский ветеринарный конгресс по праву является крупнейшим международным форумом в сфере ветеринарной медицины на нашем континенте, собирающим крупнейших специалистов и определяющим тенденции дальнейшего развития отрасли.

Организуется конгресс Европейской Ассоциацией ветеринарных врачей (аббревиатура – FECAVA) ежегодно, проводится, как правило, в крупнейших городах Европы. В 2017 году конгресс принимала столица Дании Копенгаген, в 2018 году этой чести удостоилась столица Эстонии Таллин.

2019 год стал юбилейным – 25-м для Европейского ветеринарного конгресса, и проводиться впервые он будет на территории России, в красивейшем городе с великим историческим прошлым и настоящим – в Санкт-Петербурге.

Конгресс будет проводиться с 4 по 7 сентября 2019 года здесь, в Санкт-Петербурге. Выбор нашего города местом проведения конгресса для нас, конечно, почетен, но и налагает серьезную ответственность и обязательства перед европейским и мировым ветеринарным сообществом.

Локация конгресса – площадка Экспофорума – крупнейшего выставочного комплекса на Северо-Западе России, отвечающего мировым стандартам. Торжественное открытие мы планируем провести 4 сентября, в настоящее время формируется деловая, научная, культурная программа конгресса.

Темы этого мероприятия учитывают актуальные вопросы современной ветеринарной медицины, лучшие зарубежные и российские специалисты выступят с сообщениями и докладами, проведут семинары и мастер-классы. Участники конгресса смогут продемонстрировать передовые новинки в ветеринарном оборудовании и технологиях, обсудить наиболее интересные вопросы и направления развития ветеринарной отрасли.

Участники и гости конгресса смогут ознакомиться с имеющими мировое значение музеями и памятниками, с историей и архитектурой северной столицы России, совершить путешествие по каналам и рекам, насладиться фонтанами и парками города. Надеюсь, запомнится и гала-ужин, который пройдет в историческом центре Санкт-Петербурга.

На официальном сайте конгресса FECAVA 2019: <http://fecava2019.org/ru/index/> можно пройти регистрацию, ознакомиться с программой его проведения и подробностями участия.

**С наилучшими пожеланиями, Алиев Али Абакарович, сопредседатель 25-го Европейского ветеринарного конгресса FECAVA–2019, профессор, доктор ветеринарных наук, первый заместитель начальника Управления ветеринарии Санкт-Петербурга**



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.**

Журнал основан в 2009 г.

Учредитель и издатель:  
ЧОУДПО «Институт  
Ветеринарной Биологии»

### ФИЗИОЛОГИЯ

**Иванов Ю.В., Сердюк Г.Н.**

Эффективность оценки стресс-чувствительности свиней методом «кризис-отъема» ..... 6

### МИКРОБИОЛОГИЯ

**Мартынова К.В.**

Бактериологическая идентификация бактерий *Bacillus coagulans*, выделенных из томатов и томатосодержащих продуктов питания ..... 9

### ПАЗАРИТОЛОГИЯ

**Почепко Р.А., Лайшев К.А., Ширяева В.А., Логинова О.А.**

Особенности распространения и биологии оводовых инвазий домашних северных оленей в Мурманской области ..... 14

### ИММУНОЛОГИЯ

**Гусева М.Н., Шевченко М.А., Доронин М.И., Михалишин Д.В., Федорова О.Е., Клюкина Н.Д.**

Сравнительный анализ активности гидролизатов белков крови ..... 22

**Лозовой Д.А., Михалишин Д.В., Стариков В.А., Доронин М.И., Шишкова А.А., Шарыпов А.С., Борисов А.В.**

Эффективность моновалентной вакцины «АРРИАХ-ВАК», разработанной на основе штамма O/KOR/JC02D1/14 (O/JINCHEON 2014) вируса ящура ..... 28

**Суворова Т.А., Пронина Г.И., Микряков Д.В., Петрушин А.Б.**

Состав лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов краснухоустойчивой породы карпа в преднерестовый период ..... 38

**Шаталина О.С.**

Основы производства моноспецифических сывороток – реагентов для выполнения иммуногенетических исследований ..... 42

### ТЕРАПИЯ

**Кудинова С.А., Луцай В.И., Концевая С.Ю.**

Мезотерапевтическое введение аргинина и тонкоигольная стимуляция при лечении алопеции невоспалительного характера (в эксперименте) ..... 48

### ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

**Васильева С.А., Родионова Т.Н., Мариничева М.П., Савина С.В., Фокин А.И.**

Бактерицидные свойства антисептического средства ветеринарного назначения «СМЕЙК-ХУВС» ..... 53

**Калашникова Е.А., Зайцева С.М., Киракосян Р.Н.**

Цитотоксичность и фунгицидная активность экстрактов, полученных из растений ашваганды и астрагала в условиях *in vitro* ..... 57

**Остренко К.С., Галочкина В.П., Галочкин В.А.**

Влияние аскорбата лития на липидный обмен растущих свиней ..... 64

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ

**Балабанова В.И., Кудряшов А.А.**

Патологоанатомические изменения у откормочных свиней, установленные при послеубойном осмотре ..... 69

### 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 19.06.2019. Дата выхода: 29.06.2019. 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, 2019



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.,**  
Dr. Vet. Sci.  
e-mail: virclin@mail.ru

### Computer design Kondrashenkov S.V.

### Editorial Board

**Aliev A.A.,**  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Andreeva N. L.,**  
Dr. Biol. Sci., Professor

**Belova L. M.,**  
Dr. Biol. Sci., Professor

**Kudryashov A.A.,**  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Kontsevaya S. U.,**  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Kuzmin V. A.,**  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Panin A.N.,**  
Dr. Vet. Sci., Professor,  
Member of RAS

**Prudnikov V. S.,**  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Suleymanov S. M.,**  
Dr. Vet. Sci., Professor  
RF Honoured Worker of Science

**Vasilyev D. B.,**  
Dr. Vet. Sci.

**Voronin V. N.,**  
Dr. Biol. Sci., Professor

**Yashin A. V.,**  
Dr. Vet. Sci., 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

- Ivanov Yu.V., Serdyuk G.N.**  
The effectiveness of the assessment of the stress-sensitivity of pigs  
by the method of "crisis-weaning" ..... 6

### MICROBIOLOGY

- Martynova K.V.**  
Bacteriological identification bacteria of *Bacillus coagulans*, isolated from tomatoes  
and tomato-containing foods ..... 9

### PARASITOLOGY

- Pochepko R.A., Laishev K.A., Shiryayeva V.A., Loginova O.A.**  
Eculiarities of the distribution and biology of reindeer botfly invasions in domestic reindeer  
in the Murmansk region ..... 14

### IMMUNOLOGY

- Guseva M.N., Shevchenko M.A., Doronin M.I., Mikhailishin D.V.,  
Fedorova O.Y., Klyukina N.D.**  
Comparative analysis of blood protein hydrolysate activity ..... 22
- Lozovoy D.A., Mikhailishin D.V., Starikov V.A., Doronin M.I., Shishkova A.A.,  
Sharipov A.S., Borisov A.V.**  
Effectiveness of monovalent vaccine "ARRIAH-VAC" from strain O/KOR/JC02D1/14  
(O/JINCHEON 2014) against foot-and-mouth disease ..... 28
- Suvorova T.A., Pronina G.I., Mikryakov D.V., Petrushin A.B.**  
Composition and correlation of peripheral blood leukocytes and immunocompetent  
organs of red-resistant carp breed in pre-spary period ..... 38
- Shatalina O.S.**  
Fundamentals of production of monospecific sera – reagents for the performance  
of immunogenetic studies ..... 42

### THERAPY

- Kudinova S.A., Lutsay V.I., Kontsevaya S.Yu.**  
Mesotherapeutic administration of arginini and fine-needle stimulation  
in the treatment of alopecia of non-inflammatory (in the experiment) ..... 48

### PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

- Vasilyeva S.A., Rodionova T.N., Marinicheva M.P., Savina S.V., Phokin A.I.**  
Bactericidal properties of antiseptic of veterinary assignment "SMEYK-HUVS" ..... 53
- Kalashnikova E.A., Zaytseva S.M., Kirakosyan R.N.**  
Cytotoxicity and fungicidal activity of extracts obtained from plants  
of aswaganda and astragalus *in vitro* ..... 57
- Ostrenko K.S., Galochkina V.P., Galochkin V.A.**  
Influence of lithium ascorbate on lipid metabolism of growing pigs ..... 64

### PATHOLOGICAL ANATOMY

- Balabanova V.I., Kudriashov A.A.**  
Pathological changes from fattening pigs established at post mortem inspection ..... 69

### Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumsкая st., 3-5. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru  
Signed for press on 19.06.2019. Issue date: 29.06.2019. 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, 2019

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10018

УДК: 636.082

Ключевые слова: стресс, чувствительность, метод «кризис-отъема», устойчивость, свиньи, продуктивность.

*Key words: stress, sensitivity, crisis-weaning method, resistance, pigs, productivity.*

<sup>1</sup>Иванов Ю.В., <sup>2</sup>Сердюк Г.Н.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОЦЕНКИ СТРЕСС-ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СВИНЕЙ МЕТОДОМ «КРИЗИС-ОТЪЕМА» *THE EFFECTIVENESS OF THE ASSESSMENT OF THE STRESS-SENSITIVITY OF PIGS BY THE METHOD OF «CRISIS-WEANING»*

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГАВМ)

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

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine" (FSDEI HPE St. Petersburg SAVM)*

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

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства –

ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» (ВНИИГРЖ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста)

Адрес: 196601, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Московское шоссе 55а

*The All-Russian research institute of Farm Animals Genetics and Breeding - Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry"*

*Address: 196601, Russia, St. Petersburg, Pushkin, Moscow highway 55a*

Иванов Юрий Витальевич, Ассистент кафедры эпизоотологии им. В.П.Урбана,

канд.вет.наук. Тел.: 8-931-350-16-20

*Ivanov Yurii Vitalievich, Assistant of the Department of Epizootology of the V.P.Urban,*

*Candidate of Veterinary Sciences. Tel. 8-931-350-16-20*

Сердюк Григорий Николаевич, Главный научный сотрудник лаборатории полиморфизма ДНК ВНИИГРЖ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, доктор биологических наук, профессор. Тел.: 8-911-780-95-22

*Serdyuk Grigory Nikolaevich, Chief Researcher, Laboratory of DNA Polymorphism, Doctor of Biological Sciences, Professor. Tel.: 8-911-780-95-22*

**Аннотация.** Методом «кризис-отъема» в условиях промышленной технологии установлена степень стресс-чувствительности у помесных свиней (йоркшир\*ландрас). Стресс-устойчивые животные слабее реагируют на технологические раздражители и показывают более высокие показатели продуктивности как на откорме, так и по воспроизводительным качествам. По скороспелости они превосходят своих стресс-чувствительных сверстниц на 9,2%, по среднесуточному приросту на 5,1%. По воспроизводительным качествам стресс-устойчивые свиноматки превосходят стресс-чувствительных по многоплодию на 5,4%, по массе одного поросенка в 2 месяца на 1,8%, по сохранности – на 7,3%.

**Summary.** *The method of "crisis-weaning" in terms of industrial technology established the degree of stress sensitivity in crossbred pigs (Yorkshire\*Landrace). Stress-resistant animals react weaker to technological stimuli and show higher productivity indicators both in fattening and in reproductive qualities. By early maturity, they surpass their stress-sensitive peers by 9.2%, and by the average daily gain by 5.1%. In terms of reproductive qualities, stress-resistant sows surpass stress-sensitive ones by multiplicity by 5.4%, by weight of one pigling per 2 months by 1.8%, by preservation – by 7.3%.*

### Введение

Технология содержания свиней в крупных промышленных комплексах: скученность, замкнутое пространство, шум, однообразие и рутинность, плановые зоотехнические и ветеринарные мероприятия являются источником сильнейшего стресса, оказывающего

негативное влияние на рост, развитие и продуктивность свиноматок и хряков, а в дальнейшем и их потомков [1,2,3,4] и другие.

Под влиянием стресса у свиней снижается масса тела, ухудшается оплата корма и увеличиваются затраты кормов на единицу привеса. Свиноматки теряют способность

приходить в охоту, либо производят нежизнеспособный приплод. Стресс отрицательно сказывается на резистентности организма, а потому такие животные чаще болеют внутренними незаразными болезнями. Кроме того, у стресс-чувствительных свиней мясо характеризуется более низким рН, бледной окраской, низкой влагоудерживающей способностью, малопригодно для длительного хранения [5,6,7,8] и др.

Именно поэтому крайне актуальным остаются вопросы прогнозирования и профилактики стресс-чувствительности свиней.

В свиноводстве применяют различные методы для оценки стресс-чувствительности. Наиболее распространенными являются следующие способы: использование наркотического газа галотана в форме газовой смеси с кислородом, определение уровня концентрации в крови животных фермента креатинфосфокиназы (КФК) [9], а также установление характера течения местного адаптационного синдрома в результате внутрикожного введения в ушную раковину скипидара [10] или формалина [11].

По нашему мнению, все перечисленные способы довольно трудоемки и сложны в исполнении. Цель наших исследований – установить степень стресс-чувствительности у свиней с помощью метода «кризис-отъема» и ее влияние на продуктивные признаки животных.

#### Материалы и методы исследований

Работа выполнена в свинокомплексе ООО «Русбелго» Ленинградской об-

ласти на помесном поголовье свиней (Йоркшир\*ландрас). Были подобраны две группы помесных свинок 2-месячного возраста по 55 голов. В одну группу отобрали стресс-чувствительных, в другую – стресс-устойчивых. Стресс-устойчивость поросят определяли по методу «кризис-отъема», разработанному В.А.Коваленко [12], который заключается в оценке прироста поросят в течение 10 дней после отъема: показавших прирост выше среднего по группе относили к стресс-устойчивым, ниже среднего – к стресс-чувствительным.

#### Результаты исследований

Результаты полученных данных показывают (табл.1), что при выращивании ремонтных свинок наблюдается тенденция преобладания стресс-устойчивых животных над стресс-чувствительными сверстницами, определенных по методу «кризис-отъема».

Так, стресс-устойчивые ремонтные свинки по скороспелости (возраст достижения массы 100 кг) превосходят своих стресс-чувствительных сверстниц на 17,5 дней или на 9,2%, по среднесуточному приросту на 35 г или на 5,1%.

По воспроизводительным качествам свиноматок-первоопоросок наблюдается преобладание стресс-устойчивых животных над стресс-чувствительными. Так, превосходство по многоплодию составило 0,6 поросят или на 5,4% по массе 1 поросят на 2 месяца на 0,3 кг (на 1,8%), по сохранности на 7,3% (табл. 2).

Таблица 1

#### Рост и развитие ремонтных свинок с различным уровнем стресс-чувствительности

Показатели	Стресс-устойчивые М ± m	Стресс-чувствительные М ± m
Кол-во животных при выращивании, гол	53	51
Живая масса поросят при отъеме, кг	20,1 ± 0,6	19,4 ± 0,4
Среднесуточный прирост за 10 дней после отъема, г	289 ± 13 **	127 ± 21
Среднесуточный прирост за период выращивания, г	688 ± 8,4	653 ± 7,9
Скороспелость, дней	184 ± 1,2*	201,5 ± 1,4

Примечание: \* – p ≤ 0,05; \*\* – p ≤ 0,01

**Воспроизводительные качества свиноматок с различным уровнем стресс-чувствительности**

Показатели	Стресс-устойчивые	Стресс-чувствительные
Опоросилось маток, гол	38	29
Многоплодие, гол	11,2 ± 0,31	10,6 ± 0,48
Крупноплодность, кг	1,2 ± 0,02	1,1 ± 0,01
Масса 1 поросенка в 2 мес., кг	18,2 ± 2,94	17,9 ± 2,23
Кол-во поросят при отъеме на 1 матку, гол	10,3 ± 0,20 *	8,9 ± 0,29
Сохранность поросят, %	92,1 ± 1,9 **	84,8 ± 2,4

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$

### Заклучение

При современной промышленной технологии ведения свиноводства стресс-устойчивые животные слабее реагируют на технологические раздражители и показывают более высокие показатели, как на откорме, так и по воспроизводительным качествам. Так, стресс-устойчивые ремонтные свинки по скорости созревания превосходят своих стресс-чувствительных сверстниц на 9,2%, по среднесуточному приросту на 5,1%.

По воспроизводительным качествам стресс-устойчивые свиноматки превосходят стресс-чувствительных по многоплодию на 5,4%, по массе одного поросенка в 2 месяца на 1,8%, по сохранности на 7,3%.

Результаты исследования позволяют рекомендовать использовать оценку стресс-чувствительности свиней методом «кризис-отъема», как наиболее простой и эффективный способ.

### Список литературы

1. Шейко И.П. Продуктивные качества свиней крупной белой породы в зависимости от подверженности стрессам / И.П. Шейко, А.И. Утивалиев // Селекция с.-х. животных на устойчивость к болезням и повышение естественной резистентности. – 1989. – с. 181-187.
2. Максимов Г.В. Воспроизводительные качества стресс-устойчивых и стресс-чувствительных хряков и маток / Г.В. Максимов, А.Г. Максимов // Свиноводство. – 2007. – с. 27-31.

3. Орлов П.А. Поведение молодняка свиней при технологических стрессах / П.А. Орлов, К.В. Жучаев, С.В. Папшев // Вестник Новосибирского госуд. аграрного университета. – 2014. – Т. 2 – №31. – с. 82-85.

4. Беляев В.В. Комплексная профилактика стресса в современном свиноводстве / В.В. Беляев // Свиноводство. – 2015. – №1. – с.19-20.

5. Татулов Ю.В. Факторы, определяющие мясную продуктивность и качество свинины / Ю.В. Татулов, Д.Ю. Следин, С.Б. Воскресенский // Мясные технологии. – 2009. – декабрь. – с. 38-39.

6. Кудряшов Л.С. Влияние стресса животных на качество мяса / Л.С. Кудряшов, О.А. Кудряшова // Мясная индустрия. – 2012. – №1. – с. 8-11.

7. Чернуха И.М. Изучение объемов PSE – и DFD – свинины, поступающей на мясоперерабатывающие предприятия Орловской области / И.М. Чернуха, О.А. Шалимова, М.В. Радченко, Г.Г. Семенов, Ю.С. Макеева // Технология товароведения инновационных пищевых продуктов. – 2013. – №1(18). – с. 24-30.

8. Вербицкий С. Что влияет на качество свинины / С. Вербицкий // Животноводство России. – 2016. – №12. – с. 39-40.

9. Пляшенко С.И. Стрессы у сельскохозяйственных животных / С.И. Пляшенко, В.Т. Сидоров // – М: Агропромиздат. – 1987. – 87 с.

10. Кузнецов А.И. Определение стрессовой чувствительности / А.И. Кузнецов, Ф.А. Сунагатуллин // Актуальные проблемы интенсификации животноводства и подготовка специалистов. – 1990. – №71. – с. 87.

11. Капкова Е.Л. Способ определения стрессовой чувствительности свиней / Е.Л. Капкова, А.И. Кузнецов // патент на изобретение RUS 2181000 10.07.2000.

12. Коваленко В.А. Способ прогноза откормочных качеств свиней в раннем возрасте // Генетика, разведение и селекция свиней: Межвуз. сб. научных трудов по проблеме “Свинина” / М. – 1988. – с. 14-20.



DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10019

УДК 579.672

Ключевые слова: *Bacillus coagulans*, идентификация, схема R. Gordon, устойчивость культур, плоско-кислая порча.  
Key words: *Bacillus coagulans*, identification, scheme R. Gordon, crop resistance, flat acid damage.

**Мартынова К.В.**

## БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ *BACILLUS COAGULANS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТОМАТОВ И ТОМАТОСОДЕРЖАЩИХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

### BACTERIOLOGICAL IDENTIFICATION BACTERIA OF *BACILLUS COAGULANS*, ISOLATED FROM TOMATOES AND TOMATO-CONTAINING FOODS

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

Адрес: 432017, Россия, Ульяновская область, город Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1

Federal state budgetary educational institution of higher education «Ulyanovsk state agrarian university named P.A. Stolypin»

Address: 432017, Russia, Ulyanovsk region, Ulyanovsk city, Boulevard New Venets, 1

Мартынова Ксения Вячеславовна, аспирант кафедры Микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ.

E-mail: belova\_ksenya@mail.ru. Тел. 8-904-195-25-31

Martynova Ksenia Vyacheslavovna, graduate student of the department «Microbiology, virology, epizootology and veterinary-sanitary examination» FGBOU VO Ulyanovsk GAU.

E-mail: belova\_ksenya@mail.ru. Tel. 8-904-195-25-31

**Аннотация.** Работа посвящена идентификации бактерий *Bacillus coagulans*, выделенных из томатов и томатосодержащих продуктов питания по схеме бактериологической идентификации бактерий рода *Bacillus*, разработанной R. Gordon. Представлены результаты исследований по изучению воздействия физических (температурной устойчивости) и химических факторов (устойчивости к трихлорметану) референс-штаммов *Bacillus coagulans* и выделенных нами полевых штаммов бактерий. Полученные данные свидетельствуют, что выделенные культуры обладают сходными биологическими свойствами с коллекционными штаммами *Bacillus coagulans*. Процесс аутентификации организмов представляет собой трудоемкий этап проведения биологических исследований, но несмотря на это является одним из самых важных методов бактериологической идентификации бактерий *Bacillus coagulans*, которые являются причиной возникновения плоско-кислой порчи томатосодержащих продуктов питания.

**Summary.** The work is devoted to the identification of bacteria *Bacillus coagulans*, isolated from tomatoes and tomato-containing foods according to the scheme of bacteriological identification of bacteria of the genus *Bacillus*, developed by R. Gordon. The results of studies on the effects of physical (temperature resistance) and chemical factors (resistance to trichloromethane) of reference strains of *Bacillus coagulans* and selected field strains of bacteria are presented. The data obtained indicate that the isolated cultures have similar biological properties with collection strains of *Bacillus coagulans*. The process of authentication of organisms is a time-consuming stage of biological research, but despite this is one of the most important methods for bacteriological identification of bacteria *Bacillus coagulans*, which are the cause of the flat-acid damage of tomato-containing food.

### Введение

Одной из популярных и распространенных овощных культур являются томаты, которые характеризуются высокой питательной ценностью и входят в рецептуру многих консервов. Но томаты, как и любой другой продукт, могут быть подвержены воздействию различных бактерий, которые в свою очередь являются причиной их порчи. Наиболее часто фиксируется у консервируемых томатов и томатосодержащих продуктов питания плоско-кислая порча,

возбудителем которой являются бактерии вида *Bacillus coagulans*, которая характеризуется отсутствием внешних признаков порчи со стороны тары до ее вскрытия, но при этом консервы могут содержать токсины. Токсины в свою очередь оказывают негативное воздействие на организм человека, также испорченный продукт не может быть использован для дачи на корм животным и подлежит уничтожению [1, 3, 6].

Для бактериологической идентификации бактерий рода *Bacillus* используется схема

дифференциации бацилл на три морфологические группы по R. Gordon. В последнее время очень распространены методы молекулярно-генетических исследований идентификации бацилл. Однако, такие методы требуют временных затрат и неприемлемы для быстрой идентификации в виду отсутствия праймеров для большинства представителей рода *Bacillus*. Процесс аутентификации организмов представляет собой трудоемкий этап проведения биологических исследований, но несмотря на это является одним из самых важных методов бактериологической идентификации бактерий [4, 5, 8, 9].

**Цель исследований** – провести бактериологическую идентификацию бактерий *Bacillus coagulans*, выделенных из томатов и томатосодержащих продуктов питания.

**Задачи:**

– изучить биохимические свойства референс-штаммов *B. coagulans* и выделенных культур, используя схему бактериологической идентификации бактерий рода *Bacillus*, разработанной R. Gordon;

– изучить воздействие физических (температурной устойчивости) и химических факторов (устойчивости к трихлорметану) референс-штаммов *Bacillus coagulans* и выделенных бактерий.

**Материалы и методы**

Штаммы *B. coagulans* 566, *B. coagulans* 10468, *B. coagulans* 10473, *B. coagulans* 732, *B. coagulans* 948 получены из музея НИИЦМБ ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Объекты исследований – 25 наименований пищевого сырья и продуктов питания (свежие томаты, томаты в собственном соку, томатная паста, кетчуп, растительные консервы с добавлением томатной пасты и др.).

Для идентификации бактерий использовали схему Gordon (1973) [5, 8]. В исследованиях применяли питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой ((ГРМ-бульон) г. Оболенск Московская область Серпуховской район), трихлорметан стабилизированный 0,6-1% этанола (хлороформ) ч.д.а. ТУ 2631-066-44493179-01. Бактериальные культуры хранились в виде столбика мягкого 0,7% мясо-пептонного агара, засеянного уколом при температуре 2-4°C.

**Результаты исследований и их обсуждение**

Первый этап исследований заключался в подготовке проб для выделения культур, для этого готовили разведения 1:10 и культивировали в условиях термостата 24 ч при температуре 37°C. Выделение «чистой культуры» проводили методом Дригальского на среде Донована, при наличии однотипных колоний анализировали не менее трех колоний. Изучали мазки выросших культур, из которых грамположительные споровые бактерии затем подлежали дальнейшему исследованию.

Для изучения биохимических свойств референс-штаммов *B. coagulans* 566, *B. coagulans* 10468, *B. coagulans* 10473, *B. coagulans* 732, *B. coagulans* 948 и выделенных нами культур использовали схему Gordon [8]. Оценка результатов посевов проводилась через 24-48 часов инкубирования в условиях термостата (36±1°C).

В результате проведенных исследований из 25 проб пищевого сырья и продуктов питания было выделено 5 культур (таб. 1), которые характеризовались следующими свойствами: подвижные грамположительные бактерии палочкообразной формы, спорообразующие. Рост на мясо-пептонном агаре (МПА) представлен в виде слизистых матовых колоний

**Таблица 1**

**Характеристика объектов исследований**

№	Номер пробы	Наименование объекта выделения
1	8	Томатная паста «Каждый день»
2	9	Кетчуп «Спело Зрело»
3	12	Томат с признаками порчи
4	23	Томат с признаками порчи
5	25	Сок с мякотью. Мультиовощной со свеклой «Сады Придонья»

серо-белого цвета с морщинистой поверхностью и волнистым краем, рост на мясо-пептонном бульоне (МПБ) проявляется в виде слабого помутнения среды и образованием на ее поверхности светлой пленки.

Был изучен оптимальный рост бактерий, который наблюдали при 35-50°C и pH в пределах от 5,5 до 6,2. Все выделенные штаммы продуцировали каталазу (рис. 1), вызывали гидролиз крахмала (рис. 2), не продуцировали летициназу, не разжижали желатин, отсутствовал гидролиз мочевины и рост при 7% NaCl.

В качестве дополнительных тестов для дифференциации выделенных штаммов *Bacillus coagulans* применяли биохимические тесты, предложенные Сидоровым [5, 7]. В ходе проведенных исследований наблюдали следующие результаты: положительная реакция на сахарозу, дульцит, мальтозу, глюкозу, ксилозу; отрицательная реакция на маннит, инозит, сорбит; не ферментируют лактозу; утилизация цитрата не происходит.

Результаты вышеназванных исследований представлены в таблице 2.

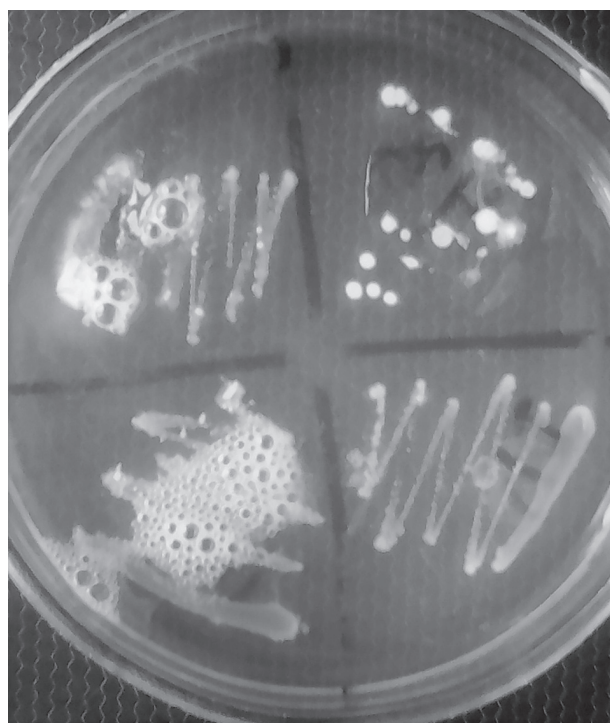


Рис. 1. Результаты изучения способности выделенных культур продуцировать каталазу (слева – положительная реакция, справа – отрицательная)

На основании проведенных тестов схемы Gordon [8] и биохимических тестов [5] мы утверждаем, что музейные штаммы бакте-

Таблица 2

## Результаты изучения биохимических свойств референс-штаммов *B. coagulans* и выделенных культур

Название тестов		Номера штаммов									
		566	10468	10473	732	948	8	9	12	23	25
Схема Гордона	Подвижность микроорганизмов	+	+	+	+	+	+				+
	Продукция каталазы	+	+	+	+	+	+				+
	Продукция летициназы	-	-	-	-	-	-				-
	Гидролиз крахмала	+	+	+	+	+	+				+
	Разжижение желатина	-	-	-	-	-	-				-
	Гидролиз мочевины	-	-	-	-	-	-				-
	Рост при 7% NaCl	-	-	-	-	-	-				-
Дополнительные биохимические тесты	Кислоты:										
	сахарозы	+	+	+	+	+	+				+
	дульцита	+	+	+	+	+	+				+
	маннита	-	-	-	-	-	-				-
	мальтозы	+	+	+	+	+	+				+
	глюкозы	+	+	+	+	+	+				+
	инозита	-	-	-	-	-	-				-
	сорбита	-	-	-	-	-	-				-
	ксилозы	+	+	+	+	+	+				+
	лактозы	-	-	-	-	-	-				-
Утилизация цитрата	-	-	-	-	-	-				-	



рий *Bacillus coagulans* 566, *Bacillus coagulans* 10468, *Bacillus coagulans* 10473, *Bacillus coagulans* 732, *Bacillus coagulans* 948 и выделенные нами 5 культур бацилл обладают аналогичными биохимическими свойствами.

Дальнейшая работа была посвящена изучению воздействия физических (температурной устойчивости) и химических факторов (устойчивости к трихлорметану) выделенных бактерий и референс-штаммов *Bacillus coagulans* [2].

Устойчивость выделенных бактерий и культур *B. coagulans* 566, *B. coagulans* 10468, *B. coagulans* 10473, *B. coagulans* 732, *B. coagulans* 948 к высоким температурам изучали с помощью прогревания на водяной бане в диапазоне 60-90°C в течение 30 минут. Далее производили посев прогретых культур на МПА и культивировали в условиях термостата в течение 24 часов при температуре 35±2°C, наличие выросших колоний (рис. 3) свидетельствует об устойчивости культур к воздействию температуры. Результаты исследований представлены в таблице 3. Нами установлено, что выделенные бактерии и референс-штаммы *B. coagulans* выдерживают воздействие высоких температур до 90°C.

Следующий этап исследований заключался в изучении устойчивости выделенных бактерий и референс-штаммов *B. coagulans* к воздействию трихлорметана. Для этого применяли соотношение бактериальной культуры и хлороформа 10:1, время воздействия 5-30 минут с 5-минутным интервалом при постоянном встряхивании пробирок и отстаивании в течение 1/5 временного интервала воздействия. Затем надсадочную жидкость высевали на МПА, культивировали в условиях термостата в течение 18 часов (35±2°C). Наличие роста культур в виде колоний свидетельствует об устойчивости бактериальных культур к воздействию трихлорметана (табл. 3). В проведенных экспериментах определено, что выделенные бактерии и музейные штаммы *B. coagulans* выдерживают воздействие хлороформа при временной экспозиции 5-15 минут.

## Заключение

На основании проведенных тестов схемы Gordon [8] и дополнительных биохимиче-

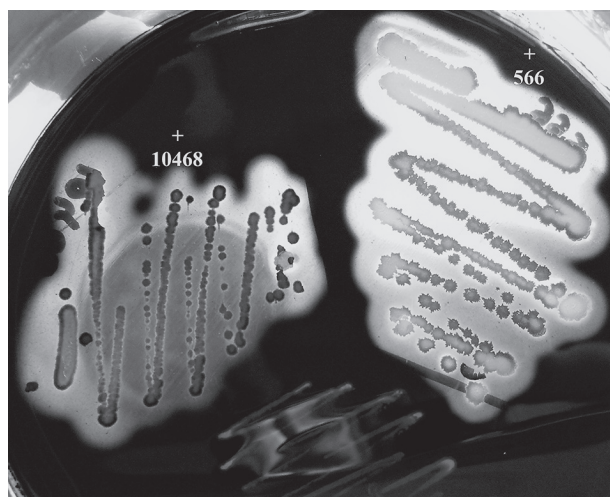


Рис. 2. Положительный результат изучения способности культур *B. coagulans* 566 и *B. coagulans* 10468 гидролизировать крахмал

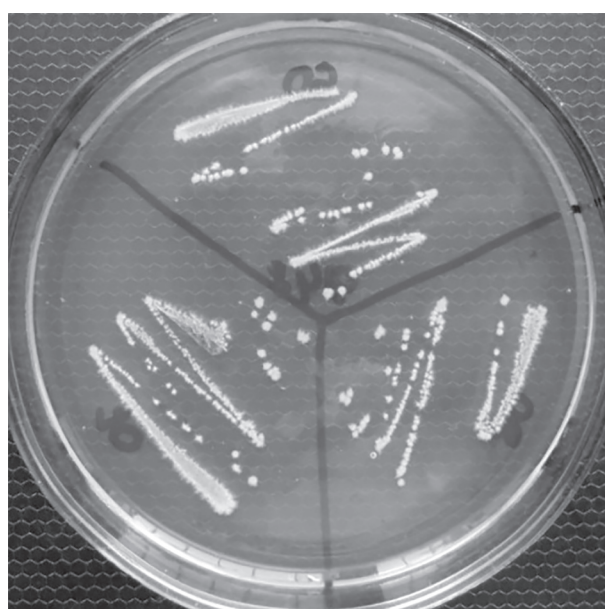


Рис. 3. Устойчивость выделенной культуры № 8 к воздействию высоких температур (в диапазоне 60-90°C в течение 30 мин.)

ских тестов [5] мы утверждаем, что выделенные нами из томатов и томатосодержащих продуктов питания 5 штаммов бактерий обладают аналогичными биохимическими свойствами с музейными штаммами бактерий *Bacillus coagulans* 566, *Bacillus coagulans* 10468, *Bacillus coagulans* 10473, *Bacillus coagulans* 732, *Bacillus coagulans* 948. В результате проведенных исследований нами было установлено, что выделенные бактерии и референс-штаммы *B. coagulans* устойчивы к воздействию высоких температур в диапазоне 60-90°C (время эксперимента 30 минут) и к обработке трихлорметаном в соотноше-



### Устойчивость выделенных бактерий и референс-штаммов *B. coagulans* к воздействию высоких температур и к воздействию трихлорметана

Воздействие физических и химических факторов		Название культур									
		566	10468	10473	732	948	8	9	12	23	25
Временной интервал воздействия высоких температур на культуру, минут	60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	63	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	66	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	69	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	72	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	81	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	87	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
90	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Временной интервал воздействия трихлорметана на культуру, минут	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

нии к культуре 1:10 (время экспозиции 5-15 минут).

Физиолого-биохимическая идентификация бактерий рода *Bacillus* – это материалоемкое и трудоемкое исследование, на которое уходит примерно 155 часов (6 суток), однако в отличие от молекулярно-генетических исследований идентификации бацилл, которые требуют временных затрат и не приемлемы для быстрой идентификации в виду отсутствия праймеров для большинства представителей рода *Bacillus*, этот способ является наиболее оптимальным в бактериологической идентификации бактерий *Bacillus coagulans*.

#### Список литературы

1. Белова, К.В. Выделение бактерий рода *Bacillus* из объектов санитарного надзора / К.В. Белова, Н.А. Феоктистова // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии. Материалы VII-й Международной студенческой научной конференции. – том 1. – Ульяновск, 2015.
2. Васильев, Д.А. Бактериофаги рода *Bacillus*: монография / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин, А.В. Алешкин – Ульяновск, УГСХА им. П. А. Столыпина, НИИЦМиБ, 2013. – с. 66-67.

3. Вербина, Н.М. Микробиология пищевых производств / Н.М. Вербина, Ю.В. Каптерева. – М.: Агропромиздат, 1988. – с. 256.

4. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологического исследования / А.С. Лабинская, Л.П. Ещина. – М.: Медицина, 2004. – с. 34-37.

5. Сидоров, М.А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов: справочник / М.А. Сидоров. – М. Колос, 1995. – с. 104-112.

6. Смирнов, В.В. Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Bacillus* из организма человека и животных / В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.Б. Сорокулова. – Киев: Наукова думка, 1983. – с. 51.

7. Феоктистова, Н.А. Распространение *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин [и др.] // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – № 1 (25). – с. 68-76.

8. Gordon, R. The genus *Bacillus* / R. Gordon // In Handb. Microbiol. Cleveland (Ohio), 1973. – V.1. – P. 71-88.

9. Keller, D. *Bacillus coagulans* as a probiotic [Text] / D. Keller, S. Farmer, A. McCartney, G. Gibson // Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods, 2010. – Vol. 7, N 7. – P. 103-109.

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10020

УДК.636.294:636.089.3

Ключевые слова: северный олень, подкожный овод, носоглоточный овод, циркуляция, личинка, паразитарные болезни, инвазированность.

*Key words: reindeer, subcutaneous gadfly, nasopharyngeal gadfly, circulation, larva, parasitic diseases, invasiveness.*

<sup>1</sup>Почепко Р. А., <sup>2</sup>Лайшев К. А., <sup>3</sup>Ширяева В. А., <sup>3</sup>Логинава О. А.

## ОСОБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ И БИОЛОГИИ ОВОДОВЫХ ИНВАЗИЙ ДОМАШНИХ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ *ECULIARITIES OF THE DISTRIBUTION AND BIOLOGY OF REINDEER BOTFLY INVASIONS IN DOMESTIC REINDEER IN THE MURMANSK REGION*

<sup>1</sup>ФГБНУ «Мурманская государственная сельскохозяйственная опытная станция»

Адрес: 184365, Россия, п. Молочный Кольского р-она Мурманской обл., ул. Совхозная д.1

*FSBSI «Murmansk State Agricultural Experimental Station»*

*Address: 184365, Russia, Molochny, Kola district, Murmansk region, Sovkhoznoyaya street, 1*

<sup>2</sup>ФГБНУ «Северо-Западный центр междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения»

Адрес: 196608, Россия, г Санкт-Петербург, район Пушкинский, город Пушкин, шоссе Подбельского, 7

*FSBSI «North-West Center for Interdisciplinary Research in Food Supply Problems»*

*Address: Russia, 196608, St. Petersburg, Pushkinsky district, Pushkin city, Podbelskogo, 7*

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

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

*FSBEI of HE «Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine»*

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

Почепко Ростислав Арсеньевич, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией ветеринарной медицины. E-mail: [research-station@yandex.ru](mailto:research-station@yandex.ru). Тел. 8 (815) 53-91-3-24

*Pochepko Rostislav Arsen'evich – senior researcher, Head of the laboratory of veterinary medicine.*

*E-mail: research-station@yandex.ru. Tel. 8 (815) 53-91-3-24*

Лайшев Касим Анверович – член-корреспондент РАН, доктор ветеринарных наук.

E-mail – [layshev@mail.ru](mailto:layshev@mail.ru). Тел. 8 (812) 476-79-14

*Laishev Kasim Anverovich - corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Veterinary Sciences.*

*E-mail: layshev@mail.ru. Tel. 8 (812) 476-79-14*

Ширяева Вера Александровна – кандидат вет. наук, доцент каф. паразитологии им. В. Л. Якимова.

E-mail: [shirochka07@mail.ru](mailto:shirochka07@mail.ru). Тел. 8 (921) 773-76-63

*Shiryayeva Vera Aleksandrovna, PhD (Vet. Sci.), Associate Professor of the Dept. of Parasitology.*

*E-mail: shirochka07@mail.ru. Tel. 8 (921) 773-76-63*

Логинава Ольга Александровна – кандидат вет. наук, асс. каф. паразитологии им. В. Л. Якимова.

E-mail: [loginova\\_spb@bk.ru](mailto:loginova_spb@bk.ru). Тел. 8 (950) 029-54-37

*Loginova Olga Aleksandrovna, PhD (Vet. Sci.), assistant of the Dept. of Parasitology.*

*E-mail: loginova\_spb@bk.ru. Tel. 8 (950) 029-54-37*

**Аннотация.** Результаты исследований показали, что, несмотря на рекомендуемый комплекс ветеринарно-профилактических мероприятий в оленеводческих хозяйствах Мурманской области в значительной степени регистрируются такие паразитарные болезни, как эдемагеноз и цефеномийоз. В первую очередь это связано с технологическими особенностями ведения оленеводства в регионе, не позволяющими проводить качественные инсектицидно-репеллентные обработки животных в летний период, и с отсутствием поголовной обработки животных противоинвазионными препаратами в раннеосенний период. Оценивая динамику лёта и активности подкожного овода в оленеводческих бригадах в тундровой и лесотундровой зонах, следует отметить, что первое появление мух в лесотундре регистрировали на 13-20 дней раньше, чем в тундре, а окончание лёта соответственно на 5-10 дней позже. Следует особо выделить, что количество дней массового лёта насекомых в лесотундре на 11-12 дней больше, чем в тундровой зоне, все это и определяет более высокую пораженность личинками подкожного овода оленей, выпасающихся в лесотундровой зоне. При сравнительной оценке зараженности личинками подкожного овода в зависимости от зоны выпаса, следует отметить, что олени, выпасающиеся в тундровой зоне, в меньшей степени поражены личинками подкожного овода, чем в лесотундровой (54,9-86,0% – в тундровой и 94,1-96,0% в лесотундровой климатической зоне). Наибольшая инвазированность отмечена в группах транспортных оленей и телят текущего года рождения (83,3% и 96,6% соответственно). Это объясняется регулярным использованием транспортных быков в перевозках груза и слабой иммуногенной защитой телят. В меньшей степени поражены личинками оводовой инвазии самцы-производители и важенки (самки) – 54,5-81,1% и 48,6-82,1% соответственно.

*Summary. The results of the studies showed that, despite the recommended set of veterinary and preventive measures in reindeer husbandry in the Murmansk region, parasitic diseases such as oedemagenosis and cefenomyosis are largely registered. First of all, this is due to the technological peculiarities of reindeer husbandry management in the region, which do not allow high-quality insecticide-repellent treatment of animals in the summer period, and the absence of treatment of animals with anti-invasive drugs in the early autumn period. Estimating the dynamics of flight and activity of subcutaneous botfly in reindeer-breeding brigades in the tundra and forest-tundra zones, it should be noted that the first occurrence of flies in the forest-tundra was recorded 13-20 days earlier than the tundra, and the end of flight was recorded there 5-10 days later. It should be emphasized that the number of days of intense flight of insects in the forest-tundra is 11-12 days longer than in the tundra zone, all this determines the higher incidence of subcutaneous larvae of reindeer grazing in the forest-tundra zone. From the point of view of comparative assessment of infestation by subcutaneous botfly larvae depending on the grazing zone, it should be noted that reindeer grazing in the tundra zone are less affected by subcutaneous larvae than in the forest-tundra (54.9-86.0% in the tundra zone and 94.1-96.0% in the forest-tundra climatic zone). The greatest invasiveness was observed in groups of transport deer and calves of the current year of birth (83.3% and 96.6%, respectively). This is due to the regular use of transport bulls in cargo transportation and weak immunogenic protection of calves. Begetters and females are affected by reindeer botfly larvae to a lesser extent – 54.5-81.1% and 48.6-82.1%, respectively.*

### Введение

Самка подкожного овода откладывает яйца на волосы оленя, из которых на 4-5 день вылупляются личинки и внедряются в тело животного для своего дальнейшего роста и развития. Носоглоточные оводы впрыскивают сразу живых личинок в ноздри оленя, затем происходит их дальнейшее развитие. Самка взрослого подкожного овода несет в себе 600-700 яиц, носоглоточного овода – столько же живых личинок.

В тоже время известно, что паразитарные болезни снижают неспецифическую резистентность животного-хозяина и повышают восприимчивость оленей к инфекционным болезням (некробактериоз, бронхо-пневмонии, диспепсии). Инвазированные олени в 5-месячном возрасте весят на 6,2 кг меньше, чем здоровые, а взрослые – на 16,4 кг, разница в выходе мяса составляет в среднем, соответственно – 3,8 кг и 10,9 кг. Из-за гельминтозов во время осеннего забоя оленей выбраковывается 0,3-2% туш, 25-40% по причине заболевания печени, 10-20% – сердца и легких [2, 3, 4].

Представляется интересным изучение степени инвазированности эдемагенозом и цефеномийозом домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области.

### Материалы и методы

Работа была выполнена в лаборатории оленеводства ФГБНУ Мурманская СХОС, в ГГБВУ «Мурманская облветлаборатория», на кафедре паразитологии им. В. Л. Якимова в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская ака-

демия ветеринарной медицины», а также в оленеводческих хозяйствах Мурманской области.

Объектом исследований были северные олени, возбудители паразитарных болезней северных оленей.

Степень инвазированности личинками *Oedemagena tarandi* и *Cephenomyia trompe* рассчитывали при убое северных оленей на мясо (декабрь – март) или их гибели непосредственно на пастбищах (круглогодично) по результатам туш (трупов), поверхностной подкожной фасции и шкур на предмет выявления личинок подкожного овода; вскрытия и исследования отделов носоглотки для обнаружения личинок носоглоточного овода.

Особенности биологии и фенологии *O. tarandi* и *C. trompe* северных оленей, кровососущих двукрылых насекомых изучали в различных природно-климатических зонах (тундры и лесотундры) Мурманской области. Для этого устанавливали календарные сроки начала, окончания и активности лёта имаго оводов и кровососов в течение суток и в сезоне, суточный сезонный ритм их численности лёта.

С целью изучения сезонной динамики лета имаго *O. tarandi* и *C. trompe*, использовалась методика К. А. Бреева (1956) – энтомологические учеты нападающих самок оводов и гнуса на контрольного оленя. Суточная активность и численность имаго оводов изучалась в сравнительном аспекте в дни разных погодных условий, а сезонную динамику численности и активности оводов – по результатам энтомологического учета в течение всего периода лёта [1].

Обязательно ежедневно в течение сезона производились замеры температуры воздуха, и скорости ветра в м/сек.

## Результаты исследований

Эдемагеноз. Результаты оценки эпизоотической ситуации по подкожнооводовой инвазии северных оленей в Мурманской области представлены в таблицах 1-2.

Можно отметить, что в целом по хозяйствам зараженность оленей подкожным оводом составляла от 54,9 до 86,0%, что подтверждает наше предположение о недостаточно качественном проведении ветери-

нарно-профилактических противооводовых мероприятий в хозяйствах.

Очевидно, что степень зараженности подкожным оводом зависит от количества насекомых в летний период и от пола, возраста, упитанности и физиологического состояния животного, в какой технологической операции эти животные используются и от качества ветеринарно-профилактических мероприятий.

Наибольшая инвазированность отмечена в группах транспортных животных и телят текущего года рождения (83,3-96,6% и 58,7-91,6% соответственно). Это объясняется

**Таблица 1**

### Пораженность оленей личинками подкожного овода в СХПК «Оленевод»

Половозрастные группы оленей	Осмотрено шкур (шт.)	Из них поражено личинками (шт.)	Всего учтено личинок (шт.)	ИИ* (в среднем на голову) (шт.)	ЭИ** %
<b>2015/2016</b>					
Транспортные олени	30	29	4800	165,5	96,6
Быки производители	25	18	2005	111,3	78,0
Важенки	40	32	3037	94,9	80,0
Телята	60	55	5020	91,2	91,6
<b>Итого:</b>	<b>155</b>	<b>128</b>	<b>14862</b>	<b>116,1</b>	<b>82,5</b>
<b>2016/2017</b>					
Транспортные олени	21	19	2135	112,4	85,7
Быки производители	15	11	963	87,5	73,3
Важенки	18	14	1137	81,2	77,7
Телята	41	37	3707	100,2	90,2
<b>Итого:</b>	<b>95</b>	<b>81</b>	<b>7942</b>	<b>98</b>	<b>85,2</b>

Примечание: здесь и далее: \*ИИ – интенсивность инвазии, \*\*ЭИ – экстенсивность инвазии

**Таблица 2**

### Пораженность оленей личинками подкожного овода в СХПК «Тундра»

Половозрастные группы оленей	Осмотрено шкур (шт.)	Из них поражено личинками (шт.)	Всего учтено личинок (шт.)	ИИ (в среднем на голову) (шт.)	ЭИ, %
<b>2015/2016</b>					
Быки производители	22	12	1168	97,3	54,5
Важенки	37	18	1575	87,5	48,6
Телята	63	37	3005	81,2	58,7
<b>Итого:</b>	<b>122</b>	<b>67</b>	<b>5748</b>	<b>85,8</b>	<b>54,9</b>
<b>2016/2017</b>					
Транспортные олени	12	10	1225	102,1	83,3
Быки производители	17	15	1379	81,1	88,2
Важенки	28	23	1985	86,3	82,1
Телята	43	38	3352	88,2	88,4
<b>Итого:</b>	<b>100</b>	<b>86</b>	<b>7941</b>	<b>92,3</b>	<b>86,0</b>



регулярным использованием транспортных быков в перевозках груза и слабой иммунной защитой телят.

В меньшей степени личинками подкожного овода поражены самцы производители и важенки (самки) – (54,5-81,1% и 48,6-82,1% соответственно).

При сравнительной оценке зараженности животных личинками подкожного овода в зависимости от зоны выпаса, следует отметить, что олени, выпасающиеся в тундровой зоне в меньшей степени поражены личинками, подкожного овода, чем лесотундровой (54,9-86,0% - в тундровой и 94,1-96,0% в лесотундровой климатической зоне) (таблица 3).

Зависимость инвазированности северных оленей от упитанности (что в значительной степени определяется физиологическим состоянием животного) устанавливали в пери-

од убоя. При обследовании туш и шкур от всех животных оценивалась степень упитанности и степень зараженности. Упитанность оценивалась в баллах: вышесредняя – 4, средняя – 3, ниже средней – 2, тощая – 1 (таблица 4).

Непосредственный вред оленю причиняют личинки и имаго. Патогенное действие личинок начинается с первых минут их жизни. У пораженных личинками животных заметно снижается упитанность. Многочисленные свищевые отверстия нарушают функцию кожи. Отмечается даже гибель наиболее пораженных животных. После выпадения личинок нередко наблюдается вторичное заселение подкожных капсул личинками мух [6].

Изучая особенности биологии подкожного овода в Мурманской области, следует от-

Таблица 3

**Пораженность оленей личинками подкожного овода в различных климатических зонах**

Хозяйство	Осмотрено шкур (шт.)	Из них поражено личинками (шт.)	Всего учтено личинок (шт.)	ИИ (в среднем на голову) (шт.)	ЭИ, %
Зона выпаса – арктические тундры					
СХПК «Оленевод»	2015/2016				
	155	128	14862	116,1	82,5
	2016/2017				
	95	81	7942	98	85,2
СХПК «Тундра»	2015/2016				
	122	67	5748	85,8	54,9
	2016/2017				
	100	86	7941	92,3	86,0
Зона выпаса – лесотундра					
Община «Пуаз»	2014/2015				
	25	24	4039	168,3	96,0
	2015				
	34	32	5741	179,4	94,1

Таблица 4

**Инвазированность северных оленей личинками подкожного овода в зависимости от упитанности в СХПК «Тундра»**

Упитанность животных	Баллы	Количество обследованных животных, гол.	Количество животных пораженных личинками, гол.	ЭИ, %
Вышесредняя	4	53	23	43,0
Средняя	3	35	19	54,0
Ниже средней	2	21	18	86,0
Тощая	1	15	15	100,0

метить, что продолжительность лёта оводов довольно длительная и зависит от погодных условий, из которых самыми важными являются температура воздуха и скорость ветра и, как следствие природно-климатической зоны, в которой выпасаются животные (таблица 5).

Оценивая динамику лёта и активности подкожного овода в оленеводческих бригадах в тундровой и лесотундровой зонах, следует отметить, что первое появление мух в лесотундре регистрировали на 13-20 дней раньше, чем в тундре, а окончание лета соответственно на 5-10 дней позже. Следует особо выделить, что количество дней массового лета насекомых в лесотундре на 11-12 дней больше, чем в тундровой зоне, по всей видимости, это определяет более высокую пораженность личинками подкожного овода оленей, выпасающихся в лесотундровой зоне.

Необходимо отметить, что с изменением климатических условий в сторону потепления (ранняя весна) или похолодания (поздняя весна), сроки начала лёта могут сдвинуться на более ранние или более поздние.

Суточный ритм активности оводов зависит от времени суток и, конечно, от факторов

внешней среды, от скорости ветра и температуры воздуха.

Наши исследования показали, что в начале летного периода (в июне) самки подкожного овода появлялись у стада оленей с 6-7 ч., максимальная численность насекомых регистрировалась с 11-16 ч., и прекращался лёт обычно в 20-21 ч. В июле-августе лет оводов начинался с 6-7 ч., и заканчивался в 21-22 ч. В период массового лёта появление первых оводовых мух отмечено в 2 часа ночи с постепенным нарастанием их количества. Максимальной численности они достигли к 12-15 часам, после чего их активность сокращалась. В конце лета (августе) оводовые мухи начинали проявлять свою активность с 10-11 часов, а в 16-17 ч. лет прекращался, чему способствовало понижение температуры.

**Цефеномийоз.** Результаты оценки эпизоотической ситуации по носоглоточной инвазии северных оленей в Мурманской области представлены в таблицах 6 – 9.

По результатам представленных в таблицах, как и в аналогичных таблицах по подкожному оводу прослеживается зависимость зараженности оленей личинками носогло-

**Таблица 5**

**Сроки лёта имаго подкожного овода в тундровой и лесотундровой зонах в Мурманской области**

Природная зона	Дата начала лёта	Дата окончания лёта	Общая продолжительность лёта, дн.	Кол-во дней массового лёта
2016				
Лесотундра	15.06	20.08	65	38
Тундра	5.07	15.08	40	27
2017				
Лесотундра	02.07	05.09	63	34
Тундра	15.07	25.08	41	22

**Таблица 6**

**Пораженность оленей личинками носоглоточного овода в СХПК «Оленевод» в 2016/2017 г.**

Половозрастные группы оленей	Осмотрено гол.	Из них поражено личинками (шт.)	Всего учтено личинок (шт.)	ИИ (в среднем на голову) (шт.)	ЭИ, %
Транспортные олени	23	19	958	50,4	82,6
Быки производители	15	5	156	31,2	33,3
Важенки	15	7	264	37,7	46,6
Телята	31	28	1471	52,5	90,3
Итого:	84	59	2849	48,2	70,2

точного овода от погодных условий, технологии эксплуатации оленей, возраста, физиологического состояния.

Так, по половозрастным группам, больше всего с личинками носоглоточного овода регистрировали животных в группах телят текущего года рождения и транспортных быков (91,4 и 84,0% соответственно). При сравнении животных с различной упитанностью отмечено, что зараженность оленей тощей упитанности в 1,8 раза превышала инвазированность оленей вышесредней упитанности. Экстенсивность инвазии оленей, выпасаю-

щихся в лесотундровой зоне, почти на 20% превосходила экстенсивность инвазии оленей, которых выпасали в тундровой зоне.

Изучая особенности биологии носоглоточного овода в Мурманской области установлено, что, лёт *C. trompe* начинался в конце июня – начале июля, на несколько дней позже, чем у подкожного овода, и заканчивался в первой-второй декаде августа, на несколько дней раньше, чем у подкожного овода (таблица 10).

Колебания в сроках начала лёта зависели от погодных условий. В жаркие безветрен-

**Таблица 7**

**Пораженность оленей личинками носоглоточного овода в СХПК «Тундра» в 2016/2017**

Половозрастные группы оленей	Осмотрено гол.	Из них поражено личинками (шт.)	Всего учтено личинок (шт.)	ИИ (в среднем на голову) (шт.)	ЭИ, %
2016/2017					
Транспортные олени	25	21	989	47,1	84,0
Быки производители	17	6	163	27,2	35,3
Важенки	15	6	218	36,3	40,0
Телята	35	32	1581	49,4	91,4
Итого:	92	65	2951	45,4	70,6

**Таблица 8**

**Пораженность северных оленей личинками носоглоточного овода в зависимости от упитанности в СХПК «Тундра»**

Упитанность животных	Баллы	Количество обследованных животных	Количество животных, пораженных личинками, гол.	ЭИ, %
Вышесредняя	4	15	8	53,3
Средняя	3	14	9	64,3
Ниже средней	2	16	11	68,8
Тощая	1	14	13	92,8

**Таблица 9**

**Пораженность оленей личинками носоглоточного овода в различных климатических зонах**

Хозяйство	Осмотрено гол.	Из них поражено личинками (шт.)	Всего учтено личинок (шт.)	ИИ (в среднем на голову) (шт.)	ЭИ, %
Зона выпаса – арктические тундры					
СХПК «Оленевод»	95	81	7942	98,0	85,2
СХПК «Тундра»	92	65	2951	45,4	70,6
Зона выпаса – лесотундра					
Община «Пуаз»	15	14	1512	108,0	93,3

Сроки лёта имаго носоглоточного овода в тундровой и лесотундровой зонах в Мурманской области

Природная зона	Дата начала лёта	Дата окончания лёта	Общая продолжительность лёта, дн.	Кол-во дней массового лёта
2016				
Лесотундра	22.06	17.08	56	25
Тундра	13.07	10.08	28	18
2017				
Лесотундра	12.07	25.08	63	20
Тундра	22.07	20.08	41	14

ные дни он достигал максимума. Нормальную активность нарушали переменная облачность, сильный ветер и осадки.

Носоглоточный овод ветроустойчив, слабый лёт его наблюдался даже при ветре 8 - 16 м/с. Установлено, что нижним температурным порогом активности мух носоглоточного овода являлась температура +4 - +6°C, верхним +30 - +31°C.

Динамика суточной активности носоглоточного овода непостоянна. В период массовой активности насекомых появление первых мух носоглоточника отмечено в 2 часа ночи, а максимальное их количество в тихую безветренную погоду зарегистрировано в 13 часов дня, после чего численность оводов резко снижалась, и к 24 часам лёт насекомых прекращался.

В последующие дни лёт начинался в 7-8 ч, а заканчивался в 19-21 ч, а в конце сезона первых оводов отмечали в 10-11 часов, и последних – в 15-18 ч.

Таким образом, анализируя результаты проведенных исследований по биологии и фенологии оводов, необходимо отметить, что насекомые постоянно регистрируются в оленеводческих стадах в летний период. Первые оводы появляются в конце июня, начале июля, а массовый лет насекомых приходится на конец июля, начало августа.

Следует отметить ярко выраженную зависимость численности насекомых от метеорологических условий.

В связи с этим, животные оленеводческих бригад, которые выпасаются в тундровой зоне, в меньшей степени подвергаются

нападению оводов, так как метеорологические условия в этой части региона неблагоприятны для продолжительного лета насекомых. И наоборот, олени в бригадах, которые выпасаются в лесотундровой зоне, подвергаются большей степени нападению *O. tarandi* и *C. trompe*.

### Заключение

1. Во всех обследованных оленеводческих хозяйствах Мурманской области регистрируется эдемагеноз и цефеномийоз.

2. Биологические особенности паразитов и паразитирования в большей степени связаны с природно-климатическими условиями, технологическими особенностями ведения оленеводства и с качеством ветеринарно-профилактических мероприятий.

3. Зараженности оленей эдемагенозом и цефеномийозом зависит от места выпаса животных. Олени, которые выпасаются в лесотундровой зоне, на 15-20% чаще поражены личинками овода, чем выпасающиеся в зоне арктической тундры.

4. Холодное лето и длительные ветра в значительной степени ограничивают лёт насекомых, что также сказывается на степени зараженности животных личинками оводов.

5. Технологические особенности ведения оленеводства в Мурманской области (вольный выпас) не позволяют проводить инсектицидно-репелентные обработки в летний период, поэтому количество личинок оводов на шкурах животных 1,5-2 раза больше, чем у обработанных оленей.



## Список литературы

1. Бреев, К. А. Методы учета динамики численности кожного овода / К. А. Бреев // Вопросы оленеводства. – 1956. – №2. – С. 174-185.
2. Беляев, В. И. Диагностика, профилактика и терапия болезней животных на Крайнем Севере / В. И. Беляев, П. С. Назарова. Новосибирск. – 1983. – С. 95-98.
3. Лещёв, М. В. Эпизоотология инвазионных болезней северных оленей в Ямало-Ненецком автономном округе : дис. ... канд. вет. наук. Тюмень, – 2008. – 22 с.

4. Казановский, Е. С. Ветеринарная наука на службе северного оленеводства / Е. С. Казановский. Печора. – 2013. – 191 с.
5. Брюшинин, П. И. Изучение биологии подкожного овода северных оленей и разработка мер борьбы с ними Большеземельской тундре : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 1970. – 21 с.
6. Курзаев, Г. М. Динамика выпадения личинок подкожного овода северного оленя в таёжной зоне / Г. М. Курзаев // Тр. НИИСХ Крайнего Севера. – 1976. – С. 88-92.

## ПРЕДСТАВЛЯЕМ КНИГУ:

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

Издательство: ЧОУДПО «Институт Ветеринарной Биологии», Санкт-Петербург, 2016

Тираж: 500 экз.

Формат: 210 x 297 мм, твёрдый переплет, 760 с. с илл.

Данная монография обобщает многолетний опыт работы сотрудников Института Ветеринарной Биологии в области УЗИ и рентгенодиагностики, а также многолетний опыт проведения курсов повышения квалификации для ветеринарных специалистов по УЗИ и рентгенологии.

Кроме текстовой информации, изложенной в доступной форме, книга содержит большое количество иллюстрационного материала: оригинальные схемы, облегчающие понимание сложных процессов, сканы ультразвуковых исследований, рентгеновские снимки, фотографии макро- и гистопрепаратов.

**Одной из отличительных особенностей данного издания является то, что материал, представленный в книге, дан в сравнительном аспекте. Органы и системы, норма и патология описаны с точки зрения УЗИ, рентгеновского исследования и показаны в виде макропрепаратов.**

Книга рассчитана на ветеринарных специалистов, работающих в области ультразвуковой и рентгенологической диагностики, на врачей общей практики, а также студентов, планирующих специализацию в области УЗИ и рентгенодиагностики.

#### Стоимость:

Розничная цена 1 экз. – 9600 руб.

Для оптовых покупателей – система скидок.

#### Где купить в Санкт-Петербурге:

Институт Ветеринарной Биологии по адресу: ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б (ст. м. "Чкаловская")  
Т. 812 232-55-92 [invetbio@mail.ru](mailto:invetbio@mail.ru).



**По вопросам оптового приобретения книг и журналов издательства ЧОУДПО «Институт Ветеринарной Биологии» обращаться по e-mail: [invetbio@mail.ru](mailto:invetbio@mail.ru); т. (812) 232-55-92.**

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10021

УДК 619: 612.124:57.082.26.

Ключевые слова: биологическая активность гидролизата белков крови, аминокислотный азот, полипептиды, интенсивность прироста клеток

Key words: biological activity of blood protein hydrolysate, amino nitrogen, polypeptides, intensity of cell population growth

**М.Н. Гусева, М.А. Шевченко, М.И. Доронин, Д.В. Михалишин, О.Е. Федорова, Н.Д. Клюкина**

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛИЗАТОВ БЕЛКОВ КРОВИ COMPARATIVE ANALYSIS OF BLOOD PROTEIN HYDROLYSATE ACTIVITY

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец  
Federal State-Financed Institution "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), 600901, Russia, Vladimir, mcr. Yur'evets

Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУ "ВНИИЗЖ". E-mail: guseva\_mn@arriah.ru  
*Guseva Marina Nikolayevna, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, FGBI "ARRIAH". E-mail: guseva\_mn@arriah.ru*

Шевченко Максим Александрович, ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ». E-mail: shevchenko\_ma@arriah.ru  
*Shevchenko Maxim Alexandrovich, Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH". E-mail: shevchenko\_ma@arriah.ru*

Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, научный сотрудник ФГБУ "ВНИИЗЖ". E-mail: midarriah89@arriah.ru

*Doronin Maxim Igoryevich, Candidate of Science (Biology), Researcher, FGBI "ARRIAH". E-mail: midarriah89@arriah.ru*

Михалишин Дмитрий Валерьевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура, ФГБУ "ВНИИЗЖ". E-mail: mihalishindv@arriah.ru  
*Mikhailishin Dmitry Valeryevich, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH". E-mail: mihalishindv@arriah.ru*

Федорова Ольга Евгеньевна, аспирант, технолог 1 категории, ФГБУ «ВНИИЗЖ». E-mail: fedorova@arriah.ru  
*Fedorova Olga Yevgenyevna, PhD Student, Category 1 Technologist, FGBI "ARRIAH". E-mail: fedorova@arriah.ru*

Клюкина Надежда Дмитриевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ». E-mail: klukina@arriah.ru  
*Klyukina Nadezhda Dmitrievna, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, FGBI "ARRIAH". E-mail: klukina@arriah.ru*

**Аннотация.** В статье приведен сравнительный анализ биологической активности серий гидролизата белков крови (ГБК), полученных для использования в производстве противоящурных вакцин в 2017-2018 гг. При исследовании активности ГБК в концентрации 0,25% высокоактивными признаны 67 серий (46%), удовлетворительными – 79 серий (54%). Всего одна серия (0,7%) была выбракована. Высокая токсичность серий гидролизата не выявлена. Количество аминокислотного азота в исследуемых образцах варьировало от 0,94 до 1,12±0,02%. Было отмечено, что его количество влияло на пролиферацию клеток ВНК-21.

Массовая доля сухого остатка в продуктах гидролиза белков крови колебалась от 9,49 до 10,2±0,07%. Содержание полипептидов находилось в диапазоне от 39,98±1,53 до 48,00. При исследовании влияния данного количества полипептидов на рост клеток линии ВНК-21 существенные различия не обнаружены.

Практически все серии гидролизата белков крови, поступившие для производства противоящурных вакцин, были не токсичны, пригодны для выращивания клеток ВНК-21 и обладали высоким или удовлетворительным уровнем биологической активности.

**Summary.** The article represents the results of the comparative analysis of biological activity of blood protein hydrolysate (BPH) batches produced for FMD vaccine formulation in 2017-2018. Tests of 0.25% BPH demonstrated high activity in 67 batches (46%) and satisfactory activity in 79 batches (54%). Only one batch (0.7%) was discarded. No high toxicity of hydrolysate batches was identified.

The amino nitrogen content in the tested samples varied from 0.94 to 1.12±0.02%. Its amount was demonstrated to have an effect on BHK-21 cell proliferation. The dry residue mass fraction in blood protein hydrolysate products ranged from

9.49 to 10.2±0.07%. The polypeptide content ranged from 39.98±1.53 to 48.00. Studies of the effect of such polypeptide amount on BHK-21 cell growth did not demonstrate any significant differences. Nearly all batches of blood protein hydrolysate supplied for FMD vaccine production were non-toxic and suitable for BHK-21 cell growth. They also demonstrated high or satisfactory level of biological activity.

### Введение

В последнее время в клеточной биотехнологии четко определено и интенсивно развивается направление, связанное с конструированием питательных сред, содержащих в качестве ростовой аминокислотной пептидной составляющей гидролизаты белкового сырья [3, 8, 9].

Белковые гидролизаты представляют собой продукты расщепления белка до аминокислот, ди- и трипептидов. Гидролизаты обычно содержат 16-20 аминокислот в вариabельной концентрации, а также пептиды разной молекулярной массы [3].

Предложено много препаратов этой группы. Большинство из них получено путем глубокого расщепления протеина до аминокислот при воздействии на сырье концентрированных кислот. Известны три метода гидролиза белков — кислотный, щелочной, энзимный (ферментативный). При всех этих видах гидролиза полипептиды расщепляются на составные части, однако продукты гидролиза различны.

Кислотный и щелочной гидролиз осуществляется в процессе кипячения белка с концентрированными растворами кислот и щелочей. Эти способы гидролиза являются грубыми и часто вызывают рацемизацию аминокислот (превращение природных L-форм в неусваиваемые организмом D-формы), разрушение ароматических аминокислот, их частичное дезаминирование (отщепление NH<sub>2</sub>-группы от аминокислоты) и, как следствие, ослабление или потерю биологической и физиологической ценности, а также снижение фармакологической активности аминокислот [5, 7].

В отличие от кислотного и щелочного ферментативный гидролиз, протекающий при умеренной температуре (37-55°C), мягко воздействует на белок, не вызывая рацемизацию аминокислот и разрушение триптофана. Кроме того, он обеспечивает сохранность биологически активных веществ (витаминов,

нуклеиновых и желчных кислот). Учитывая, что ферментативный гидролиз протекает медленно, требуется гораздо больше времени для получения препарата, лишённого нативного белка, полипептидов и пептидов. Ферментативные гидролизаты получают, инкубируя белковое сырье (казеин, кровь, фибрин) с протеолитическими ферментами. При этом не всегда удается полностью расщепить протеины в этих условиях. По этой причине введение во внутреннюю среду организма в медицинских целях ферментных гидролизатов часто сопровождается анафилактическими реакциями, а также развитием микрофлоры и выделением токсических продуктов при использовании в области биотехнологии [4, 7].

В нашей стране широко используются гидролизаты из белков крови животных, главным образом, крупного рогатого скота (КРС). Кровь является лучшим сырьем, поскольку содержит 18 % полноценного белка, а также минеральные вещества, которые остаются в готовом препарате [3].

Ферментативный гидролиз белков крови включает в себя несколько критических этапов, которые могут достаточно сильно влиять на химические и биологические свойства конечного продукта:

- точность расчета необходимого количества железа и ее свежесть;
- использование при остановке процесса концентрированного раствора соляной кислоты;
- внесение хлористого кальция для коагуляции и осаждения крупномолекулярных продуктов гидролиза и гемовых пигментов;
- удаление избытка CaCl<sub>2</sub> путем введения в гидролизат двузамещенного фосфата натрия;
- применение хлороформа в качестве бактериостатика.

Малейшие отклонения в силу различных причин от технологического процесса могут привести к появлению токсичности гидро-

лизата белков крови, снижению ростовых свойств питательных сред, в составе которых используется ГБК вплоть до гибели клеток [1, 6]. По этим причинам в биотехнологическом производстве важен контроль входящего сырья, в данном случае, оценка качества серий ГБК.

Целью исследования был сравнительный анализ химической и биологической активности серий гидролизата белков крови, полученных в 2017-2018 гг.

## Материалы и методы

*Клеточная линия.* В работе использовали суспензионную клеточную линию из почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21) с 1 и 2 пассажей и концентрацией не ниже  $3,0 \times 10^6$  кл/см<sup>3</sup>.

*Среда для культивирования клеток.* Для выращивания клеток линии ВНК-21 применяли культуральную среду на основе раствора Хэнкса, содержащую необходимый для роста клеток набор солей, аминокислот, витаминов, в сочетании с 5 % фетальной сыворотки крови КРС фирмы SERANA, инактивированной при температуре 56°C в течение 30 минут, а также исследуемый ГБК. Стерилизацию ГБК проводили паровоздушным методом путем автоклавирования при температуре  $(132 \pm 2)^\circ\text{C}$ , при давлении 0,2 МПа в течение 1 ч.

*Определение биологической активности гидролизатов белков крови.*

Выращивание клеток осуществляли в культуральных флаконах с приготовленным раствором питательной среды и посевной концентрацией клеток  $0,4-0,7 \times 10^6$  кл/см<sup>3</sup>. Для оценки биологической активности ГБК тестировали в двух концентрациях: 0,25 и 0,50% по сухому веществу. Инкубацию клеток осуществляли в стеклянных культиваторах, помещенных в термостатируемый шейкер Incubation Schüttelschrank BS 4 со скоростью перемешивания суспензии  $150 \pm 5$  об/мин и при температуре  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Показатель кислотности клеточной суспензии поддерживали в диапазоне 7,0-7,2 с использованием стерильного 7,5%-ого раствора гидрокарбоната натрия. Пересев клеток проводили через каждые 48 ч в течение 5 последовательных пассажей.

*Оценка интенсивности прироста клеток.* Концентрацию клеток ВНК-21 в суспензии определяли с помощью камеры Горяева для счета форменных элементов крови. Количество клеток в 1 см<sup>3</sup> суспензии рассчитывали по формуле [2]:

$$X = \frac{A \cdot B \cdot 4000}{3600} \times 1000, \text{ где}$$

X – количество клеток в 1 см<sup>3</sup>,  
A – общее количество клеток в камере,  
B – разведение суспензии.

Увеличение концентрации клеток оценивали по интенсивности прироста (ИП), пользуясь формулой:

$$\text{ИП} = a/b, \text{ где}$$

a – концентрация клеток через 48 ч после посева,

b – посевная концентрация клеток.

*Интерпретация результата исследования биологической активности ГБК.* Оценка качества гидролизата белков крови по значению ИП проводилась следующим образом:

- если среднее значение ИП за пять пассажей составляло 4,5-5,0, то ГБК считали биологически активным;
- если ИП находилось в диапазоне от 3,0 до 4,5, то гидролизат считали удовлетворительным;
- если ИПср ниже 3,0, то ГБК выбраковывался.

Токсичность гидролизата белков крови оценивали следующим образом: если на протяжении пяти последовательных пассажей клетки ВНК-21 оставались живыми (в 4 и 5 пассаже допускалось не менее 60%), то такой ГБК считался нетоксичным.

В противном случае ГБК выбраковывали.

*Исследование химической активности ГБК.* Массовые доли сухого остатка, аминного азота и полипептидов определяли согласно ТУ 100913791 от 1991 г.

*Статистическая обработка данных.* Для статистической обработки полученных результатов вычисляли значение средней арифметической и ее ошибку. Степень различия между средними значениями двух выборок оценивали с помощью критерия Стьюдента (t). Уровень значимости отражал степень достоверности полученных данных и показы-



вал вероятность случайного возникновения исследуемых показателей [2]. Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel.

**Результаты исследований и обсуждение**

В течение года было исследовано 146 серий гидролизатов белков крови. При анализе биологической активности ГБК в концентрации 0,25% интенсивность прироста клеток в пяти последовательных пассажах, равную 4,5-5,0, имели 67 серий (46%), ИП 3,0-4,5 – 79 серий (54%). Всего одна серия (0,7%) ГБК имела среднюю интенсивность прироста, равную 3,0. При исследовании ГБК в концентрации 0,50% ИП свыше 4,5 имели 95 серий (65%), ИП 3,0-4,5 – 46 серий (31,5%), ИП ниже 3,05 (3,5%) – 5 серий. Результаты исследований отражены на рисунке 1 и в таблице 1.

В более ранних исследованиях был проведен анализ различных серий ГБК согласно ТУ 100913791 от 1991 г. [9]. Серии ГБК проверяли на количество сухого остатка (%), аминного азота (%), полипептидов (%). Было отмечено, что количество аминного азота влияло на пролиферацию клеток линии ВНК-21. Так, при концентрации аминного азота до 1,0 % индекс пролиферации составлял  $4,88 \pm 0,13$  (n=166), свыше 1,0 % –  $4,45 \pm 0,13$  (n=134). Для всех указанных групп различия существенны ( $p \leq 0,001$ ). При исследовании

Таблица 1

**Биологическая активность различных серий ГБК**

Содержание ГБК, %	Количество серий		
	ИП		
	свыше 4,5	3,0-4,5	ниже 3
0,25	67 (46%)	79 (54%)	1 (0,7)
0,50	95 (65%)	46 (31,5%)	5 (3,5%)

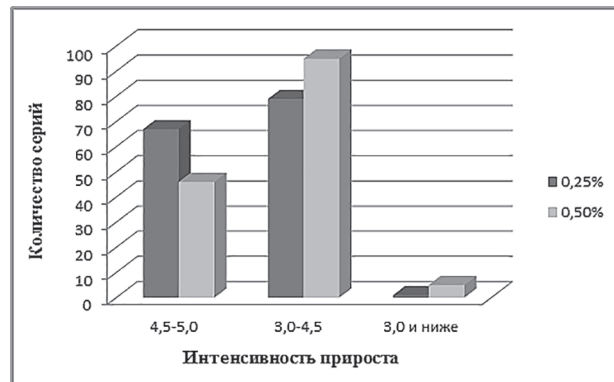


Рис. 1. Биологическая активность 146 серий гидролизата белков крови

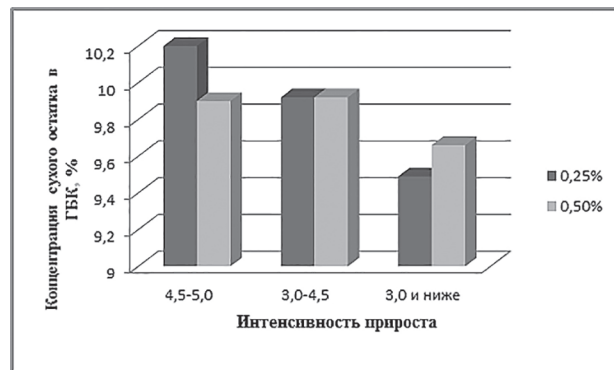


Рис. 2. Зависимость интенсивности прироста клеток ВНК-21 от концентрации сухого остатка в ГБК

Таблица 2

**Зависимость интенсивности прироста клеток линии ВНК-21 от химических показателей ГБК (сухого остатка, аминного азота, количества полипептидов)**

Концентрация ГБК, %	Интенсивность прироста								
	свыше 4,5			3,0-4,5			ниже 3		
	показатели химического анализа								
	Сухой остаток (%)	Аминный азот (/%)	% полипептидов	Сухой остаток (%)	Аминный азот (/%)	% полипептидов	Сухой остаток (%)	Аминный азот (/%)	% полипептидов
0,25 М	10,20	1,12	41,32	9,92	1,08	42,29	9,49	0,94	48
m	0,07	0,02	1,21	0,09	0,08	0,96	0	0	0
N	67	67	67	79	79	79	1	1	1
0,50 М	9,90	1,12	39,98	9,92	0,98	42,73	9,66	0,96	41,8
m	0,23	0,02	1,53	0,1	0,02	0,84	0,15	0,04	3,44
N	46	46	46	95	95	95	5	5	5

довании влияния количества полипептидов на рост клеток линии ВНК-21, существенные различия обнаружены не были [9].

Аминный азот в ГБК (%) – азот, входящий в свободные аминогруппы –NH<sub>2</sub> аминокислот и других продуктов гидролиза белков. Его определяют при изучении активности протеолитических ферментов, состава форм азотистых соединений в сырье, полупродуктах и готовой продукции [3].

Аминокислоты служат донорами аминного азота при синтезе всех азотсодержащих небелковых соединений: нуклеотидов, гема, креатина, холина и других веществ [3].

При сравнении биологической активности ГБК и его химических показателей также выявили зависимость между количеством аминного азота и интенсивностью прироста клеток. Так, при ИП свыше 4,5 количество аминного азота было  $1,12 \pm 0,02$  %, а при ИП ниже 3,0 –  $0,94-0,96$  % (различия существенны,  $p \leq 0,001$ ). Результаты анализа представлены в таблице 2 и на рисунке 3.

Таким образом, можно предположить, что азот, входящий в свободные аминогруппы –NH<sub>2</sub> аминокислот и других продуктов гидролиза белков, является важным элементом для питания и роста клеточной популяции.

Полипептиды в ГБК (%) – полимеры, состоящие из остатков аминокислот, связанных между собой пептидными связями. Условно считается, что полипептиды – это полимеры, содержащие от 50 аминокислотных остатков с молекулярной массой более 5000-10000 Да [3].

В исследуемых сериях ГБК количество полипептидов колебалось от  $39,98 \pm 1,53$  до 48 % (таблица 2, рисунок 4), данное содержание пептидов не влияло на интенсивность прироста клеточной популяции.

Сухой остаток в ГБК (%) — высушенные компоненты, остающиеся после выпаривания 1 дм<sup>3</sup> гидролизата белков крови. Данный показатель характеризует общее содержание примесей, как растворенных, так и взвешенных, без газов и летучих веществ [3].

При сухом остатке свыше 10% интенсивность прироста возрастала при использовании ГБК в концентрации 0,25%. Так, при ИП свыше 4,5 сухой остаток составлял 10,20%,

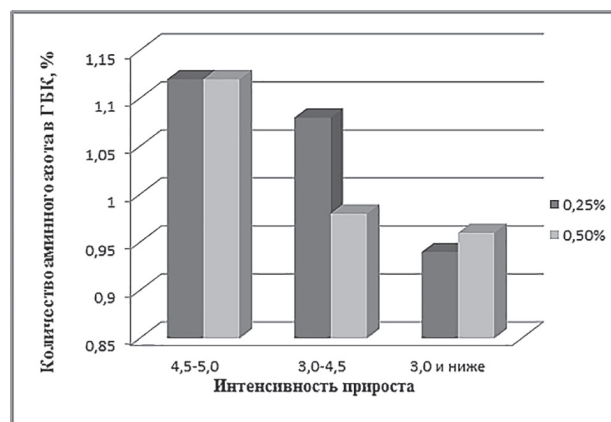


Рис. 3. Зависимость интенсивности прироста клеток ВНК-21 от количества аминного азота в ГБК

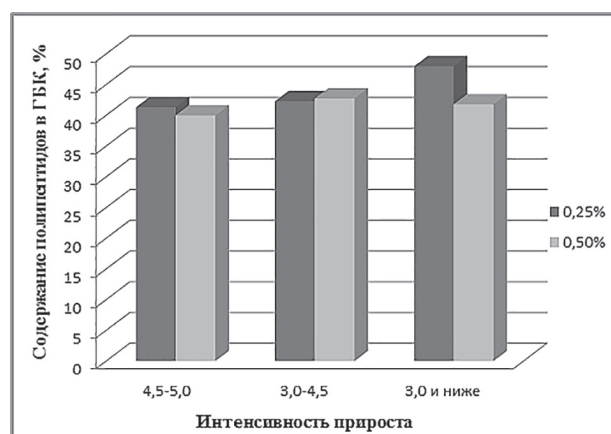


Рис. 4. Зависимость интенсивности прироста клеток ВНК-21 от содержания полипептидов в ГБК

а при ИП 4,5 и ниже –  $9,49-9,90$ % (таблица 2, рисунок 2).

При использовании ГБК в концентрации 0,50% существенные различия не были обнаружены. Вероятно, при использовании ГБК в большей концентрации влияние на рост и развитие клеток оказывала небольшая токсичность препарата. Токсичность ГБК при использовании в концентрации 0,50% проявлялась в увеличении числа мертвых клеток (иногда до 20%) на этапе 4-5 пассажей. В методических рекомендациях по оценке биологической активности гидролизата белков крови допускается присутствие на этих пассажах до 40% мертвых клеток. В этом случае серию гидролизата можно использовать в производственных целях.

## Заключение

Провели исследование 146 серий гидролизата белков крови. Установили, что при оценке биологической активности ГБК

в концентрации 0,25% высокоактивными были признаны 67 серий (46%), удовлетворительными – 79 серий (54%). Всего одна серия (0,7%) была забракована. Высокая токсичность серий гидролизата не была выявлена.

Количество аминного азота варьировало от 0,94 до 1,12±0,02%. Выявили зависимость между количеством аминного азота в ГБК и интенсивностью прироста клеток линии ВНК-21.

Процент сухого остатка в ГБК колебался от 9,49 до 10,2±0,07%. Было замечено, что при количестве сухого остатка свыше 10% интенсивность прироста клеток возрастала при использовании ГБК в концентрации 0,25%. При содержании ГБК в питательной среде с концентрацией 0,5% существенные различия не были обнаружены.

В исследуемых сериях ГБК процент полипептидов колебался от 39,98±1,53 до 48%. Данное количество пептидов не влияло на интенсивность прироста клеточной популяции.

Таким образом, серии ГБК, поступившие для производства противоящурных вакцин, практически все были пригодными

для использования в питательных средах, не токсичны и обладали высоким или удовлетворительным уровнем биологической активности.

## Список литературы

1. Гидролизат белков крови ферментативный. Технические условия. / СТО 63462173-0002-2010. – Владимир, 2010.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
3. Животная клетка в культуре (Методы и применение в биотехнологии) / под ред. Л.П. Дьяконова. – М.: Компания Спутник+, 2009. – 656 с.
4. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера. Т. 1. Основы биохимии, строение и катализ. – М.: Бином, 2011. – 633 с.
5. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера. Т. 2. Биоэнергетика и метаболизм. – М.: Бином, 2011. – 694 с.
6. Технологический Регламент на производство гидролизатов белков крови. – Владимир, 1991. – 124 с.
7. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии: Учеб. для хим. и биол. спец. пед.ун-тов. – М.: Агар, 1999. – 512 с.
8. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 691 с.
9. Юрчишин В.Д., Михалишин В.В., Гусева М.Н. Влияние сроков хранения гидролизатов белков крови на пролиферативную активность ВНК-21/2-17 и репродукцию вируса ящура // Ветеринария и кормление. – 2011. – № 6. – С. 51-53.

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

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

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10022

УДК 619:616.98:578.835.2:615.371

Ключевые слова: вирус ящура, вакцина, иммуногенность *in vitro*, заражение

*Key words: foot-and-mouth disease virus, FMD, vaccine, immunogenicity in vitro, infection*

Лозовой Д.А., Михалишин Д.В., Стариков В.А., Доронин М.И., Шишкова А.А., Шарыпов А.С., Борисов А.В.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ МОНОВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ «АРРИАХ-ВАК»,  
РАЗРАБОТАННОЙ НА ОСНОВЕ ШТАММА O/KOR/JC02D1/14 (O/JINCHEON/2014)  
ВИРУСА ЯЩУРА**

*EFFECTIVENESS OF MONOVALENT VACCINE «ARRIAH-VAC»  
FROM STRAIN O/KOR/JC02D1/14 (O/JINCHEON/2014)  
AGAINST FOOT-AND-MOUTH DISEASE*

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

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

*Federal Centre for Animal Health, Federal Governmental Budgetary Institution*

*Address: 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets*

Лозовой Д.А., к.в.н., директор. E-mail: lozovoy@arriah.ru

*Lozovoy D.A., PhD in Veterinary Science, Director. E-mail: lozovoy@arriah.ru*

Михалишин Д.В., к.в.н., зав. лабораторией. E-mail: mihalishindv@arriah.ru

*Michalishin D.V., PhD in Veterinary Science, Head of the Laboratory. E-mail: mihalishindv@arriah.ru*

Стариков В.А., к.в.н., вед. науч. сотрудник. E-mail: starikov@arriah.ru

*Starikov V.A., PhD in Veterinary Science, Leading Researcher. E-mail: starikov@arriah.ru*

Доронин М.И., к.б.н., науч. сотрудник. E-mail: midarriah89@mail.ru

*Doronin M.I., PhD in Biological Science, Researcher. E-mail: midarriah89@mail.ru*

Шишкова А.А., к.в.н., главный технолог. E-mail: shishkova@arriah.ru

*Shishkova A.A., PhD in Veterinary Science, Chief Technologist. E-mail: shishkova@arriah.ru*

Шарыпов А.С., ведущий ветеринарный врач. E-mail: sharipov@arriah.ru

*Sharipov A.S., Leader Veterinarian. E-mail: sharipov@arriah.ru*

Борисов А.В., к.в.н., вед. науч. сотрудник. E-mail: borisov@arriah.ru

*Borisov A.V., PhD in Veterinary Science, Leading Researcher. E-mail: borisov@arriah.ru*

**Аннотация.** В данной статье описано исследование, посвященное оценке эффективности противоящурной вакцины из штамма O/Jincheon/2014 генетической линии SEA/Mya-98 против гомологичного и гетерологичного вируса ящура O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016, применяющейся с целью профилактической иммунизации животных в Южной Корее. Разработанная вакцина авирулентна, безвредна и иммуногена. Проведено исследование иммуногенной и протективной активности против гомологичного вируса ящура O/Jincheon/2014 на свиньях. Протективная активность противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 против гомологичного вируса ящура составила 50 PD<sub>50</sub> в прививной дозе. Протективная активность той же вакцины против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 имела высокое значение и составила у КРС 18 PD<sub>50</sub>, а у свиней – 15 PD<sub>50</sub>. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования разработанной вакцины для профилактической вакцинации животных и предупреждения возникновения чрезвычайных ситуаций на свободных от ящура территориях, где высоки риски занесения вируса ящура типа O генетической линии SEA/Mya-98, а также ME-SA/Ind-2001d.

**Summary.** This article describes an analysis to the efficiency of the foot-and-mouth (FMD) disease vaccine from the strain O/Jincheon/2014 genetic line SEA/Mya-98 against homologous and heterologous FMD virus O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016, used for preventive immunization of animals in South Korea. The developed vaccine is avirulent, harmless and immunogen. The research of immunogenic and protective activity against homologous FMD virus O/Jincheon/2014 in pigs. The protective activity of monovalent emulsion vaccine "ARRIAH-VAC" from strain O/Jincheon/2014 against homologous FMD virus was 50 PD<sub>50</sub> in the inoculated dose. The protective activity of the same vaccine against the heterologous strain O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 was high and amounted to 18 PD<sub>50</sub> in cattle and 15 PD<sub>50</sub> in pigs. The data obtained indicate the possibility of using this vaccine from the strain O/Jincheon/2014 for prophylactic vaccination of animals and preventing emergencies in FMD-free areas where the risks of introducing the genetic isolates ME-SA/Ind-2001d of the FMD virus are high.



### Введение

Ящур – высококонтагиозное вирусное заболевание парнокопытных животных, которое относится к категории трансграничных инфекций, вызывает эпизоотии и причиняет большой экономический ущерб животноводству многих государств. Возбудителем является безоболочечный РНК-содержащий вирус, принадлежащий к порядку *Picornavirales*, роду *Aphthovirus* семейства *Picornaviridae* [7]. Характерной особенностью вируса ящура является наличие 7 типов: О, А, С, Азия-1, SAT-1, SAT-2, SAT-3 и множества подтипов с различными генетическими и антигенными вариантами. Геном вируса кодирует четыре структурных и восемь неструктурных белков, вызывающих у животных выработку антител [4].

В настоящее время в мире существует семь экосистем (пулов) вируса ящура: 1 – Юго-Восточная Азия и Китай, 2 – Южная Азия, 3 – Ближний и Средний Восток, 4 – Западная и Центральная Африка, 5 – Восточная Африка, 6 – Южная Африка, 7 – Южная Америка. В каждом пуле циркулируют изоляты вируса ящура, отличающиеся друг от друга по своим генетическим и антигенным характеристикам. Сформировавшиеся, устойчивые генетические группы изолятов получили название топотипов (географических типов), в которых различают многочисленные генетические линии вируса [3].

Вспышки ящура в разных странах мира (Великобритания, Франция, Нидерланды, Болгария, Израиль, Тайвань, Северная и Южная Корея, Япония, Монголия и др.) свидетельствуют о постоянной угрозе занесения его возбудителя на территорию соседних государств. Обострение эпизоотической ситуации по ящуру обусловлено множеством факторов: высокой степенью мутационной изменчивости вируса и, как следствие, появлением новых изолятов, множеством путей передачи инфекции и высокой контагиозностью вируса, перемещением животных, в том числе диких, их случайными контактами на пастбищах и водопое, разными хозяйственно-экономическими и культурными связями, возросшим уровнем туризма и паломничества, военны-

ми конфликтами, движением автотранспорта, массовой миграцией людей [5].

Согласно отчетам Европейской комиссии по контролю ящура (EuFMD) и Всемирной справочной лаборатории МЭБ по ящуру (WRLFMD) года ящур типа О был выявлен в Южной Корее в феврале 2017 года у КРС в «Chungcheongbuk-Do» и «Jeollabuk-do» [2]. Полевой изолят Zabaikalskiy/2/RUS/2016 вируса ящура, выделенный в Забайкальском крае РФ от крупного рогатого скота, относится к генетической линии ME-SA/Ind-2001d. Другой полевой изолят, обнаруженный 06 февраля 2017 года в Jeonbuk (Южная Корея), принадлежит также к линии ME-SA/Ind-2001d и по последовательности нуклеотидов имеет высокую степень родства (99,7%) по отношению к изоляту Zabaikalskiy/2/RUS/2016 [2].

Цель исследования заключалась в определении антигенной и протективной эффективности противоящурной моновалентной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 (генетическая линия Муа-98 топотипа SEA) против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 (генетическая линия ME-SA/Ind-2001d) вируса ящура.

### Материалы и методы

**Вирус ящура.** В работе применяли культуральный вирус ящура штаммов O/Jincheon/2014 (генетическая линия Муа-98 топотипа SEA) и O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 (генетическая линия ME-SA/Ind-2001d). Для контрольного заражения применяли 10%-ную афтозную суспензию штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 и O/Jincheon/2014 вируса ящура адаптированного к восприимчивым животным.

**Животные.** В исследовании использовали крупный рогатый скот (КРС) голштино-фризской породы, массой 250-300 кг, в возрасте 9-12 месяцев, в количестве 22 голов. В исследовании использовали свиней породы ландрас, массой 30-40 кг, в количестве 17 голов.

**Вакцина.** В работе исследовали экспериментальную противоящурную моновалентную инактивированную эмульсион-

ную вакцину «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 с содержанием в прививном объеме не менее 6 PD<sub>50</sub>.

*Оценка авирулентности инактивированного антигена вируса ящура.* Авирулентность суспензии инактивированного вируса ящура контролировали инокуляцией монослойной перевиваемой клеточной линии почки свиньи (IB-RS-2).

*Тестирование вакцины на авирулентность с помощью КРС.*

Отобранную пробу экспериментальной моновалентной эмульсионной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 вируса ящура каждому из пяти животных вводили в 20 точек слизистой оболочки языка по 0,1 см<sup>3</sup> (прививная доза – 2,0 см<sup>3</sup>). Вакцина считается авирулентной, если все животные, которым был инокулирован препарат, в течение 6 суток оставались клинически здоровыми, без проявления клинических признаков, характерных для ящура.

*Оценка безвредности вакцины для КРС.*

Для тестирования вакцины на безвредность 5 головам КРС внутримышечно в область верхней трети шеи в дозе 6,0 см<sup>3</sup> (трехкратная доза) вводили препарат и наблюдали за клиническим состоянием животного в течение 6 суток. Вакцина признается безвредной в том случае, если все животные по итогам наблюдения остаются клинически здоровыми, и на месте введения препарата не происходит некроза тканей.

*Определение антител к неструктурным белкам вируса ящура на КРС.*

Для определения серонегативности к неструктурным белкам вируса ящура от животных до иммунизации отбирали кровь и тестировали полученные сыворотки с помощью блокирующего варианта иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с рекомендациями ОIE (МЭБ). На 14 день после начала испытаний на авирулентность и безвредность 5 головам КРС вводили усредненную из 3 флаконов пробу моновалентной эмульсионной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 вируса ящура в количестве одной прививной дозы в область верхней средней трети шеи внутримышечно. Через 14 суток после последней

вакцинации от животных производили отбор проб крови. Тестирование полученных сывороток проводили с использованием тест-системы для ИФА «PrioCHECK® FMDV NS ELISA for in vitro detection of antibodies against Foot and Mouth Disease Virus in serum of cattle, sheep and pigs» (Prionics Lelystad B.V., Нидерланды). Для контрольных и исследуемых образцов после проведения реакции на спектрофотометре-ридере измеряли значения оптических плотностей (ОП) и преобразовывали их в процент ингибиции, пользуясь формулой:

$$PI = (1 - \frac{ОПС}{ОПКО}) \times 100, \text{ где}$$

PI – процент ингибиции (%),

ОПС - оптическая плотность исследуемой сыворотки крови;

ОПКО – оптическая плотность отрицательного контроля.

Сыворотки крови КРС в отношении наличия антител к неструктурным белкам вируса ящура следует считать положительными, если значение PI ≥ 50%, отрицательными – при PI < 50%. При этом значение оптической плотности отрицательного контроля должно быть > 1,000. Процент ингибиции слабоположительного контроля должен составлять > 50,00%, положительного контроля – > 70,00% [6, 7].

*Определение титра вируснейтрализующих антител (ВНА).*

На 0 и 21 сутки после введения моновалентной эмульсионной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 от животных отбирали кровь и получали сыворотки, которые исследовали на наличие ВНА с применением реакции микронейтрализации (РМН) вируса. Постановку РМН для определения титра нейтрализующих антител против гомологичного штамма O/Jincheon/2014 и гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 вируса ящура осуществляли с использованием клеточной линии IB-RS-2 по стандартной процедуре [7].

*Оценка иммуногенности вакцины.*

Иммуногенность вакцины исследовали на 17 головах КРС и 34 головах свиней количественным методом с контрольным за-

ражением против гомологичного штамма O/Jincheon/2014 (генетическая линия Муа-98 топотипа SEA) и гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 вируса ящура (генетическая линия O/ME-SA/Ind-2001d). Для вакцинации животных готовили 3 образца: 1) моновалентную эмульсионную вакцину «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 вируса ящура без разведения, 2) вакцину, разбавленную «Плацебо» в соотношении 1:4 для КРС и 1:5 для свиней, 3) вакцину, разбавленную «Плацебо» в соотношении 1:16 для КРС и 1:25 для свиней. Приготовленные образцы вводили внутримышечно в верхнюю треть шеи в дозе 2,0 см<sup>3</sup>. Для тестирования каждого образца брали по 5 голов КРС и свиней и 2 головы оставляли в качестве контроля без иммунизации. КРС с порядковыми номерами с 1 по 5 инокулировали вакциной без разведения, животным с номерами с 6 по 10 вводили вакцину, разведенную 1:4, животным с номерами с 11 по 15 – вакцину, разведенную 1:16, животных с номерами 16 и 17 – не иммунизировали (контроль). Свиней с порядковыми номерами с 1 по 5 инокулировали вакциной без разведения, животным с номерами с 6 по 10 вводили вакцину, разведенную 1:5, животным с номерами с 11 по 15 – вакцину, разведенную 1:25, животных с номерами 16 и 17 – не иммунизировали (контроль).

Спустя 21 суток после иммунизации от вакцинированных животных отбирали кровь и полученные сыворотки анализировали в РМН с целью определения уровня вируснейтрализующих антител (ВНА). Затем КРС и свиней заражали гетерологичным штаммом вируса ящура O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 в слизистую оболочку языка в дозе 104,0 ИД<sub>50</sub>/0,20 см<sup>3</sup> (в две точки по 0,10±0,05 см<sup>3</sup>). КРС и свиньи друг с другом не контактировали. В течение 7 суток после заражения за животными вели наблюдение и ежедневно измеряли температуру. Через 7 суток после заражения всех животных подвергли эвтаназии и проводили патологоанатомический осмотр. Защищенными от ящура считали животных, у которых на конечностях отсутствовали поражения, характерные для ящура. Первичные афты не учитывали. Иммуно-

генную дозу (ИмД50) вакцины определяли по общепринятой методике Рида и Менча, в модификации И.П. Ашмарина [1].

Количество протективных доз (PD50) вычисляли путем деления прививной дозы (2,0 см<sup>3</sup>) на ИмД50.

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка заключалась в определении средних арифметических значений и достоверности статистической разницы между средними величинами, определенными по разностному методу Стьюдента-Фишера [1]. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,005$ .

### Результаты исследований и обсуждение

На первом этапе работы экспериментальную моновалентную эмульсионную вакцину «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 вируса ящура тестировали на авирулентность и безвредность в процессе наблюдения за состоянием здоровья КРС после инокуляции. По результатам исследования изготовленный препарат признан авирулентным и безвредным, поскольку все животные, которые были иммунизированы, в течение всего срока наблюдения оставались клинически здоровыми и без формирования некроза тканей на месте введения вакцины.

На следующем этапе работы сыворотки крови животных до и после введения моновалентной эмульсионной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 исследовали на наличие антител к неструктурным белкам вируса ящура. До иммунизации в сыворотках крови КРС и свиней антитела, специфичные к ЗАВС полипротеину, не были обнаружены. Результаты исследования в блокирующем варианте ИФА сывороток крови после вакцинации, отобранных в соответствии с рекомендациями ОIE (МЭБ), представлены в таблицах 1, 2.

Из данных таблиц 1, 2 следует, что РІ слабоположительного контроля был выше 50%, положительного контроля – больше 70%, что соответствует требованиям теста. Сыворотки крови, полученные от 5 голов КРС и 5 голов свиней после введения 4 доз (тест на авирулентность, безвредность) и 1 дозы вакцины

Таблица 1

**Определение в ИФА антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови КРС, иммунизированного моновалентной эмульсионной вакциной «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014**

Исследуемые сыворотки	Значение оптической плотности	Процент ингибиции (PI), %
слабоположительный контроль	0,555	61,46
положительный контроль	0,290	79,86
отрицательный контроль	1,780	0,00
1	1,019	29,24
2	1,027	28,68
3	1,015	29,51
4	0,999	30,63
5	0,923	35,90

Примечание: номер исследуемой сыворотки соответствует порядковому номеру животного

через 14 дней, имели процент ингибиции менее 50%. Иными словами, моновалентная эмульсионная вакцина «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 не индуцирует у КРС и свиней выработку антител к неструктурным белкам вируса ящура.

На следующем этапе работы провели исследования иммуногенной и протективной активности эмульсионной моновалентной вакцины «АРРИАХ-ВАК» на свиньях против гомологичного штамма. Результаты исследований сывороток крови свиней до вакцинации в РМН показали, что животные не содержали противоящурных антител.

По результатам исследования гуморального и протективного иммунитета, представленным в таблице 3, видно, что вакцина стимулировала выработку ВНА против гомологичного штамма O/Jincheon/2014 в группе

животных, иммунизированных вакциной без разведения на уровне  $1,83 \pm 0,10$  Ig,  $1,52 \pm 0,03$  Ig – в группе животных, привитых препаратом в разведении 1:5,  $1,13 \pm 0,13$  Ig – в группе животных, вакцинированных препаратом в разведении 1:25.

Сыворотки также анализировали в РМН против гетерологичного штамма O/Zabai-kalskiy/2/RUS/2016. Титры ВНА в группе животных, инокулированных вакциной без разведения, составили  $1,44 \pm 0,10$  Ig, в группе с разведением 1:5, –  $0,99 \pm 0,10$  Ig, а в группе с разведением 1:25 –  $0,54 \pm 0,10$  Ig.

В результате контрольного заражения вакцинированных свиней гомологичным штаммом O/Jincheon/2014 не наблюдали генерализованную форму ящура. Протективная активность против гомологичного вируса ящура составила 50 PD50 в прививном объеме.

Таблица 2

**Определение в ИФА антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыворотках крови свиней, иммунизированного моновалентной эмульсионной вакциной «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014**

Исследуемые сыворотки	Значение оптической плотности	Процент ингибиции (PI), %
слабоположительный контроль	0,719	61,46
положительный контроль	0,259	79,86
отрицательный контроль	1,787	0,00
1	1,436	19,64
2	1,676	6,211
3	1,330	25,57
4	1,525	14,66
5	1,491	16,56

Примечание: номер исследуемой сыворотки соответствует порядковому номеру животного



Следующий этап работы посвящен изучению эффективности противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014. Результаты тестирования сывороток крови КРС до вакцинации в РМН показали, что животные не содержали противоящурных антител. Результаты исследований гуморального и протективного иммунитета, сформированного у КРС после введения противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014, против гетерологического штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 отражены в таблице 4.

Из данных таблицы 4 следует, что разработанная вакцина стимулировала выработку высокого уровня антител у привитых животных. Спустя 21 сутки после иммунизации при исследовании сывороток крови в РМН титры ВНА против гомологического штамма O/Jincheon/2014 составили  $2,34 \pm 0,10$  lg в группе животных, иммунизированных вакциной без разведения,  $2,16 \pm 0,10$  lg – в группе животных, привитых препаратом в разведении 1:4, и  $1,74 \pm 0,04$  lg – в группе особей, инокулированных вакциной в разведении 1:16. Полученные сыворотки также анализировали в РМН против гетерологического штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016.

Таблица 3

**Гуморальный и протективный иммунитет у свиней на эмульсионную вакцину «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 против гомологического вируса ящура**

Разведение вакцины	№ п/п животных	Развитие генерализации	Титры вируснейтрализующих антител в сыворотках крови КРС, иммунизированных противоящурной моновалентной эмульсионной вакциной «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 в РМН (lg) против штаммов				ИмД <sub>50</sub> , см <sup>3</sup> / PD <sub>50</sub>
			O/Jincheon/2014		O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016		
			до вакцинации	21 сутки после вакцинации	до вакцинации	21 сутки после вакцинации	
без разведения	1	-	<0,45	2,10	<0,45	1,58	0,04/50
	2	-	<0,45	1,95	<0,45	1,35	
	3	-	<0,45	1,88	<0,45	1,58	
	4	-	<0,45	1,58	<0,45	1,50	
	5	-	<0,45	1,65	<0,45	1,20	
	M±m		1,83±0,10		1,44±0,10		
1÷5	6	-	<0,45	1,43	<0,45	1,05	
	7	-	<0,45	1,50	<0,45	1,13	
	8	-	<0,45	1,58	<0,45	1,13	
	9	-	<0,45	1,58	<0,45	0,60	
	10	-	<0,45	1,50	<0,45	1,05	
	M±m		1,52±0,03		0,99±0,10		
1÷25	11	-	<0,45	1,28	<0,45	0,75	
	12	-	<0,45	1,50	<0,45	0,45	
	13	-	<0,45	0,75	<0,45	0,53	
	14	-	<0,45	1,13	<0,45	0,53	
	15	-	<0,45	0,98	<0,45	0,45	
	M±m		1,13±0,13		0,54±0,10		
	16	+	<0,45	н/и		н/и	
	17	+	<0,45	н/и		н/и	

Примечание: «-» – отсутствие генерализованной формы ящура, «+» – наличие генерализованной формы ящура, «н/и» – не исследовали

Титры ВНА в группе животных, инокулированных вакциной без разведения, составили  $2,01 \pm 0,04$  lg, в группе особей, привитых вакциной с разведением 1:4, –  $1,74 \pm 0,10$  lg, а в группе животных, иммунизированных вакцинным препаратом в разведении 1:16 –  $1,22 \pm 0,12$  lg. В сыворотках крови животных №11 и 15 титры ВНА составили 0,90 lg и 0,80 lg, соответственно.

В результате контрольного заражения гетерологичным штаммом O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 у животных №16 и №17, не подвергнутых иммунизации, наблюдали развитие генерализованной формы ящура. У двух

голов КРС (№ 11, №15) из группы, привитых вакциной в разведении 1:16, были выявлены клинические признаки, характерные для ящура. Животные остальных групп были защищены от генерализованной формы ящура.

По результатам РМН титры антител сывороток крови испытуемых животных против гомологичного штамма O/Jincheon/2014 вируса ящура были выше, чем против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016. Так, значения титров антител у КРС, иммунизированного вакциной без разведения, против гомологичного штамма превышали данный показатель против гетерологичного

**Таблица 4**

**Гуморальный и протективный иммунитет у КРС на эмульсионную вакцину «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 против гетерологичного вируса O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016**

Разведение вакцины	№ п/п животных	Развитие генерализации	Титры вируснейтрализующих антител в сыворотках крови КРС, иммунизированных противоящурной моновалентной эмульсионной вакциной «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 в РМН (lg) против штаммов				ИмД <sub>50</sub> , см <sup>3</sup> / PD <sub>50</sub>
			O/Jincheon/2014		O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016		
			до вакцинации	21 сутки после вакцинации	до вакцинации	21 сутки после вакцинации	
без разведения	1	-	<0,45	2,25	<0,45	1,95	0,11/18
	2	-	<0,45	2,40	<0,45	2,10	
	3	-	<0,45	2,55	<0,45	2,10	
	4	-	<0,45	2,25	<0,45	1,95	
	5	-	<0,45	2,25	<0,45	1,95	
	M±m			2,34±0,10		2,01±0,04	
1÷4	6	-	<0,45	2,25	<0,45	1,95	
	7	-	<0,45	1,80	<0,45	1,65	
	8	-	<0,45	2,25	<0,45	1,65	
	9	-	<0,45	2,25	<0,45	1,80	
	10	-	<0,45	2,25	<0,45	1,65	
	M±m			2,16±0,10		1,74±0,10	
1÷16	11	+	<0,45	1,65	<0,45	0,90	
	12	-	<0,45	1,80	<0,45	1,50	
	13	-	<0,45	1,80	<0,45	1,50	
	14	-	<0,45	1,80	<0,45	1,40	
	15	+	<0,45	1,65	<0,45	0,80	
	M±m			1,74±0,04		1,22±0,12	
	16	+	<0,45	н/и		н/и	
	17	+	<0,45	н/и		н/и	

Примечание: «-» – отсутствие генерализованной формы ящура, «+» – наличие генерализованной формы ящура, «н/и» – не исследовали

штамма в 2,14 раза, в группе животных, подвергнутых введению данной вакцины с разведением 1:4 – в 2,63 раза, а в группе КРС, которым вводили вакцинный препарат с разведением 1:16 – в 3,31 раза.

После проведения контрольного заражения в течение 7 суток вели наблюдение за состоянием здоровья животных и регистрировали температуру их тела. Результаты исследования продемонстрированы на рисунке 1.

Как следует из сведений, отраженных на рисунке, у всех животных в ходе наблюдений после контрольного заражения наблюдалась пирексия. Только у 2 из 15 вакцинированных голов КРС отмечали развитие генерализованной формы поражения конечностей. Иными словами, полученные результаты свидетельствуют о том, что лихорадка не является предвестником генерализованных поражений у животных.

На следующем этапе провели исследования по изучению эффективности противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 на свиньях. Результаты контроля на присутствие антител к вирусу ящура сывороток крови свиней до вакцинации в РМН показали, что животные не содержали противоящурных антител. Антитела ни к гомологичному штамму O/Jincheon/2014, ни к гетерологичному штамму O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 вируса ящура не были выявлены. Результаты исследований гуморального и протективного иммунитета, сформированного у свиней после введения противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014, против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 продемонстрированы в таблице 5.

Из данных таблицы 5 видно, что моновалентная эмульсионная вакцина «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 вируса ящура индуцировала выработку высокого уровня антител у привитых животных. Спустя 21 сутки после иммунизации при исследовании сывороток крови в РМН титры ВНА против гомологичного штамма O/Jincheon/2014 составили  $2,31 \pm 0,10$  lg в группе из 5 животных, привитых вакциной без разведения,  $1,83 \pm 0,10$  lg – в группе жи-

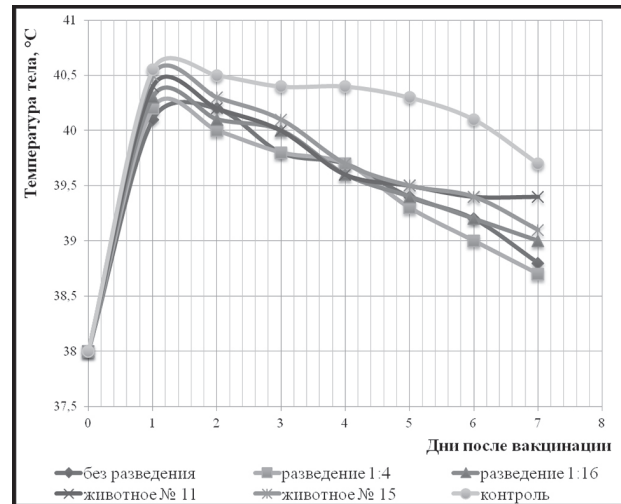


Рис. 1. Температура тела КРС, привитого противоящурной моновалентной эмульсионной вакциной «АРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 без разведения, с разведениями 1:4, 1:16 и не вакцинированного, после контрольного заражения гетерологичным штаммом O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016

вотных, привитых препаратом в разведении 1:5, и  $1,35 \pm 0,03$  lg – в группе, инокулированной вакциной в разведении 1:25. Сыворотки крови также тестировали в РМН против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016. Уровень ВНА на 21 сутки после вакцинации в группе животных, иммунизированных вакциной без разведения, составил  $1,65 \pm 0,02$  lg, в группе свиней, привитых вакциной с разведением 1:5, –  $1,45 \pm 0,10$  lg, а в группе животных, иммунизированных вакцинным препаратом в разведении 1:25 –  $0,86 \pm 0,11$  lg.

В результате заражения гетерологичным штаммом O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 у контрольных животных (№16 и №17) наблюдали развитие генерализованной формы ящура. В группе свиней, получивших дозу вакцины в разведении 1:25, у 4 животных (№ 11, №13, №14, №15) наблюдали генерализованную форму ящура, титры вируснейтрализующих антител составили 0,90, 0,75, 0,67, 0,80 lg, соответственно. Животные остальных групп были защищены от генерализованной формы ящура.

По результатам РМН титры антител сывороток крови испытуемых животных против гомологичного штамма O/Jincheon/2014 вируса ящура были выше, чем против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016.

**Гуморальный и протективный иммунитет у свиней на эмульсионную вакцину «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 против гетерологичного вируса O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016**

Разведение вакцины	№ п/п животных	Развитие генерализации	Титры вируснейтрализующих антител в сыворотках крови свиней, иммунизированных противоящурной моновалентной эмульсионной вакциной «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 в РМН (lg) против штаммов				ИмД <sub>50</sub> см <sup>3</sup> /PD <sub>50</sub>
			O/Jincheon/2014		O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016		
			до вакцинации	21 сутки после вакцинации	до вакцинации	21 сутки после вакцинации	
без разведения	1	-	<0,45	2,17	<0,45	1,65	0,11/18
	2	-	<0,45	2,62	<0,45	1,72	
	3	-	<0,45	2,17	<0,45	1,65	
	4	-	<0,45	2,32	<0,45	1,57	
	5	-	<0,45	2,25	<0,45	1,65	
	M±m			2,31±0,10		1,65±0,02	
1÷5	6	-	<0,45	1,65	<0,45	1,20	
	7	-	<0,45	2,10	<0,45	1,27	
	8	-	<0,45	1,65	<0,45	1,57	
	9	-	<0,45	1,95	<0,45	1,57	
	10	-	<0,45	1,80	<0,45	1,65	
	M±m			1,83±0,10		1,45±0,10	
1÷25	11	+	<0,45	1,42	<0,45	0,90	
	12	-	<0,45	1,42	<0,45	1,20	
	13	+	<0,45	1,27	<0,45	0,75	
	14	+	<0,45	1,27	<0,45	0,67	
	15	+	<0,45	1,35	<0,45	0,80	
	M±m			1,35±0,03		0,86±0,11	
	16	+	<0,45	н/и		н/и	
	17	+	<0,45	н/и		н/и	

Примечание: «-» – отсутствие генерализованной формы ящура, «+» – наличие генерализованной формы ящура, «н/и» – не исследовали

Так, значения титров антител у свиней, иммунизированных вакциной без разведения, против гомологичного штамма превышали данный показатель против гетерологичного штамма в 4,60 раза, в группе животных, подвергнутых введению данной вакцины с разведением 1:5 – в 2,40 раза, а в группе свиней, которым вводили вакцинный препарат с разведением 1:25 – в 3,10 раза.

### Заключение

Осуществлена оценка антигенной и протективной эффективности противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины

«АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 вируса ящура. Разработанная вакцина авирулентна, безвредна, иммуногенна, при этом не индуцирует формирование антител к неструктурным ЗАВС белкам вируса ящура у привитых животных.

Проведено исследование иммуногенной и протективной активности против гомологичного вируса ящура O/Jincheon/2014 на свиньях. Выявлено, что протективная активность противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 против гомологич-



ного вируса ящура составила 50 PD<sub>50</sub> в прививной дозе.

Проведено исследование гуморального и протективного иммунитета, сформированного у КРС и свиней после введения данной вакцины, против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 (линия ME-SA/Ind-2001d). Выявлено, что протективная активность противоящурной моновалентной эмульсионной вакцины «АРРИАХ-ВАК» из штамма O/Jincheon/2014 против гетерологичного штамма O/Zabaikalskiy/2/RUS/2016 имела высокое значение и составила у КРС 18 PD<sub>50</sub>, а у свиней – 15 PD<sub>50</sub>.

### Список литературы

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1962. – 179 с.
2. Официальный сайт The FAO World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease – URL: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/eufmd/Pirbright\\_reports/JM2017OIE-FAO\\_FMD\\_Ref\\_Lab\\_Report\\_January-March\\_2017.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/Pirbright_reports/JM2017OIE-FAO_FMD_Ref_Lab_Report_January-March_2017.pdf) (дата обращения 19.05.2017).

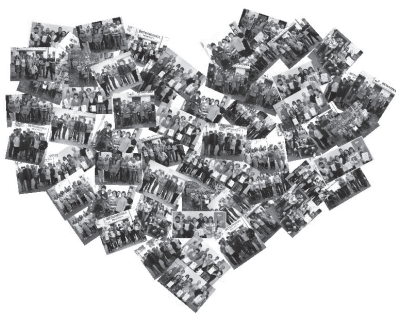
www.fao.org/fileadmin/user\_upload/eufmd/Pirbright\_reports/JM2017OIE-FAO\_FMD\_Ref\_Lab\_Report\_January-March\_2017.pdf (дата обращения 19.05.2017).

3. Щербаков А.В. Молекулярная эпизоотология ящура в России (Филогенетический анализ Российских изолятов вируса ящура) // Ветеринария сегодня. – 2015. – №3 (14). – С. 30-36.
4. Щербаков А.В., Тимина А.М., Зиняков Н.Г. Филогенетический анализ изолятов вируса ящура, вызвавших вспышки болезни в России в 2013 году // Ветеринария. – 2014. – №7. – С. 22-25.
5. Мищенко А.В. Эпизоотологические особенности ящура типа А, вызванного гетерологичными штаммами вируса / А. В. Мищенко, В.А. Мищенко, В.В. Дрыгин [и др.] // Ветеринария. – 2014. – №11. – С. 20-24.
6. Sharma G.K. Comparative evaluation of non-structural protein-antibody detecting ELISAs for foot-and-mouth disease sero-surveillance under intensive vaccination / G.K. Sharma, J.K. Mohapatra, S. Mahajan [et al] // J. Virol. Methods. - 2014. – V. 207. – P. 22-28.
7. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 7th ed. Paris, 2017.



**ЧОУДПО «ИНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»**  
г. Санкт-Петербург

## Курсы повышения квалификации



- Ветеринарная кардиология – 4 ступени
- Лабораторная диагностика
- Ветеринарная офтальмология
- Ветеринарная рентгенология – 2 ступени
- Ветеринарная ультразвуковая диагностика – 4 ступени
- Ветеринарная фармация

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](http://www.invetbio.spb.ru/seminars.html)**

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

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10023

УДК: 597.554.3-12:597-111.11

Ключевые слова: краснуха, кровь, почка, селезенка, лейкоциты, зеркальные карпы, чешуйчатые карпы, краснухоустойчивые карпы

Key words: rubella, blood, kidney, spleen, leukocyte, mirror carp, scaly carp, rubella resistant carp

Т.А. Суворова<sup>1</sup>, Г.И. Пронина<sup>2</sup>, Д.В. Микряков<sup>1</sup>, А.Б. Петрушин<sup>2</sup>

**СОСТАВ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ  
И ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ КРАСНУХОУСТОЙЧИВОЙ  
ПОРОДЫ КАРПА В ПРЕДНЕРЕСТОВЫЙ ПЕРИОД**  
*COMPOSITION AND CORRELATION OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES AND  
IMMUNOCOMPETENT ORGANS OF RED-RESISTANT CARP BREED IN PRE-SPARRY PERIOD*

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод  
им. И.Д. Папанина Российской академии наук

Адрес: 152742, Россия, Ярославская обл., Некоузский район, п. Борок

*I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences*

*Address: 152742, Russia, Yaroslavl Region, Nekouzsky District, Borok*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский  
институт ирригационного рыбоводства

Адрес: 142460, Россия, Московская область, Ногинский р-он, пос. Воровского, ул. Сергеева, д. 24

*Federal State Budget Scientific Institution All-Russian Research Institute of Irrigation Fish Culture*

*Address: 142460, Russia, Moscow Region, Noginsk District, pos. Vorovskogo, st. Sergeeva, 24*

Суворова Татьяна Александровна, научный сотрудник. E-mail: tanya@ibiw.yaroslavl.ru. Тел. 8(485)47-24-681

*Suvorova Tatyana Aleksandrovna, Researcher, Immunology Laboratory*

*E-mail: tanya@ibiw.yaroslavl.ru. Tel. 8 (485) 47-24-681*

Пронина Галина Иозеповна, доктор биологических наук; главный научный сотрудник;

заведующий лабораторией. E-mail: gidrobiont4@yandex.ru

*Pronina Galina Iozepovna, Doctor of Biological Sciences; Chief Researcher; Head of the Laboratory.*

*E-mail: gidrobiont4@yandex.ru*

Микряков Даниил Вениаминович; кандидат биологических наук; заведующий лабораторией.

E-mail: daniil@ibiw.yaroslavl.ru; Тел. (485)47-24-681

*Mikryakov Daniil Veniaminovich; Candidate of Biological Sciences; Head of the Laboratory.*

*E-mail: daniil@ibiw.yaroslavl.ru; Tel. (485) 47-24-681*

Петрушин Александр Борисович; кандидат сельскохозяйственных наук; ведущий научный сотрудник;  
заместитель заведующего лабораторией. E-mail: shurapetrushin@yandex.ru

*Petrushin Alexander Borisovich; Candidate of Agricultural Sciences; Leading Researcher; Deputy Head of the  
Laboratory. E-mail: shurapetrushin@yandex.ru*

**Аннотация.** В статье представлены результаты изучения состава лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов ангелинской краснухоустойчивой породы карпа и карпов, восприимчивых к возбудителям заболевания. Установлено, что в лейкоцитарной формуле периферической крови и селезенки краснухоустойчивых особей достоверно выше содержание лимфоцитов и ниже моноцитов/макрофагов, а в головной почке – меньше процент лимфоцитов и больше макрофагов, чем у карпов других изученных селекционных групп. Статистически достоверных различий индекса обилия лейкоцитов выявлено не было. Полученные данные могут служить основой мониторинга состояния здоровья рыб и проведения селекционно-племенной работы с отбором по иммунной устойчивости. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-016-0019618) и частично в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012690123-4).

**Summary.** The article presents the results of studying the composition of peripheral blood leukocytes and immunocompetent organs of the angelic rubella resistant breed of carp and carps susceptible to the causative agents of the disease. It has been established that the content of lymphocytes and lower monocytes/macrophages was significantly higher in leukocyte formula of peripheral blood and spleen of rubella-resistant individuals, and the percentage of lymphocytes and more macrophages in the head kidney was lower than in other studied breeding groups. No statistically significant differences in the leukocyte abundance index were found. The obtained data can serve as a basis for monitoring the health status of fish and carrying out selection and breeding work with selection for immune resistance. This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Project № 18-016-0019618) and partly as part of the state assignment of the FANO of Russia (Subject № АААА-А18-118012690123-4).

### Введение

Краснуха – полиэтиологическое заболевание рыб, вызываемое различными возбудителями: вирус весенней виремии, аэромонады, псевдомонады [1]. Краснуха наносит большой экономический ущерб за счет гибели рыб и затрат на оздоровление рыбоводных хозяйств. Одно из решений данной проблемы – селекция на иммунную устойчивость к возбудителям заболевания. В России выведена ангелинская краснухоустойчивая порода карпа [6]. Исследование этой породы, позволит понять механизмы, обеспечивающие невосприимчивость рыб к инфекционным заболеваниям. Особый интерес представляет изучение клеточного звена иммунной системы, т.к. по количеству, структуре и соотношению лейкоцитов можно судить о функциональном состоянии и характере влияния на организм рыб биотических и абиотических факторов [2; 3; 5; 7; 9].

Ранее были показаны отличия некоторых гематологических показателей между краснухоустойчивыми и восприимчивыми к заболеванию карпами [4; 10]. Сведения о морфологическом составе и соотношении лейкоцитов в гемопоэтических органах карпов ангелинской породы отсутствуют. Проведение дополнительных исследований позволит выявить особенности краснухоустойчивой породы и получить данные, которые могут быть использованы в аквакультуре для повышения устойчивости рыб к инфекционным заболеваниям. На практике это поможет снизить экономический ущерб от гибели, выбраковки больной и переболевшей рыбы, затрат на оздоровление рыбоводного хозяйства.

Цель работы – сравнительное изучение состава лейкоцитов периферической крови и иммунокомпетентных органов краснухоустойчивых и восприимчивых к возбудителям заболевания карпов.

### Материал и методы исследований

Исследования проводили в середине мая – начале июня 2018 г. на двухгодовиках карпов. Материал отбирали у 5 особей ангелинской чешуйчатой краснухоустойчивой породы, содержащихся на экспериментальной прудовой базе «Сунога» ИБВВ им. И.Д. Па-

нина РАН Ярославской обл. Для сравнения использовали карпов из рыбоводного хозяйства «Кирия» Чувашской республики. Пробы отбирали от 10 экземпляров чешуйчатых и 10 зеркальных карпов, восприимчивых к возбудителям краснухи. У исследуемых рыб проводили отбор периферической крови и тканей органов (селезёнка и головная почка). Кровь отбирали из хвостовой вены. Каплю крови наносили на обезжиренное предметное стекло, делали мазок. Мазки-отпечатки головной почки и селезенки делали со среза исследуемого органа. После этого препараты сушили и фиксировали в 96% этаноле 30 мин. Подсохшие мазки и мазки-отпечатки окрашивали по Романовскому-Гимза. Препараты просматривали под световым микроскопом «Биомед-6ПР1-ФК» ( $\times 360$ ), анализируя на каждом мазке 200 клеток белой крови. Лейкоциты идентифицировали согласно классификации Н.Т. Ивановой (1983).

Для определения индекса обилия лейкоцитов, или частоты встречаемости клеток белой крови, в мазке просматривали 100 полей зрения на различных участках препарата при увеличении 400х. В каждом поле зрения подсчитывали количество встреченных лейкоцитов, полученные данные суммировали и делили на 100, получая среднее число в одном поле зрения [8].

Статистическую обработку результатов исследования проводили по стандартным алгоритмам, реализованным в пакете программ Statistica V6.0, с использованием t-теста. Различия считали значимыми при  $p \leq 0.05$ .

### Результаты исследований

В лейкоцитарных формулах периферической крови и иммунокомпетентных органов карпов выявлены характерные для данного вида клетки: лимфоциты, моноциты, нейтро-, базо-, эозинофилы и бластные формы. Анализ содержания отдельных пулов лейкоцитов показал, что их уровень зависит от вида исследуемой ткани и варьирует у разных селекционных групп (табл. 1). Однако достоверные различия отмечены в содержании лимфоцитов и моноцитов. В периферической крови зеркальных карпов процентное содержание этих клеток выше, чем у дру-

Таблица 1

Состав лейкоцитов в периферической крови и иммунокомпетентных органах карпов, %

	Лимфоциты	Моноциты/ макрофаги	Нейтрофилы		Базофилы	Эозино- филы	Бластные формы
			ПЯ	СЯ			
Периферическая кровь							
краснухостойчивая порода	95,60±0,71	2,40±0,18	0,60±0,29	0,60±0,48	0,10±0,10	0,10±0,10	0,60±0,10
чешуйчатые карпы	91,85±1,45	3,65±0,76	1,45±0,50	0,40±0,16	0,25±0,13	0,20±0,11	2,20±0,60
зеркальные карпы	84,85±2,76 <sup>1,2</sup>	8,75±1,79 <sup>1,2</sup>	1,75±0,55	0,60±0,23	-	0,70±0,30	3,35±0,89
Головная почка							
краснухостойчивая порода	73,80±3,71	16,00±2,46	1,60±0,62	0,90±0,48	-	0,10±0,10	7,60±0,73
чешуйчатые карпы	89,70±1,20 <sup>1</sup>	4,35±0,60 <sup>1</sup>	0,75±0,25	0,40±0,12	-	0,10±0,06	4,65±1,07
зеркальные карпы	85,10±0,97 <sup>1,2</sup>	5,60±0,62 <sup>1</sup>	1,35±0,19	0,45±0,17	0,05±0,05	-	7,45±1,24
Селезенка							
краснухостойчивая порода	96,30±2,00	1,00±0,41	0,20±0,20	0,70±0,58	-	-	1,70±0,96
чешуйчатые карпы	89,40±1,54 <sup>1</sup>	4,25±0,68 <sup>1</sup>	0,85±0,27	0,65±0,29	-	0,05±0,05	4,80±1,24
зеркальные карпы	86,95±1,84 <sup>1</sup>	5,90±0,83 <sup>1</sup>	0,55±0,15	0,25±0,13	0,25±0,17	0,15±0,07	6,00±1,52

Примечание: <sup>1</sup> – достоверные отличия от краснухостойчивых; <sup>2</sup> – достоверные отличия от чешуйчатых карпов.

гих групп. В пронефрозе краснухостойчивой породы содержание лимфоцитов ниже, а моноцитов/макрофагов выше, чем у чешуйчатых и зеркальных карпов, тогда как в селезенке соотношение этих форм лейкоцитов носит противоположный характер.

Сходные результаты получены Прониной с соавт. (2015) при изучении лейкограмм периферической крови краснухостойчивых карпов в хозяйствах разных зон рыбоводства.

Исследования индекса обилия лейкоцитов не показали достоверных различий среди селекционных групп. Более высокий показатель зафиксирован у краснухостойчивых карпов (табл. 2).

### Обсуждение результатов

Из представленных данных следует, что установленные различия зависят от структурно-функциональных особенностей органов: в почках, как основном органе кроветворения костистых рыб, происходит пролиферация, дифференцировка и созревание всех линий клеток крови, а в селезенке, выполняющей

функцию «депо» крови – лимфогранулопоз [5; 7]. Периферическая кровь служит транзитом иммунокомпетентных клеток, в котором проявляется суммарный эффект изменения активности иммунной системы.

Самый большой пул клеток белой крови исследуемых селекционных групп карпа составляют лимфоциты – основные клетки иммунной системы рыб [7]. Другие типы лейкоцитов: гранулоциты и моноциты, составляющие гораздо меньшее число клеток, также выполняют важную роль в реализации иммунологических функций. Они участвуют в фагоцитозе микроорганизмов, синтезе цитокинов, медиаторов, неспецифических факторов иммунитета: лизоцима, интерферона, гемолизина, хитиназы и т.д. Существует также мнение о способности моноцитов инактивировать токсины [3]. Наибольшее число моноцитов/макрофагов – клеток, способных захватывать, расщеплять, перерабатывать антиген и после этого представлять антигенную информацию В- и Т-лимфоцитам, участвующим в реакциях гуморального специфического иммунитета,



Таблица 2

## Индекс обилия лейкоцитов, (ед./п.зр)

краснухостойчивая порода	32,90±11,16
чешуйчатые карпы	26,12±2,38
зеркальные карпы	21,71±3,01

отмечено в головной почке особой краснухостойчивой породы. Возможно, это отражает генетические особенности и объясняет их устойчивость к заболеванию, т.к. именно в почке осуществляются все стадии иммунного ответа у рыб [7]. Однако без дополнительных сезонных и возрастных исследований однозначную оценку этому факту дать нельзя. По данным Прониной с соавт. (2015) относительное количество моноцитов в крови молоди ангелинских карпов весной увеличивается, а осенью снижается, что можно рассматривать как адаптацию, направленную на элиминацию поврежденных в процессе зимнего голодания клеток собственного организма. Гранулоциты в лейкоцитарных формулах исследованных рыб встречались в незначительном количестве, что говорит об отсутствии антигенной нагрузки и оптимальном межклеточном обмене. Также в лейкоцитарной формуле зафиксированы юные незрелые, или бластные, формы клеток, которые подобно таковым у высших позвоночных, замещают лимфоидные клетки в тканях и органах иммунной системы. Нормальная доля их содержания в лейкограмме пресноводных видов составляет до 10% и зависит от видовых и экологических особенностей рыб [2; 5].

Используемый в наших исследованиях показатель индекса обилия лейкоцитов дает представление о функциональном состоянии гемо- и иммунопоэтической ткани и позволяет судить об интенсивности лейкопоэза [8]. Более интенсивное образование иммунокомпетентных клеток, зафиксированное у краснухостойчивых особей, вероятно, обеспечивает устойчивость ангелинской чешуйчатой породы к возбудителям инфекционных заболеваний.

### Заключение

Таким образом, результаты исследования состава лейкоцитов в периферической крови и органах кроветворения краснухостойчивой породы карпа показали отличия в доле содержания лимфоцитов и моноцитов и интенсивности лейкопоэза от других изученных селекционных групп. Отличия зависели от структурно-функциональных характеристик тканей и органов, породных особенностей и условий содержания исследованных

рыб. Полученные данные могут служить основой мониторинга состояния здоровья рыб и проведения селекционно-племенной работы с отбором по иммунной устойчивости.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-016-0019618) и частично в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012690123-4).

### Список литературы

1. Ихтиопатология: Учебники и учеб. пособия для студентов высших учебных заведений / Н.А. Головина [и др.]; Под ред. Н.А. Головиной, О.Н. Бауера. – М.: Мир, 2003. – 448 с.: ил.
2. Головина Н.А. Гематология прудовых рыб / Н.А. Головина, И.Д. Тромбицкий. – Кишинев: Штиинца, 1989. – 155 с.
3. Житенева Л.Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб: справочник / Л.Д. Житенева, Т.Г. Полтавцева, О.А. Рудницкая. – Ростов-на-Дону: Ростовское книжное издательство, 1989. – 112 с.
4. Иванов А.А. Иммунологические и гематологические константы гомеостаза в селекционной работе с карпом / А.А. Иванов, Г.И. Пронина // Известия ТСХА. – 2012. – Вып. 1. – С. 174–180.
5. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб / Н.Т. Иванова. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. – 79 с.
6. Илясов Ю.И. Селекция рыб на повышение устойчивости к заболеваниям / Ю.И. Илясов // Сб. науч. тр.: Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. – Вып. 78. – М.: Изд-во ВНИРО, 2002. – С. 125–134.
7. Микряков В.Р. Реакция иммунной системы рыб на загрязнение воды токсикантами и закисление среды / В.Р. Микряков [и др.]; – М.: Наука, 2001. – 126 с.
8. Микряков В.Р. Влияние солей некоторых тяжелых металлов на состав белой крови молоди ленского осетра *Acipenser baeri* // В.Р. Микряков, Т.Б. Лапирова // Вопросы ихтиологии. – 1997. – Т. 37. – № 4. – С. 538–542.
9. Назарова Е.А. Особенности лейкоцитарного состава почек у некоторых видов пресноводных и морских костистых рыб / Е.А. Назарова, Е.А. Заботкина // Биология внутренних вод. – 2010. – № 2. – С. 92–97.
10. Пронина Г.И. Физиолого-иммунологические адаптации карпа к краснухе / Г.И. Пронина, Н.Ю. Корягина, А.А. Иванов // Известия ТСХА. – 2015. – Вып. 5. – С. 94–105.

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10024

УДК 636.082.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, иммуногенетика, группы крови, иммунизация, абсорбция, эллюция

*Key words: cattle, immunogenetics, blood groups, immunization, absorption, elution*

**Шаталина О.С.**

## **ОСНОВЫ ПРОИЗВОДСТВА МОНОСПЕЦИФИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК – РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ** *FUNDAMENTALS OF PRODUCTION OF MONOSPECIFIC SERA – REAGENTS FOR THE PERFORMANCE OF IMMUNOGENETIC STUDIES*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»

Адрес: 620061, Россия, г. Екатеринбург, пос. Исток, ул. Главная, 21

*Federal state budgetary scientific institution «Ural federal agrarian scientific research centre,  
Ural branch of Russian academy of science»*

*Address: 620061, Russia, Yekaterinburg, v. Istok, Glavnaya st., 21*

Шаталина Ольга Сергеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела животноводства.

E-mail [shatalinao@list.ru](mailto:shatalinao@list.ru), тел. 89222058396

*Shatalina Olga Sergeevna, candidate of biological sciences, senior research associate of the department of animal breeding. E-mail [shatalinao@list.ru](mailto:shatalinao@list.ru), tel. 89222058396*

**Аннотация.** Проведение иммуногенетической экспертизы важная составляющая грамотной племенной и селекционной работы. Определение групп крови невозможно без использования специфических реагентов (моноспецифических сывороток), их получение – это важная работа, проводимая сотрудниками лаборатории иммуногенетической экспертизы Уральского научно-исследовательского института сельского хозяйства – филиала ФГБНУ «УрФАНИЦ УрО РАН». В связи с сокращением количества и объема реагентов возникла необходимость их изготовления в лаборатории. Целью работы являлось пополнение банка реагентов необходимыми моноспецифическими сыворотками. Существуют три способа получения моноспецифических сывороток: иммунизация, абсорбция и эллюция. Методом иммунизации изготовлено 15 реагентов. За счет использования абсорбции очищено 94 полиспецифических сыворотки до моноспецифических, произведено 20 видов реагентов. С помощью метода эллюции полиспецифическая сыворотка разделена на два моноспецифических реагента. Так, в лаборатории иммуногенетической экспертизы в 2017 г. изготовлен 41 реагент, титр которых варьируется от нативного (1:1) до 1:512.

**Summary.** *Conducting immunogenetic expertise is an important component of literate pedigree and breeding work. Determination of blood groups is impossible without the use of specific reagents (monospecific sera), their preparation is an important work carried out by the laboratory staff of immunogenetic expertise of the Ural Scientific Research Institute of Agriculture, branch FSBSI UrFASRC, UrB of RAS. In connection with the reduction in the quantity and volume of reagents, it became necessary to make them in the laboratory. The purpose of the work was to replenish the reagent bank with the necessary monospecific sera. There are three ways to obtain monospecific sera: immunization, absorption and excretion. The method of immunization produced 15 reagents. Due to the use of absorption, 94 polyspecific sera were purified to monospecific sera, 20 kinds of reagents were produced. Using the method of exclusion, the polyspecific serum is divided into two monospecific reagents. Thus, in the laboratory of immunogenetic examination, in 2017 41 reagents were made, the titer of which varies from native (1:1) to 1:512.*

### **Введение**

Определение групп крови крупного рогатого скота необходимо для следующих целей: установление достоверности происхождения, изучения генофонда популяций крупного рогатого скота, исследование взаимосвязи антигенов крови с хозяйственно-полезными признаками [6]. Иммуногенетический анализ проводится с помощью РСК (реакции связывания комплемента) [5]. При данной реакции происходит гемолиз антигенов, находящихся в крови крупного рогатого скота, которые

вступают в реакцию с антителами (реагентами) в присутствии катализатора – комплемента (сыворотки крови кроликов) [7]. В основу метода иммунологического контроля положен метод кодоминантного наследования животными групп крови и неизменности в течение онтогенеза. Потомки имеют только антигены, полученные по наследству от родителей [4]. Антигенный состав групп крови крупного рогатого скота определяют с помощью моноспецифических сывороток [3]. Моноспецифическая сыворотка – это сыворотка

крови, которая содержит антитела к одному антигену и не реагирует с другими антигенами. Сыворотки крови иначе называют реагенты. П. Эрлих и Моргентрот установили, что антитела образуются при введении крови одного животного другому того же вида [2]. Изготовление реагентов производится из иммунных сывороток, которые получают от животных донорского стада [1], [8]. Большое значение при этом уделяется специфичности реагентов [2]. Сыворотка считается специфичной в том случае, если она выявляет только соответствующее ей антитело и не реагирует с другими антигенами [9].

По способности вызывать образование антител различают антигены сильные и слабые. В ЕАА- системе антигены  $A_1$ ,  $A_2$  и  $Z^1$  – сильные,  $D_1$ ,  $D_2$  и  $H$  – более слабые. В других системах к сильным антигенам относятся  $B$  ( $B_1$ ,  $B_2$ ),  $I_1$ ,  $Y_2$ ,  $B'$ ,  $I'$ ,  $B''$ ,  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $R_1$ ,  $W$ ,  $U$ ,  $Z$ , остальные факторы обладают меньшей способностью индуцировать выработку антител. Антитела против слабых антигенов, за редким исключением, вырабатываются медленно после продолжительной иммунизации, их титр обычно невысок [3].

Цель работы – создание банка моноспецифических сывороток – реагентов для использования в определении групп крови и достоверности происхождения крупного рогатого скота.

### Материалы и методы

Исследование выполнено в отделе животноводства и иммуногенетической экспертизы Уральского НИИСХ – филиала ФГБНУ «УрФАНИЦ УрО РАН», в соответствии с темой «Совершенствование уральского типа черно-пестрого скота. Изучение генетической структуры популяции черно-пестрого скота с использованием ДНК-технологий» (№ государственной регистрации 0772-2018-0005). Изготовление моноспецифических сывороток-реагентов выполнено согласно методическим рекомендациям П.С. Веревокина, Н.Н. Едренина [1]. Иммунизация и взятие крови крупного рогатого скота проводилось в 2017 году в донорских стадах крупного рогатого скота СПК «Колхоз имени Свердлова» и ЗАО «Агрофирма «Патруши», составляющих 50 голов каждое. Для центри-

фугирования крови и сыворотки крупного рогатого скота использовали центрифуги centrifuge 5810R фирмы Eppendorf, РС-6МЦ фирмы Дастан.

### Результаты исследований

В течение 2017 года в ЗАО «Агрофирма Патруши» проведено 64 отбора крови по одному литру для пробных и массовых абсорбций и 50 проб по 10 мл – на аттестацию донорского стада и проверку титра вырабатываемых антител. В СПК «Колхоз имени Свердлова» взято 19 литров крови для больших абсорбций.

В таблице 1 приведены основные данные по итогам и объему проведенной работы.

В СПК «Колхоз имени Свердлова» осуществили три цикла иммунизаций. Для первой и второй иммунизации взято 9 пар «донор-реципиент». Проведен забор крови у доноров и трехкратное прилитие ее реципиентам. Образование антител по окончании первой иммунизации отмечено у 4 реципиентов, т.е. 44 %, второй – от 3 реципиентов, т.е. 30 %. Изготовлены реагенты:  $E'_3$  Т 1:4,  $X_2$  Т 1:125,  $B'$  Т 1:4 и  $Y_2$  Т 1:32,  $H'$  Т 1:8,  $E'_3$  Т 1:16 и смесь реагентов.

Для третьей иммунизации подобрано 8 пар «донор-реципиент». По окончании иммунизации выявлены антитела трех реципиентов, т.е. 30 %. Изготовлены реагенты:  $F'_2$  Т 1:16,  $A_1$  Т 1:32,  $F$  Т 1:8.

В ЗАО «Агрофирма «Патруши» проведено две серии иммунизаций. Донорские стада крупного рогатого скота составили по 30 голов в каждой группе. Для первой иммунизации подобрано 8 пар «донор-реципиент». По окончании иммунизации отмечено антителообразование от 4-х реципиентов, что составляет 50 %. Выработаны реагенты:  $B_2$  Т 1:16,  $H'$  Т 1:4,  $A_1$  Т 1:4 и смесь реагентов.

Вторую иммунизацию проводили на 7 парах «донор-реципиент». По окончании иммунизации все реципиенты проверены на наличие антител. Выработано три реагента:  $A_2$  Т 1:16,  $Y'$  Т 1:8,  $A_2$  Т 1:16 и смесь реагентов.

Всего при иммунизации в ЗАО «Агрофирма «Патруши» получено 6 реагентов, каждый из которых позволяет аттестовать от 35 000 до 82 000 голов.

### Полученные реагенты

Полученный реагент	Сыворотка		
	название	титр	объем, гол.
F	89-06	1:8	2 147 700
	III-1808	1:64	
	115-014	1:4	
	270-16	1:16	
	234-137	1:8	
	388-168	1:32	
	63	1:8	
	3-08	N	
	250	1:8	
G <sub>2</sub>	123-678	1:8	2 703 900
	659	1:16	
	43-6880	1:64	
	III-1808/C	1:125	
	604	1:4	
	669	1:256	
	290-4193	1:64	
K	41-916	1:8	30 900
M	298-6620	1:8	111 700
	321-152	1:8	
E' <sub>1</sub>	170	1:4	4 480
Z	153-39	1:4	808 500
	84-02	1:32	
	29-4773	1:16	
R <sub>2</sub>	29-076	1:8	2 000
W	110-9	1:8	10 624 100
	42-4280	1:4	
	43-011	1:512	
	81-21	1:4	
E' <sub>3</sub>	87-920	1:32	1 308 270
	1-96	1:16	
	167-65	1:32	
	327-158	1:64	
	57-522	1:16	
	69	1:16	
	155	1:4	
	219	1:16	
Y <sub>2</sub>	43	1:4	9 672 300
	066	1:256	
	506-362	1:8	
	205-5006	1:8	
	452-490	1:32	
	36-280	1:32	
	328-74	1:4	
	174	1:32	



C <sub>2</sub>	103-010	1:8	1 244 800
	833	1:64	
	475-469	1:64	
	512-0827	1:8	
I <sub>1</sub>	143-712	1:8	1 066 300
	11-678	1:32	
O <sub>1</sub>	611	1:8	140 170
	868	1:8	
	227-4845	1:8	
I <sub>2</sub>	118	1:4	5 980
H'	76	1:16	905 180
	160-51	1:4	
	90-013	1:4	
	139-1151	1:4	
	135-1181	1:256	
	9945	1:4	
	201	1:8	
X <sub>1</sub>	874	1:16	23 500
X <sub>2</sub>	803	1:32	520 000
	154	1:125	
L	39-019	1:8	860 400
	261-6636	1:4	
	84-070	1:4	
G'	133-1190	1:4	154 200
	52-37	1:16	
	75-396	1:64	
O <sub>2</sub>	75-027	1:64	731 800
	590	1:4	
A' <sub>2</sub>	453-473	1:8	728 400
	865	1:8	
	44-186	1:32	
	480-301	1:32	
	854	1:4	
R'	113	1:8	70 400
	46	1:8	
T <sub>1</sub>	56	1:4	34 300
	467-457	1:4	
S <sub>2</sub>	230-4836	1:512	5 652 000
	55-1977	1:2	
D'	181-21	1:4	5 600
	75-392	1:8	
R <sub>1</sub>	646	1:64	1 194 500
	360-224	1:8	
	265-6629	1:64	
A <sub>1</sub>	30107	1:4	135 000
	243	1:32	

A <sub>2</sub>	83-07	1:8	2 850 900
	20-20	1:512	
	315	1:16	
	205	1:16	
O'	136	1:8	483 100
	65-254	1:16	
	29-06	1:8	
Q'	635	1:8	140 670
Y'	111	1:8	46 000
J' <sub>2</sub>	041	1:8	8 500
U	051	1:4	34 200
U'	320-145	1:8	137 070
	672	1:2	
B <sub>2</sub>	102-952	1:32	464 500
	90-862	1:32	
	9823	1:16	
	854	1:64	
B'	61-68	1:8	603 300
	157	1:4	
F' <sub>2</sub>	246-146	1:4	20 000
	234	1:16	

В течение 2017 года проведена постановка иммуногенетической реакции с целью проверки наличия антител и титра с 200 ранее изготовленными сыворотками. Из них – 20 сывороток не имеют антител, 94 успешно очищены, 86 – требуют дополнительных очисток. Сыворотки проверены на панельном стаде крупного рогатого скота ЗАО «Агрофирма «Патруши», аттестованном набором реагентов ФГБНУ «Смоленский НИИСХ» и имеющейся крови, привозимой из сельскохозяйственных организаций для иммуногенетического анализа. Всего выполнено 20 постановок реакций.

Кровь крупного рогатого скота для абсорбции каждой сыворотки подбиралась с учетом отсутствия антигенов к необходимым нам антителам. Выполнено 30 пробных и 30 массовых абсорбций. Во время каждого цикла пробных абсорбций очищали несколько сывороток, затем проверяли наличие антител постановкой иммуногенетической реакции. Методом абсорбции изготовлено 94 реагента, составляющие 20 видов реагентов. При этом изготовлено реагента F – 8 вариантов, W – 4, E'<sub>3</sub> – 7, H' – 7, G<sub>2</sub> – 6,

A<sub>1</sub> – 2, A<sub>2</sub> – 5, M – 3, Z – 2, Y<sub>2</sub> – 6, C<sub>2</sub> – 4, I<sub>1</sub> – 2, O<sub>1</sub> – 3, L – 3, G' – 5, O<sub>2</sub> – 2, A'<sub>2</sub> – 4, R' – 2 а, S<sub>2</sub> – 2, D' – 3, R<sub>1</sub> – 3, B<sub>2</sub> – 3 варианта, O' – 3 варианта, X<sub>2</sub> – 3 варианта, F'<sub>2</sub> – 2 варианта.

Титр изготовленных реагентов варьирует от нативного до 1:512. Объем реагентов позволяет аттестовать более 2000 голов.

Методом эллюции изготовлено 2 реагента. Сыворотка 854 содержала в себе антитела двух видов: B<sub>2</sub> и A'<sub>2</sub>. При абсорбции сыворотки кровью крупного рогатого скота A<sub>1</sub>/- Y<sub>2</sub>A'<sub>1</sub>/ I<sub>2</sub> F/- H'/- получен реагент B<sub>2</sub>, титр составил 1:64. Эритроциты, оставшиеся после сбора сыворотки, трижды очистили физиологическим раствором. Затем добавили равный объем физиологического раствора и поставили в водяную баню на 30 минут при 56 °С. При этом произошло разделение комплекса «антиген-антитело». После прогревания провели центрифугирование. Антитела перешли в физиологический раствор. В результате проведенной работы получен реагент A'<sub>2</sub>, титр 1:4.

### Заключение

Банк реагентов, необходимый для определения групп крови, составляет 52 единицы.

За 2017 год в лаборатории иммуногенетической экспертизы изготовлен 41 вид реагентов, что позволяет пополнять запас реагентов и проводить иммуногенетическую реакцию с целью определения групп крови и достоверность происхождения племенных животных крупного рогатого скота.

## Список литературы

1. Веревокин П.С. Иммуногенетика в селекции крупного рогатого скота / П.С. Веревокин, Н.Н. Едренин. Куйбышев: Куйбышевское книжное изд-во, 1988. – 85 с.
2. Гонтов М.Е. Аллелофонд крупного рогатого скота племенного репродуктора ОАО «Смоленское» и использование его для экспертизы породной принадлежности / М.Е. Гонтов, Д.Н. Кольцов, В.А. Онуфриев, Н.Н. Шумейко // Сборник научных трудов по материалам научно-практической конференции с международным участием «Достижения современной аграрной науки сельскохозяйственному производству», 2017. – С. 184-188.
3. Гридин В.Ф. Особенности антигенного состава крови крупного рогатого скота уральского типа / В.Ф. Гридин, И.В. Ткаченко, С.Л. Гридина // Вестник Курганской ГСХА, 2013. № 1. – С. 40-42.

4. Ильясова Э.И. Иммуногенетическое сходство родительских пар крупного рогатого скота и его влияние на продуктивность потомства / Э.И. Ильясова, Ф.Р. Валитов // Современное состояние, традиции и инновационные технологии в развитии АПК. Материалы Международной научно-практической конференции в рамках XXVII Международной специализированной выставки «Агрокомплекс-2017». Башкирский государственный аграрный университет, 2017. – С. 55-58.
5. Кэтти Д. Антитела. Методы / Д. Кэтти, Ч. Райкундалия, Д. Браун. М.: Мир, 1991. – 288 с.
6. Попов Н.А. Аллелофонд красно-пестрой породы по ЕАВ-локусу / Н.А. Попов, Л.К. Марзанова // Зоотехния, 2015. №8. – С. 2-5.
7. Романенко Г.А. Генетические маркеры в селекции уральского черно-пестрого скота / Г.А. Романенко, С.Л. Гридина // Аграрный вестник Урала, 2009. № 4. – С. 82-83.
8. Сороковой П.Ф. Методические рекомендации по исследованию и использованию групп крови в селекции крупного рогатого скота. Дубровицы: Отдел научно-технической информации, 1974. – 40 с.
9. Шукюрова Е. Достоверность происхождения скота в Хабаровском крае / Е. Шукюрова, Л. Колпакова, З. Гришина // Молочное и мясное скотоводство, 2006. № 6. – С. 31-32.

## 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 2019 г. согласно инф. письму б/н  
от 03.09.18 г. НДС не облагается. Адрес подписки: ...»

Стоимость редакционной подписки на 2019 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

DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10025

УДК: 616.594.14-07-08

Ключевые слова: микронидлинг, алопеция, мезотерапия, аргинин, дермароллер, кожный сосочек.

*Key words: micro-needling, alopecia, mesotherapy, arginine, dermaroller; dermal papilla.*

Кудинова С.А.<sup>1</sup>, Луцай В.И.<sup>1</sup>, Концевая С. Ю.<sup>2</sup>

## МЕЗОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ АРГИНИНА И ТОНКОИГОЛЬНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ АЛОПЕЦИИ НЕВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ХАРАКТЕРА (В ЭКСПЕРИМЕНТЕ)

*MESOTHERAPEUTIC ADMINISTRATION OF ARGININI AND FINE-NEEDLE STIMULATION  
IN THE TREATMENT OF ALOPECIA OF NON-INFLAMMATORY (IN THE EXPERIMENT)*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств».

Адрес: г. Москва, Волоколамское шоссе, дом 11, Россия, 125080

*Moscow state University of food production Federal State Budget Educational Institution of Higher Professional  
Education. Address: 125080, Russia, Moscow, Volokolamskoye highway, 11*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина»

Адрес: ул. Вавилова, д. 1, п. Майский, Белгородская обл., Россия, 308503

*Belgorod state agricultural University named after V. Gorin Federal State Budget Educational Institution of Higher  
Professional Education. Address: 308503, Russia, Vavilova str., 1, p. Mayskiy, Belgorod region*

Кудинова Светлана Алексеевна, аспирант. Тел.: +7 (925) 311 99 29. E-mail: AlfredJons@yandex.ru

*Kudinova Svetlana Alekseevna, post-graduate student. Tel.: +7 (925) 311 99 29. E-mail: AlfredJons@yandex.ru*

Луцай Владимир Иванович, доктор ветеринарных наук, профессор. Тел.: +7 (903) 757 18 56.

E-mail: recaro21@bk.ru

*Lutsay Vladimir Ivanovich., doctor of veterinary Sciences, Professor. Tel.: +7 (903) 757 18 56. E-mail: recaro21@bk.ru*

Концевая Светлана Юрьевна, доктор ветеринарных наук, профессор. Тел.: +7 (926) 658 25 57.

E-mail: vetprof555@inbox.ru

*Kontsevaya Svetlana Yurievna, doctor of veterinary Sciences, Professor. Tel.: +7 (926)658 25 57.*

E-mail: vetprof555@inbox.ru

**Аннотация.** В данной статье рассмотрено современное и малоизученное направление ветеринарной дерматологии, перешедшее из гуманной практики – мезотерапия и микронидлинг. Впервые предложен метод использования дермароллера DRS с длиной микроигл 1 мм в сочетании с внутрикожными инъекциями аминокислоты аргинин. Рассмотрено использование дермароллера DRS в монорежиме. Сравнение проводилось на биологической модели невоспалительной алопеции, представлены и проанализированы результаты. В исследовании участвовали 15 кроликов породы французский баран, на которых экспериментально сформировали участок алопеции. Животные были разделены на 3 группы – по 5 особей в опытных группах, и 5 в контрольной интактной группе. Рост шерсти на месте очага алопеции отмечался активнее у 5 лабораторных животных, получавших комбинированную терапию посредством микронидлинга и внутрикожного мезотерапевтического введения аргинина.

**Summary:** *A modern and little-studied direction of veterinary dermatology which origins from the humane practice – mesotherapy and micronidling is considered in this article. For the first time a method has been proposed for using the DRS dermaroller with a length of 1 mm microneedles in combination with intracutaneous injections of the amino acid arginine. The use of the DRS dermaroller was considered in mono - mode. The comparison was carried out on a biological model of non-inflammatory alopecia, the results were presented and analyzed. The study involved 15 rabbits of the French sheep breed, on which the alopecia site was formed experimentally. The animals were divided into 3 groups – 5 animals in the experimental groups, and 5 in the control intact group. The growth of wool at the site of the alopecia lesion was noted more actively in 5 laboratory animals receiving combined therapy using micronidling and intradermal mesotherapeutic infiltration of arginine.*

### Введение

В настоящее время диагностируют ряд невоспалительных алопеций у собак, не связанных с гормональной дисфункцией, паразитарной или грибковой инвазией, а также аутоиммунной этиологией. Ветеринарные специалисты имеют реальный шанс стол-

кнуться с такими патологиями кожного покрова у собак, как X-алопеция, рецидивирующая алопеция туловища, паттерн-алопеция, очаговая алопеция. Этиология этих заболеваний сегодня достоверно не установлена, а предложенные методы лечения не имеют достаточной эффективности. Такие виды



алопеций предрасполагают порой к хроническим грибковым и бактериальным заболеваниям кожи у больных собак. Больные животные, несущие ценные племенные качества, не могут выставляться, что приносит материальный ущерб их владельцам.

По данным зарубежных исследователей, дермальный сосочек (дермальная папилла) является участком экспрессии различных генов, связанных с ростом волос. Многие исследования показали основополагающую важность белков Wnt (сигнальный путь Wnt – один из внутриклеточных сигнальных путей животных, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей) и факторов роста раны в стимулировании стволовых клеток, ассоциированных с дермальной папиллой. [3,4]

Кожный сосочек, кластер специализированных фибробластов, регулирует рост и активность различных клеток в фолликуле, тем самым играя ключевую роль в регуляции цикличности и роста волос. [1] Регенерация волосяного фолликула начинается, когда сигналы от клеток кожного сосочка, полученных из мезенхимы, достигают мультипотентных эпидермальных стволовых клеток в области сосочка.

Механизмы повторного роста волос, вызванные микронидлингом, включают: [5,6]

1. Высвобождение тромбоцитарного фактора роста, эпидермальные факторы роста увеличиваются посредством активации тромбоцитов и механизма регенерации раны кожи;

2. Активация стволовых клеток в области дермальной папиллы в условиях заживления раны, вызванной дермароллером;

3. Сверхэкспрессия генов, связанных с ростом волос, сосудистого эндотелиального фактора роста, *B-catenin*, *Wnt3a* и *Wnt10b*. [2].

Использование микроигльчатой терапии при помощи дермароллера (микронидлинг) для возобновления роста шерсти у собак с алопецией X показало свою эффективность.

Механизм стимуляции роста шерсти после травматизации в настоящее время до кон-

ца неизвестен. Возможно, микроигльчатая терапия вызывает раздражение кожи, индукцию трансформирующего фактора роста  $3\beta$ , факторов роста фибробластов и коллагена. [9,10] Эта процедура активирует стволовые клетки в коже и ангиогенез в месте микро-травмы, что, вероятно, способствует возобновлению анагена и росту новой шерсти. [9]

В дерматологии большое значение придается аминокислотам, обладающим лечебным действием. Одной из важнейших является аргинин – условно незаменимая аминокислота, недостаток которой ведет к быстрому развитию патологических процессов [7,8]. Аргинин служит необходимым предшественником для синтеза белков и многих биологически важных молекул. Однако главная роль аргинина в организме человека и животного – быть субстратом для синтеза оксида азота.

Физиологическое действие оксида азота варьирует от модуляции сосудистой системы до регуляции иммунных процессов (клеточноопосредованный иммунитет, воздействие нейтрофильных гранулоцитов на патогенные микроорганизмы, неспецифическая иммунная защита) и контроля нейрональных функций (передача сигнала в неадренергических холинергических нейронах, синаптическая пластичность в центральной нервной системе, осцилляторная активность нейрональной сети, нейропротекция). Роль оксида азота в поддержании сосудистого гомеостаза сводится к регуляции сосудистого тонуса, пролиферации и апоптоза, а также регуляции оксидантных процессов. Кроме того, оксиду азота присущи ангиопротекторные свойства. Оксид азота ответственен за противовоспалительные эффекты, такие, как ингибирование экспрессии молекул клеточной адгезии ICAM-1 (intercellular adhesion molecules 1 — молекулы межклеточной адгезии 1-го типа), VCAM-1 (vascular cellular adhesion molecules 1 — молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа) и тканевого фактора; ингибирование высвобождения хемокинов, таких, как MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1 — моноцитарный хемотаксический фактор-1). Оксид азота блокирует агрегацию тромбоцитов и оказывает фибринолитический эффект.

В связи с этим целью нашего исследования стала разработка универсального метода лечения с использованием внутрикожного мезотерапевтического введения аргинина и дермароллера на биологической модели индуцированной невоспалительной алопеции у кроликов в эксперименте. Оба компонента такой терапевтической схемы, взаимодействуя в области дермального сосочка и, влияя на уровень оксида азота, факторов роста, уровни сигнальных молекул и состояние микроциркуляторного русла, могут приводить к возобновлению роста шерсти.

## Материалы и методы исследований

Объектами исследования стали 15 6-месячных кроликов породы французский баран различного пола, массой 4000 – 4500 г, которых разделили на 3 группы: по 5 особей две опытные группы и одна контрольная группа. Клинически все животные были здоровы, содержались в одинаковых условиях в соответствии с ГОСТ 33216-2014 (22 декабря 2014 г. N 73-П). Перед проведением эксперимента в течение 1 месяца проходили подготовку, включающую адаптацию к корму, блоку содержания. Обследование включало оценку общего состояния животных, поедаемости корма и прибавки в весе. На лабораторных животных использовалась модель термического ожога кожи IIIA степени, так как поверхностные ожоги являются адекватной моделью для доклинического изучения местных стимулирующих рост шерсти препаратов. Был использован контактный способ нанесения ожога насадкой к электропаяльнику размером примерно 2\*3 см, разогретой до 232°C, с 5-10 секундной экспозицией. Предварительно место нанесения ожога обрабатывалось гелем «Диасептик 40», а также обезболивалось инфильтрационной анестезией с использованием 0,5% новокаина. Восстановление роста шерсти в очаге алопеции начинали после полной эпителизации раневой поверхности, которая наступала на 40-42 сутки эксперимента.

Животным первой группы использовали метод лечения, включающий еженедельную

обработку кожи дермароллером в течение 5 недель. Животным второй группы использовали метод лечения, включающий еженедельное внутрикожное введение аргинина гидрохлорида 4,2% и обработку очага алопеции дермароллером с длинной микроигл 1 мм, также на протяжении 5 недель. С помощью животных контрольной интактной группы отмечали начало роста шерсти без использования какой-либо стимуляционной терапии.

В первой группе дермароллером DRS проводили обработку очага алопеции в течение 5-10 минут в 4-х направлениях еженедельно на протяжении всего времени эксперимента. Во второй группе, после инъектирования 0,01-0,02 мл препарата в несколько точек методом наппаж, через 3-5 дней зона алопеции прокатывалась дермароллером в 4-х направлениях в течение 5-10 минут. В третьей группе не стимулировали рост шерсти после заживления ожога для того, чтобы оценить эффективность двух представленных выше методов.

Проводили гистологическое исследование кожных биоптатов после формирования невоспалительной алопеции на месте ожога (40-42 сутки), для того чтобы убедиться, что экспериментальная модель такой алопеции будет подобна гистологии кожи собак с невоспалительными алопециями неясной этиологии. Обычно выявляется ортокератоз, гиперкератоз волосяных фолликулов, дилатацию волосяных фолликулов, эпидермальный меланоз, телогенизацию волосяных фолликулов (таблица 1).

## Результаты эксперимента и обсуждение

Результаты исследования показали, что сочетанное использование дермароллера и внутрикожного введения аргинина дает более быстрое и равномерное отрастание шерсти, чем использование дермароллера в монорежиме. Рост шерсти при комбинированной терапии отмечался уже на 12-14 сутки, тогда как посредством только микронидлинга этого удалось достичь к 19-21 суткам. В группе интактного контроля рост шерсти отмечали к 41-43 суткам после заживления раневой поверхности.

Таблица 1

## Обобщенные сведения о проводимых манипуляциях

	1 группа Дермороллер DRS, 1 мм	2 группа Мезотерапия аргинин техника наппаж + DRS	3 группа Интактный контроль
Проводимые мероприятия	Еженедельная обработка участка алопеции дермароллером	Еженедельная внутрикожная инъекция участка алопеции аргинином + дермароллер	Самопроизвольное отрастание шерсти
Начало роста шерсти	19-21 сутки	12-14 сутки	41-43 сутки

Результаты гистологического исследования биоптатов показали фиброз дермы, гиперкератоз волосяных фолликул, гиперплазию эпидермиса, что позволило считать полученную модель алопеции подходящей для нашего исследования (таблица 2).

### Заключение

Полученные на экспериментальных животных результаты позволяют говорить об эффективности предложенной терапии, требуется подтверждение клинического эффекта на собаках, страдающих хроническими невоспалительными алопециями. В дальнейшем мы планируем провести серию исследований на больных собаках, провести гистологическое исследование кожных биоптатов до и после достижения клинического эффекта, провести исследование показателей крови и гормонов.

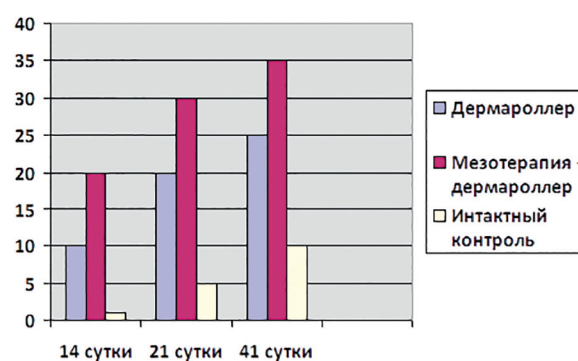


Рис. 1. График, отражающий скорость роста шерсти во всех группах

### Выводы

1. Рост шерсти достоверно был больше при применении внутрикожной инъекции аргинина, с совместным применением дермароллера – шерсть на пораженном участке наблюдалась на 12-14 сутки, при использо-

Таблица 2

## Результаты исследования

	1 группа	2 группа	3 группа
1е сутки после эпителизации			
	14 сутки	21 сутки	41 сутки



вании только дермароллера – 19-21 сутки и в интактной группе – 41-43 сутки.

2. Внутривенная инъекция аргинина, с совместным применением дермароллера в экспериментальном исследовании на кроликах зарекомендовала себя как самый эффективный метод при лечении алопеций незаразной патологии и может быть предложена при лечении животных на практике.

## Литература

1. Kwack M.H. Dihydrotestosterone-inducible dickkopf 1 from balding dermal papilla cells causes apoptosis in follicular keratinocytes / Kwack M.H., Sung Y.K., Chung E.J., Im S.U., Ahn J.S., Kim M.K., Kim J.C. // Invest Dermatol. 2008 Feb; 128(2): 262-9. [PubMed]

2. Chen D. Dermal  $\beta$ -catenin activity in response to epidermal Wnt ligands is required for fibroblast proliferation and hair follicle initiation / Chen D., Jarrell A., Guo C., Lang R., Atit R. // Development. 2012 Apr; 139(8):1522-33. [PubMed]

3. Reddy S. Characterization of Wnt gene expression in developing and postnatal hair follicles and identification of Wnt5a as a target of Sonic hedgehog in hair follicle morphogenesis / Reddy S., Andl T., Bagasra A., Lu M.M., Epstein D.J., Morrisey E.E., Millar S.E. // Mech Dev. 2001 Sep; 107(1-2): 69-82. [PubMed]

4. Plikus M.V. Cyclic dermal BMP signalling regulates stem cell activation during hair regeneration / Plikus M.V., Mayer J.A., de la Cruz D., Baker R.E., Maini P.K., Maxson R., Chuong C.M. // Nature. 2008 Jan 17; 451(7176):340-4. [PubMed]

5. Jeong K. Repeated microneedle stimulation induce the enhanced expression of hair-growth-related genes. / Jeong K., Lee Y.J., Kim J.E., Park Y.M., Kim B.J., Kang H. // Int J Trichology. 2012; 4: 117.

6. Kim B.J. Hair follicle regeneration in mice after wounding by microneedle roller. / Kim B.J., Lim Y.Y., Kim H.M., Lee Y.W., Won C.H., Huh C.H. // Int J Trichology. 2012; 4:117.

7. Daly J.M. Enteral nutrition with supplemental arginine, RNA, and omega-3 fatty acids in patients after operation: immunologic, metabolic and clinical outcome / Daly J.M., Lieberman M.D., Goldfine J. // Surgery 1992; 112: 56-67.

8. Darmaun D. Glutamine and glutamate kinetics in humans / Darmaun D., Matthews D.E., Bier D.M. // Am. J. Physiol 1986; 251: 117—126.

9. Liebl H. Skin cell proliferation stimulated by microneedles / Liebl H., Kloth L.C. // J Am Coll Clin Wound Spec 2012; 4: 2-6.

10. Zeitter S. Microneedling: matching the results of medical needling and repetitive treatments to maximize potential for skin regeneration / Zeitter S., Sikora Z., Jahn S. // Burns 2014; 40: 966-973.

## 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



5,9 кг

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



Датчики мультичастотные 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.



Организованы курсы ветеринарные УЗИ

**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](mailto:rateks@rateks.com) <http://rateks.com>



DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10026

УДК 615.038

Ключевые слова: антисептическое средство, бактерицидные свойства, штаммы, глутаровый альдегид, микроорганизмы

Key words: antiseptic, bactericidal properties, strain, glutaraldehyde, microorganisms

Васильева С.А.<sup>1</sup>, Родионова Т.Н.<sup>1</sup>, Мариничева М.П.<sup>1</sup>, Савина С.В.<sup>1</sup>, Фокин А.И.<sup>2</sup>

## БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА АНТИСЕПТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ «СМЕЙК-ХУВС» *BACTERICIDAL PROPERTIES OF ANTISEPTIC OF VETERINARY ASSIGNMENT "SMEYK-HUVS"*

<sup>1</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Вавилова

Адрес: 410005, Россия, г. Саратов, ул. Соколова, 335

*Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov*

*Address: 410005, Russia, Saratov, st. Sokolovaya, 335*

<sup>2</sup>ООО «Группа Фокина»

Адрес: 412950, Россия ООО «Группа Фокина», Саратовская обл., г. Шиханы, ул. Полещикова, д. 29

*Ltd. "Gruppa Phokina"*

*Address: 412950, Russia, Saratov reg. Shihany, st. Poleschikova, 29*

Васильева Светлана Алексеевна, аспирант. E-mail: svetavas90@mail.ru. Тел.: +7 (987) 378 92 28

*Vasilyeva Svetlana Alekseevna, Post-graduate Student. E-mail: svetavas90@mail.ru. Tel.: +7 (987) 378 92 28*

Родионова Тамара Николаевна, доктор биологических наук, профессор.

E-mail: tamararodionova@yandex.ru. Тел.: +7 (987) 824 86 07

*Rodionova Tamara Nikolaevna, Doctor of Biological Sciences, Professor.*

*E-mail: tamararodionova@yandex.ru. Tel.: +7 (987) 824 86 07*

Мариничева Марина Петровна, кандидат ветеринарных наук, доцент.

E-mail: kulzenevamp@mail.ru. Тел.: +7 (919) 825 93 19

*Marinicheva Marina Petrovna, Candidate of Veterinary Sciences, Professor.*

*E-mail: kulzenevamp@mail.ru. Tel.: +7 (919) 825 93 19*

Савина Светлана Валерьевна, кандидат ветеринарных наук, доцент.

E-mail: sgau\_ic@mail.ru. Тел.: +7 (987) 833 83 73

*Savina Svetlana Valeryevna, Candidate of Veterinary Sciences, Professor.*

*E-mail: sgau\_ic@mail.ru. Tel.: +7 (987) 833 83 73*

Фокин Андрей Иванович, директор ООО «Группа Фокина».

E-mail: gruprafokinaooo@yandex.ru. Тел.: +7 (845) 934 01 30

*Phokin Andrey Ivanovich, Director, "Gruppa Phokina" LTD.*

*E-mail: gruppafokinaooo@yandex.ru. Tel.: +7 (845) 934 01 30*

**Аннотация.** В статье приведены результаты исследований бактерицидных свойств нового антисептического средства ветеринарного назначения «Смейк-ХУВС». В качестве действующего вещества в средство входит 15% глутарового альдегида и 5% алкилдиметилбензиламмония хлорида. Вещества, входящие в состав препарата, позволяют работать ему в крайне тяжелых условиях, подразумевающие присутствие органических загрязнителей, ультрафиолетовое излучение, низкие температуры и воду повышенной жесткости.

Исследования выполняли согласно Государственной фармакопее XII, ч.1 общая фармакопейная статья 42-0068-07 «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар».

В ходе проведения исследований было установлено, что антисептическое средство «Смейк-ХУВС» обладает бактерицидными свойствами в отношении всех штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* 1027, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Fusobacterium necrophorum* 20 ВКШМ-Б-160М, *Campylobacter jejuni subsp. jejuni* 70.2 Т ВКШМ-Б-59П, которые были изучены. Наибольшие бактерицидные свойства препарат «Смейк-ХУВС» проявил к штаммам *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Bacillus cereus* ATCC 11778.

**Summary.** The article presents the results of the researches of bactericidal properties of the new antiseptic agent for veterinary purposes "Smeyk-HUVS". Active substance consist of glutaric dialdehyde and 5% of alkyl dimethylbenzylammonium chloride. That agent works in extremely difficult environment such as a lot of organic pollutants, ultraviolet radiation, low temperature and the high rigidity of water. The research made by the state pharmacopoeia XII. 42-0068-07 "identification of anti microbial activity by diffusion method in the agar".

During the research, it was found that the antiseptic "Smeyk-HUVS" has bactericidal properties against all strains of microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* 1027, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Pseudomonas*

*aeruginosa* ATCC 9027, *Fusobacterium necrophorum* 20 T ICSM-B-160P, 7828, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* 70.2 T ICSM-B-59P. that have been studied. The greatest bactericidal properties of "Смейк-ХУВС" showed to the strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Bacillus cereus* ATCC 11778.

## Введение

Широкое использование антибиотиков при терапии гнойно-некротических инфекций приводит к распространению устойчивых штаммов бактерий, и вследствие этого к ограничению терапевтических возможностей, увеличению случаев возникновения аллергических реакций, а также к другим побочным действиям. [2, 5, 8]

В настоящее время перед ветеринарной фармакологией стоят задачи изучения вопросов создания эффективных антисептических препаратов, механизм действия которых направлен на преодоление резистентности микроорганизмов к ним, а также предотвращение роста и уничтожение гноеродных возбудителей на уровне клеточной мембраны.

Исходя из этого, в литературе появились данные об использовании антибактериальных препаратов – антисептиков. [1]

Эффективность применения антисептиков обусловлена, простотой и удобством применения, хорошей растворимостью в воде, быстротой действия, длительностью срока хранения, экологической безопасностью, бактерицидностью действия на вирулентную грамположительную и грамотрицательную микрофлору, вирусы, дрожжеподобную, плесневую, грибковую микрофлору. [3, 6, 7]

Учитывая вышеперечисленные требования, «Группа Фокина» (Россия) создала антисептическое средство ветеринарного назначения «Смейк-ХУВС» для антисептической обработки раневых поверхностей.

В качестве действующего вещества в средство входит 15% глутарового альдегида и 5% алкилдиметилбензиламмония хлорида. Вещества, входящие в состав препарата, позволяют работать ему в крайне тяжелых условиях, подразумевающие присутствие органических загрязнителей, ультрафиолетовое излучение, низкие температуры и воду повышенной жесткости.

Целью исследования являлось определение бактерицидной активности 2 % и 5 % раствора препарата «Смейк-ХУВС» в отно-

шении бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* 1027, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Fusobacterium necrophorum* 20 ВКШМ-Б-160М, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* 70.2 Т ВКШМ-Б-59П.

На основании чего были поставлены следующие задачи:

– Определить бактерицидную активность 2% раствора препарата «Смейк-ХУВС» в отношении бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* 1027, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Fusobacterium necrophorum* 20 ВКШМ-Б-160М, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* 70.2 Т ВКШМ-Б-59П в сравнении с контрольным веществом (глутаровым альдегидом).

– Определить бактерицидную активность 5% раствора препарата «Смейк-ХУВС» в отношении бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* 1027, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Fusobacterium necrophorum* 20 ВКШМ-Б-160М, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* 70.2 Т ВКШМ-Б-59П в сравнении с контрольным веществом (с глутаровым альдегидом).

## Материалы и методы

Исследования выполняли согласно Государственной фармакопее XII, ч.1 общая фармакопейная статья 42-0068-07 «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар».

Односуточные культуры микроорганизмов разводили по стандарту 1 млрд. микробных клеток/мл и добавляли в расплавленную и остуженную до 45°C (при использовании спор *B.cereus* ATCC 11778 – до 65°C) питательную среду (соответствующую каждому виду изучаемого микроорганизма). Посевную дозу устанавливали опытным путём, она составляла для *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* 1027, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *L. acidophilus* 457, *F. necrophorum* 20 ВКШМ-

Б-160М, *C. jejuni subsp. jejuni* 70.2 Т ВКШМ-Б-59П – 40 млн. микробных клеток на 1 мл среды, для *B. cereus* ATCC 11778 – 20 млн. спор на 1 мл среды. В стерильные чашки Петри, установленные строго горизонтально, разливали 20 мл предварительно засеянной микроорганизмами питательной среды. Стерильным цилиндром высотой ( $10 \pm 0,1$ ) мм и внутренним диаметром ( $6,0 \pm 0,1$ ) мм из нержавеющей стали на поверхности засеянной среды на равном расстоянии друг от друга и от края чашки делали 6 лунок. В лунки вносили 0,1 мл 2 % и 5 % раствора препарата «СМЕЙК-ХУВС» и 2 % и 5 % раствор глутарового альдегида в качестве контрольного действующего вещества. Для исследования бактерицидной активности 2 % раствора препарата «СМЕЙК-ХУВС» в отношении каждой из изучаемых культур микроорганизмов использовали 6 чашек Петри. В 3 лунки каждой чашки Петри вносили раствор изучаемого препарата и в 3 лунки вносили раствор глутарового альдегида в качестве контроля, чередуя их между собой. Аналогично производили исследование бактерицидной активности 5 % раствора препарата «СМЕЙК-ХУВС». Все эксперименты проводили в трёхкратной повторности. Чашки ставили в термостат при ( $36 \pm 1$ ) °С, не переворачивая, строго горизонтально. После инкубации в термостате в течение 16-18 часов (для *B. cereus* ATCC 11778, *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* 1027, *P. aeruginosa* ATCC 9027), 44 часа (для *L. acidophilus* 457) штангельциркулем измеряли зону угнетения роста микроорганизмов. Оценка результатов проводилась вокруг лунки, включая и диаметр самой лунки. Отсутствие зон угнетения роста вокруг лунки указывали на то, что испытываемая культура не чувствительна к данному препарату. Зона диаметром более 10 мм указывала на чувствительность испытываемой культуры к данному препарату. Чем больше зона задержки роста испытываемой культуры, тем выше её чувствительность к данному препарату.

При обработке данных по значению зон угнетения роста микроорганизмов проводили методом вариационной статистики с помощью простого сравнения средних по двухсторонне-

му t-критерию Стьюдента. Различия определяли при  $P \leq 0,05$  уровне значимости.

Расчет выполнен на персональном компьютере с использованием приложения Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp. USA) и пакета статистического анализа данных StatPlus 2009 professional 5.8.4 for Windows (StatSoft Inc., USA).

## Результаты и обсуждение

Результаты полученных исследований показали, что, антисептический препарат ветеринарного назначения «Смейк-ХУВС» в концентрации 2% и 5% проявлял бактерицидную активность в отношении всех изучаемых культур микроорганизмов, в сравнении с контрольным действующим веществом – глутаровым альдегидом (таблица 1).

Из данных в таблице 1 следует, что наибольшая антимикробная активность изучаемого препарата наблюдалась в отношении штаммов бактерий *S. aureus* ATCC 6538. Антисептическое средство «Смейк-ХУВС» увеличило диаметр зоны угнетения роста микроорганизмов от 27,5 до 29,5 мм против контроля с глутаровым альдегидом от 12,8 до 19,93 мм.

Увеличился диаметр зоны угнетения роста микроорганизмов от 21,0 до 24,3 мм относительно *B. cereus* ATCC 11778. 2 % и 5 % раствор антисептического средства «Смейк-ХУВС» проявлял бактерицидное действие, тогда как глутаровый альдегид не проявлял бактерицидную активность к данным микроорганизмам (в 2% концентрации) или проявлял ее незначительно, диаметр зоны угнетения 5 % раствора глутарового альдегида составлял 12,6 мм.

Положительное бактерицидное действие антисептического препарата «Смейк-ХУВС» в концентрации 2 % и 5 %, также наблюдались в культурах *E. coli* 1027, *C. jejuni subsp. jejuni* 70.2 Т ВКШМ-Б-59П, *F. necrophorum* 20 ВКШМ-Б-160М. Однако, достоверных различий относительно глутарового альдегида не наблюдалось.

Отмечено, что бактерицидная активность по сравнению с глутаровым альдегидом через 18 ч. к штаммам микроорганизмов *P. aeruginosa* ATCC 9027 антисептика «Смейк-ХУВС» была или незначительно ниже (для 2%),

Таблица 1

## Бактерицидная активность препарата «Смейк-ХУВС»

Культуры микроорганизмов	Размеры зоны угнетения роста, мм			
	СМЕЙК-ХУВС		Контроль (глутаровый альдегид)	
	2 %	5 %	2 %	5 %
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	27,5±0,37*	29,5±0,7*	12,8±0,62	19,93±0,42
<i>E. coli</i> 1027	14,6±0,3	19,7±0,5	11,3±0,3	18,9±0,5
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	21,0±0,6	24,3±0,91*	нет зоны угнетения	12,6±1,52
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	11,8±0,2	13,4±0,3	13,1±0,4	13,4±0,3
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i> 70.2 Т ВКШМ-Б-59ПАТСС 9027	19,3±0,2	21,1±0,6	16,9±0,3	19,8±0,5
<i>F. necrophorum</i> 20 ВКШМ-Б-160М	15,3±0,3	18,6±0,6	14,7±0,4	17,1±0,4

Примечание: \* – достоверность при  $p \leq 0,05$

или равная бактерицидной активности (5%) глутарового альдегида.

Отмечено, что бактерицидная активность 2% препарата «Смейк-ХУВС» через 18 часов к штамму микроорганизма *P. aeruginosa* ATCC 9027 была незначительно ниже относительно глутарового альдегида, ее зона угнетения роста составила 11,8 мм против 13,1 мм в контроле. 5 % раствор препарата «Смейк-ХУВС» проявлял свою активность на уровне контроля, его зона угнетения роста составляла 13,4 мм.

### Заключение

Изучаемые нами бактерицидные свойства препарата «Смейк-ХУВС» показали, что данный препарат является более активным антисептиком по отношению к глутаровому альдегиду. Препарат активен против инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* 1027, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Fusobacterium necrophorum* 20 ВКШМ-Б-160М, *Campylobacter jejuni subsp. jejuni* 70.2 Т ВКШМ-Б-59П. Наибольшая активность препарата проявляется по отношению к *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Bacillus cereus* ATCC 11778 по сравнению с контрольным веществом глутаровым альдегидом. Учитывая вид инфекции, возможно применение 2% раствора или 5 % раствора препарата «Смейк-ХУВС» в зависимости от наличия микрофлоры или тяжести патологического процесса.

### Список литературы

- Евглевский Д.А. Повышение биоцидных и лечебных свойств антисептика-стимулятора Дорогова АСД-2Ф «Айсидивит» коллоидными ионами серебра / Евглевский Д.А., Евглевский А.А. // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. - №5. – С. 74.
- Григорьев, В. Г. Актуальные проблемы госпитальной инфекции в многопрофильной хирургической клинике (МХК) [Текст] / Е. Г. Григорьев, Т. В. Фадеева, С. А. Врещагина // Современные проблемы антимикробной химиотерапии: мат-лы VII рос. конф. – М., 2005. – С. 30-31.
- Набокин, И.И. Лечение гнойных ран иммобилизованным антисептиком натрия гипохлорит в геле полимеров в экспериментах in vivo [Текст] / И. И. Набокин, А. И. Бежин, А. А. Бузов // Клинические исследования лекарственных средств: мат-лы конф. – М., 2002. – С. 130-131.
- Елисеев, А. Н. Лечение гнойно-некротических поражений тканей пальцев у скота [Текст] / А. Н. Елисеев // Ветеринария. – 2000. - № 12. – С. 43-44.
- Кальницкая, О.И. Использование антибиотиков в ветеринарии и животноводстве / О.И. Кальницкая // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Лекарственные средства для животных и корма. Современное состояние и перспективы». – М.: ЗАО Фон, 2005. – С. 51-53.
- Палий, А.П.. Эффективность применения некоторых дезинфицирующих препаратов в ветеринарии // Вестник Алтайского гос. аграр. ун-та. — 2014. — № 5 (115). — С. 135-138.
- Федорова, Л.С. Методология создания новых дезинфицирующих средств / Л.С. Федорова // Дезинфекц. дело. — 2008. — № 31. — С. 34-37.
- Онуфриенко, М. Э. Актуальные проблемы ветеринарной медицины мелких домашних животных [Текст] / М. Э. Онуфриенко. – СПб., 2000. – 253 с.



DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10027

УДК 574.577

Ключевые слова: ашваганда, астрагал, каллусные культуры, микроклоны, биологическая активность, цитотоксичность, фунгицидная активность

Key words: callus cultures, microclones, biological activity, cytotoxicity, fungicidal activity *Astragalus Dasyanthus* Pall, *Withania somnifera* L.

Калашникова Е.А.<sup>1</sup>, Киракосян Р.Н.<sup>1</sup>, Зайцева С.М.<sup>2</sup>

## ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ И ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАСТЕНИЙ АШВАГАНДЫ И АСТРАГАЛА В УСЛОВИЯХ IN VITRO

### CYTOTOXICITY AND FUNGICIDAL ACTIVITY OF EXTRACTS OBTAINED FROM PLANTS OF ASHWAGANDA AND ASTRAGALUS IN VITRO

<sup>1</sup>Российский Государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева

Адрес: 127550 Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, дом 49

*Russian State agrarian university-MTAA named after K. A. Timiryazev*

Address: 127550 Russian Federation Moscow, Timiryazevskaya street, 49

<sup>2</sup>Московская Государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии МВА имени К.И. Скрябина

Адрес: 109472, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23

*Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named after K. I. Skryabin*

Address: 109472, Russian Federation, Moscow, Akademika Skryabina street, d. 23

Калашникова Елена Анатольевна д.б.н. профессор. E-mail: Kalash0407@mail.ru

*Kalashnikova Elena Anatol'evna. Doctor in Biological Sciences, Professor. E-mail: Kalash0407@mail.ru*

Киракосян Рима Нориковна, к.б.н., доцент. E-mail: Mia4129@mail.ru

*Kirakosyan Rima Norikovna. Associate Professor, PhD. In Biological Science. E-mail Mia4129@mail.ru*

Зайцева Светлана Михайловна к.б.н., доцент. E-mail: Smzaytseva@yandex.ru

*Zaytseva Svetlana Mikhailovna, Associate Professor, PhD. In Biological Science. E-mail: Smzaytseva@yandex.ru*

**Аннотация.** При изучении микроклонов и каллусной ткани лекарственных растений выяснили, что в условиях *in vitro* сохраняются фунгицидная активность и цитотоксичность, присущая интактным растениям. Растительные экстракты, полученные из микроклонов растений *Astragalus Dasyanthus* Pall, *Withania somnifera* L., оказывали более высокое цитотоксическое действие на раковые клетки человека, чем экстракты, полученные из каллусной ткани. Фунгицидная активность экстрактивных веществ микроклонов также была выше, чем каллусных культур.

**Summary.** In the study of microclones and callus tissue of medicinal plants it was found that fungicidal activity and cytotoxicity inherent in intact plants is preserved *in vitro*. Plant extracts obtained from microclones of plants *Astragalus Dasyanthus* Pall, *Withania somnifera* L. have a higher cytotoxic effect on human cancer cells than extracts obtained from callus tissue. The fungicidal activity of extractive substances of microclones was also higher than that of callus cultures.

## Введение

Благодаря физиолого-биохимическим особенностям растительного метаболизма, где помимо реакций первичного обмена, синтезируются разнообразные вещества вторичного происхождения, обладающие высокой биологической активностью, целебные свойства растений широко используются в фитотерапии. Растения образуют чрезвычайно разнообразный спектр вторичных веществ, обуславливающих обширное терапевтическое действие их экстрактивных веществ. В фитофармакогнозии – одной из основных фармацевтических наук, изучающей растительное сырье для научной меди-

цины, в том числе и ветеринарной, известны гепатопротекторные, нейрорегуляторные, капилляроукрепляющие, желчегонные и противоопухолевые и многие другие свойства растительного сырья [1].

Как правило наиболее ценные для фитофармакогнозии растения характеризуются ограниченным ареалом и специфическими условиями произрастания и отнесены к малочисленным исчезающим видам. В связи с этим, одним из перспективных направлений биотехнологии является сохранение биоразнообразия редких, лекарственных, а также исчезающих форм растений и создание на их основе генетических банков

*in vitro*. Успешно решить эту задачу позволяет применение метода клонального микро-размножения, благодаря которому в кратчайшие сроки возможно получить большое количество растений-регенератов генетически идентичных исходному виду при ограниченных ресурсах исходного материала. Кроме того, растительные культуры *in vitro* используются в биотехнологии не только в качестве модельного объекта, но в качестве источника ценных биологически активных веществ, которые успешно применяются в фармацевтической промышленности, а также для изучения вторичного метаболизма [5].

Перспективными объектами для изучения вторичного метаболизма, в том числе и в строго контролируемых условиях *in vitro*, являются такие растения, как астрагал (*Astragalus Dasyanthus Pall.*) и ашваганда (*Withania somnifera L.*). Особенности их вторичного метаболизма и способность к образованию богатого спектра веществ, в том числе и фенольной природы, обуславливает широкое терапевтическое действие экстрактивных веществ указанных растений [4]. Астрагал содержит флавоноиды, кумарины, тритерпеноидные сапонины, полисахариды и микроэлементы. На его основе получают настои для лечения начальных форм гипертонической болезни, недостаточности кровообращения и острых гламерунефритов, отмечено фунгицидное действие. Растения ашваганды на протяжении нескольких тысячелетий применяют в народной медицине при лечении заболеваний, вызванных оксидативным стрессом. Ашваганда также известна под несколькими другими названиями, такими, как индийский женьшень и зимняя вишня. В аювердической медицине растения ашваганды считаются одной из самых ценных и основополагающих культур, обладающих иммуномодулирующими, регенеративными и омолаживающими свойствами. Это обусловлено тем, что во всех частях растения (листьях, коре, плодах, семенах, и в большей степени в корне) синтезируются разнообразные вещества вторичного метаболизма – полифенолы и их гликозиды, сапонины, стероидные лактоны, олигосахариды, витанолид, а также свобод-

ный витаферин А (агликон), обладающий цитотоксическим действием [8].

Помимо описанных выше терапевтических действий, с давних времен эти растения известны в ветеринарии как весьма ядовитые растения для пасущихся животных, которые способны причинить значительный экономический ущерб и от непосредственной гибели животных. Зачастую у животных отмечается пристрастие к астрагалу. Они с большим удовольствием поедают астрагал, выискивая его в травостое, несмотря на патологические последствия и высокую смертность вследствие отравления. Животные, отравившиеся астрагалом, становятся апатичными, вялыми с прогрессирующей общей слабостью, наблюдается угнетение дыхания, потеря голоса, кашель, скрежет зубами и затруднение проглатывания корма.

Токсикология ядовитых растений тесно связана с биологическими науками – ботаникой, физиологией и биохимией растений, а также ветеринарными дисциплинами, прежде всего, с кормопроизводством и кормлением сельскохозяйственных животных.

Таким образом, изучение вторичного метаболизма растений имеет важное значение не только для фитотерапии, но и для токсикологии с целью обеспечения эффективного и безопасного кормопроизводства. Кроме того, вторичные метаболиты растений оказывают непосредственное влияние на успешность проведения исследований на культуре *in vitro*. Такие культуры в дальнейшем могут быть использованы для воспроизводства растений-регенератов генетически идентичных исходному виду, а также служить источником уникальных биологически активных веществ для фармацевтической промышленности [6]. Однако данных об образовании соединений, обладающих фунгицидными и цитотоксическими свойствами в интактных растениях и в культурах *in vitro*, не много.

В связи с тем, что в литературе практически отсутствуют данные об образовании вторичных веществ в микроклонах лекарственных растений *Astragalus Dasyanthus Pall* и *Withania somnifera L.*, то целью нашего исследования являлось изучение морфоген-

нетического потенциала данных растений и установление биологической активности их экстрактов *in vitro*, в качестве потенциальных источников высокоэффективных лекарственных препаратов, применяемых и для ветеринарной медицины.

## Методы и материалы

Материалом для работы служили растения астрагала (*Astragalus Dasyanthus Pall*) и ашваганды (*Withania somnifera L.*) произрастающих в природных условиях и на территории Главного ботанического сада РАН (Москва). В качестве эксплантов использовали семена, побеги, почки и листовые пластинки, которые культивировали на питательной среде Мурасига и Скуга, содержащей вещества с цитокининовой (БАП, 2ip, кинетин (0,5 -1,0 мг/л)) и ауксиновой (НУК 0,5-1,0 мг/л, ИМК и ИУК 1-7 мг/л) активностью. Растительный материал выращивали в условиях световой комнаты, где поддерживалась температура  $25\pm 2^\circ\text{C}$ , 16-часовой фотопериод, освещение белыми люминесцентными лампами OSRAM L36/25 с интенсивностью освещения 3,5 тыс. лк. Для укоренения микропобегов использовали модифицированную питательную среду Мурасиге и Скуга, содержащую  $\frac{1}{2}$  нормы макросолей, а также сахарозу 20 г/л и ИУК 1 мг/л.

Для определения цитотоксического эффекта растительных экстрактов использовали МТТ-тест. Работу проводили в 96-луночном плейте. В каждую лунку вносили раковые клетки в количестве  $2\cdot 10^4$  клеток/лунка, добавляли 100 мкл питательной среды и инкубировали в течение 1 часа. Лиофильно высушенные спиртовые экстракты растений-регенерантов (ашваганды и астрагала) растворяли в DMSO до концентрации 5000 мкг/мл, после чего проводили разбавление раствора до 50 мкг/мл и полученные концентрации в дальнейшем наносили на раковые клетки человека. К содержимому каждой лунки добавляли по 25 мкл МТТ (4 мг/мл в PBS), который первоначально был профильтрован, после чего проводили инкубацию в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 4 часов. После этого в каждую лунку добавляли по

50 мкл SDS (20% SDS на воде с 0,02 N HCl или H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) и инкубировали в течение ночи. Затем измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 570 и 650 нм. В качестве объекта исследования была взята линия клеток M-HeLa (эпителиоидная карцинома шейки матки человека, сублиния HeLa, клон M HeLa, коллекция Института цитологии РАН, Санкт-Петербург). В контрольном варианте экстракты не вносили.

Определение фунгицидной активности растительных экстрактов проводили на чистой культуре грибов рода *Fusarium*, в частности *Fusarium culmorum* (штамм M-10-1, выделенный из растений пшеницы, 2009, Московская область) и *Fusarium sporotrichioides Sherd* (штамм OP-14-1, выделенный из растений пшеницы, 2014, Орловская область).

Данные штаммы были выделены и идентифицированы сотрудниками лаборатории микологии Института фитопатологии РАН.

Для эксперимента использовали живые культуры грибов рода *Fusarium L.* (*Fusarium culmorum*, *Fusarium sporotrichioides*), длительно хранившиеся в холодильнике при температуре  $+4^\circ\text{C}$ , первоначально размножали на питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи МС, не содержащей фитогормоны. Выращивали грибы в чашках Петри в условиях световой комнаты при температуре  $25^\circ\text{C}$ , 16-часовом фотопериоде, при интенсивности света 3000 лк. Пересадку осуществляли при необходимости на 5-7 сутки в ламинарном боксе. Растворенный в DMSO сухой растительный остаток, полученный из экстрактов, добавляли в состав питательной среды уже после ее автоклавирования.

Концентрация экстракта составила 30, 60, 100 мг/л. Контролем служила среда без экстракта, а также чистый растворитель (DMSO). Фунгицидную активность растительных экстрактов определяли по росту мицелий гриба. Для этого на 7-е сутки культивирования проводили измерение диаметра гриба в двух плоскостях.

## Результаты и обсуждения

Поскольку растения *Astragalus Dasyanthus Pall*, *Withania somnifera L.* относятся к цен-

ным немногочисленным видам и имеют ограниченный ареал распространения в природе, то большое практическое значение приобретает получение культур *in vitro*, как возможных источников биологически активных веществ и лекарственных препаратов. Известно, что каллусогенез является сложным процессом, который непосредственно зависит от применяемых гормонов, их концентрации, типа первичного экспланта и исследуемого генотипа. Отмечены некоторые особенности и закономерности в способности листовых эксплантов к каллусогенезу. Как правило, этот процесс начинался с периферийной зоны листа, а также в местах прикрепления черешка. По мере культивирования дифференцированные клетки листа полностью превращались в дедифференцированные и было отмечено активное формирование каллусной ткани.

Исследования показали, что гормональный состав питательной среды приводил к изменению морфофизиологических процессов, которые проявлялись в формировании каллусной ткани в основании первичного экспланта с последующей регенерацией растений, в индукции развития меристем. Микроклоны во всех случаях характеризовались интенсивным ростом, формированием мощной наземной биомассы и высоким коэффициентом размножения (Рис.1 А-Ф).

На основании многоплановых исследований по влиянию различных регуляторов роста на клональное микроразмножение изучаемых растений были установлены наилучшие сочетания гормонов и их концентрации, приводящие к максимальному пролиферативному эффекту. Для этих растений высокий коэффициент размножения, интенсивный рост пазушных меристем и формирование хорошо развитых побегов были отмечены на среде, содержащей БАП 0,5 мг/л в сочетании с ИУК 0,5 мг/л. Кроме того, для ашваганды высокие положительные результаты были получены и на среде, содержащей препарат Дропн (0,01 мг/л).

Как следует из анализа литературных источников, для растений ашваганды (*Withania somnifera*) и астрагала (*Astragalus Dasyanthus Pall*) в комплексе вторичных метаболитов преобладают такие вещества, как полифенолы, обладающие в том числе фунгицидным действием и противораковой активностью [7].

Поэтому изучение действия экстрактов данных растений на раковые клетки человека, является актуальным направлением и может служить косвенным признаком биосинтетической способности растений к образованию вторичных веществ обладающих не только биологической активностью, но и цитотоксическим действием. В нашей работе была изучена цитотоксичность экстрактов,

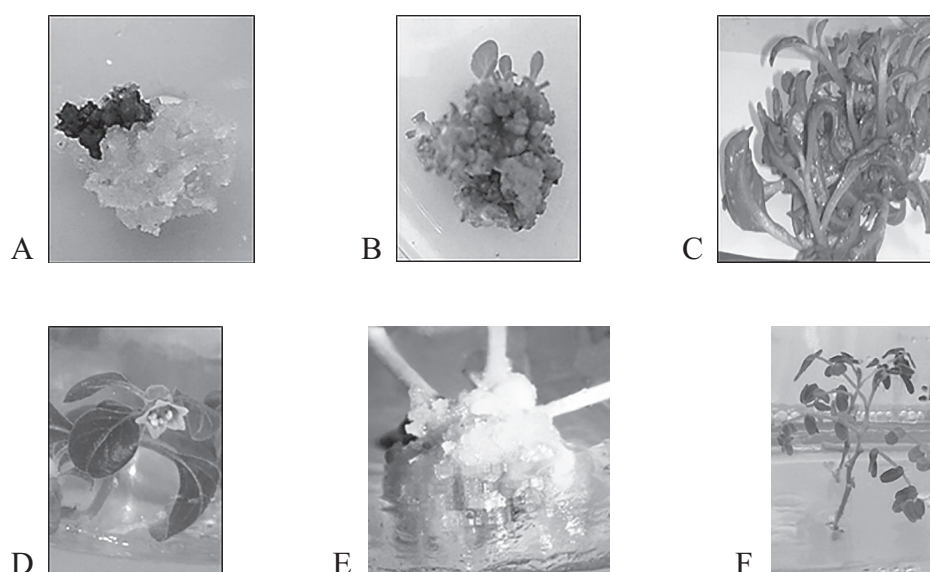


Рис. 1. А – каллусная ткань ашваганды, В – регенерация растений на каллусной ткани ашваганды, С, D – микроклон ашваганды Е – каллусная ткань астрагала, F – микроклон астрагала



полученных из растений-регенерантов ашваганды и астрагала, а также каллусной ткани ашваганды (Рис 2).

В результате проведенных исследований было установлено, что растительные экстракты, полученные из растений-регенерантов ашваганды и астрагала, при разных концентрациях обладают различной цитотоксичностью. Как следует из полученных результатов, малые концентрации экстрактов (50 мкг/мл) были не токсичны для исследуемых раковых клеток, о чем свидетельствует 100%-ное их выживание при использовании двух изучаемых экстрактов. Однако, по мере повышения концентрации цитотоксический эффект экстрактов начинал проявляться. Для экстрактов ашваганды, уже при концентрации 250 мкг/мл наблюдали гибель более 40% раковых клеток, а при концентрации 500 мкг/л и выше гибель раковых клеток была в пределах 90-95%.

Что касается экстрактов астрагала, то наибольшей цитотоксичностью обладали экстракты при концентрации 1000 мкг/л, когда выживаемость исследуемых раковых клеток составляла менее 10%, при этом концентрации экстракта 500 мкг/л также характеризовалась высоким цитотоксическим эффектом.

Так как наибольшей цитотоксичностью обладали растения – регенеранты ашваганды, было принято решение именно на культуре каллусной ткани этого растения проследить изменения цитотоксического эффекта в недеференцированных клетках. Результаты наших исследований растительных экстрактов, полученных из каллусной ткани, свидетельствуют, что цитотоксический эффект был слабо выражен и максимальная гибель раковых клеток (не более 24%) была отмечена лишь при самых высоких концентрациях экстракта – 5000 мкг/мл (Рис. 3). О том, что на основе продуктов вторичного метаболизма растений получают высокоэффективные лекарственные препараты для успешной терапии онкологических заболеваний, не раз сообщалось в литературе.

Полученные результаты могут служить косвенным признаком, характеризующим биосинтетический потенциал культур *in vitro* к образованию продуктов вторичного синте-

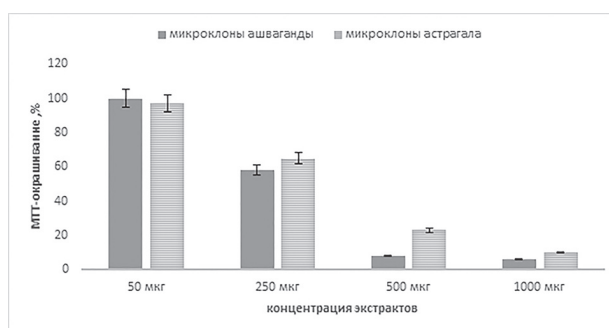


Рис. 2. Влияние различных концентраций растительных экстрактов микрклонов ашваганды и астрагала на жизнеспособность раковых клеток человека

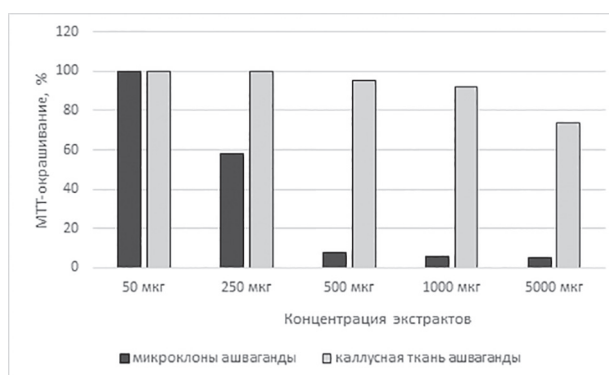


Рис. 3. Влияние различных концентраций растительных экстрактов микрклонов и каллусной ткани ашваганды на жизнеспособность раковых клеток человека

за. Выявленные особенности клеток к синтезу вторичных метаболитов, обладающих цитотоксичностью, обусловлены тем, что в клетках целого растения вторичные метаболиты образуются в строго дифференцированных клетках и этот процесс находится под контролем регуляторных систем растительного организма. Иное дело обстоит с дедифференцированными клетками (каллусная ткань), которые постоянно делятся и не переходят в дифференцированное состояние. Вследствие чего в каллусной ткани биосинтез ряда вторичных метаболитов может быть нивелирован, вплоть до его полного терминирования. Об изменении и угнетении вторичного метаболизма каллусных тканей еще несколько десятилетий назад сообщалось в научной литературе [3]. Согласно многочисленным исследованиям, данным процессом можно эффективно управлять, изменяя условия культивирования, например, химические факторы питательной среды (минеральные соли, гормоны), физические внешние факторы (спектральный состав света и

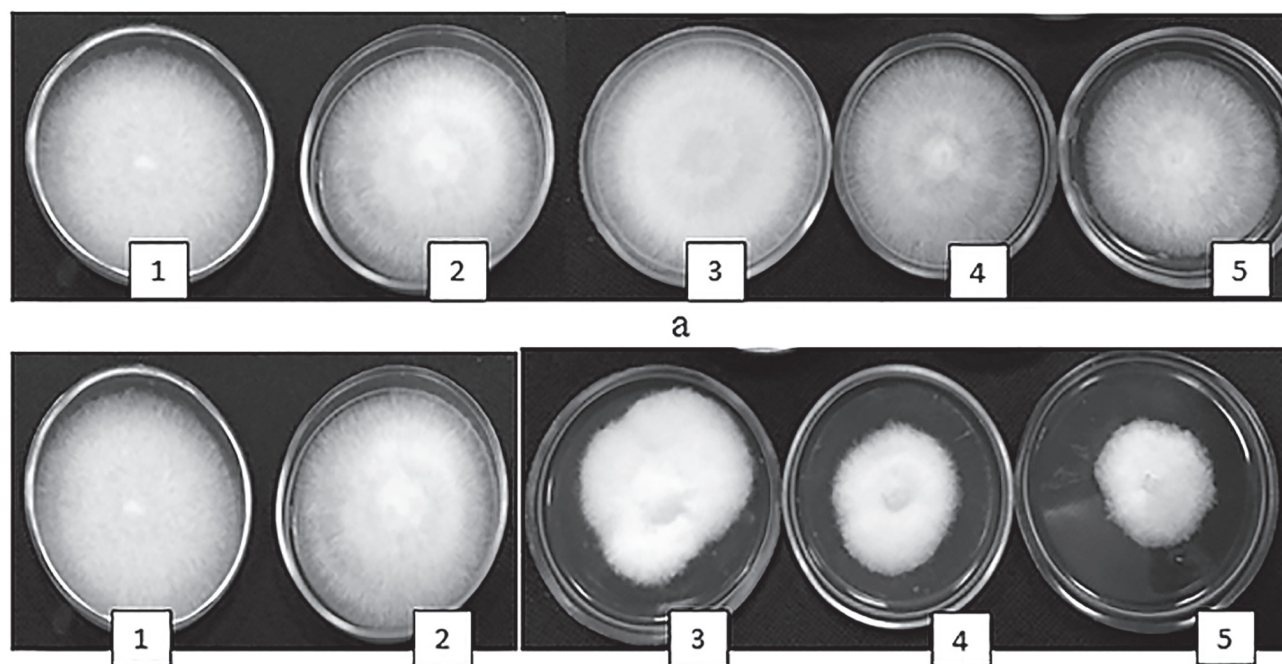


Рис. 4. Влияние различных концентраций экстрактов ашваганды на рост *Fusarium culmorum*, штамм М-10-1: а – экстракт, полученный из каллусной ткани, б – экстракт, полученный из растений – регенерантов

его интенсивность, рН питательной среды, температурный режим выращивания) или создавая стрессовые условия (присутствие факторов абиотической и биотической природы).

Кроме того, наши исследования показали, что изучаемые экстракты обладают антифунгицидной активностью, которая зависит от источника получения экстракта, его концентрации, а также от исследуемого штамма фитопатогена. Так, было установлено, что исследуемые экстракты оказали различное токсическое действие на рост мицелия гриба *Fusarium culmorum* и *Fusarium sporotrichioides* Sherd. Следует отметить, что экстракты, полученные из каллусной ткани, обладали меньшей антифунгицидной активностью (Рис. 4), по сравнению с экстрактами, полученными из растений-регенерантов. Причем данная ответная реакция изучаемых фитопатогенов (*Fusarium sporotrichioides* Sherd, *Fusarium culmorum*) на действие двух экстрактов различных видов растений была практически одинаковой (Рис 5).

## Заключение

На основе изложенного выше, можно заключить что культуры *in vitro* исследованных растений обладают способностью к биосин-

тезу вторичных соединений, обладающих высокой цитотоксичностью и фунгицидной активностью, что, несомненно, имеет важное практическое значение как потенциальный источник ценных биологически активных веществ для фарминдустрии. Причем в условиях *in vitro* при образовании биологически активных веществ сохраняется специфичность, приуроченная к организованным тканям интактных растений, но в менее выраженной степени [2]. Указанные свойства растительных тканей, произрастающих в строго контролируемых условиях, находят подтверждение и в цитотоксических исследованиях, когда дедифференцированные каллусные культуры отличались наименьшим

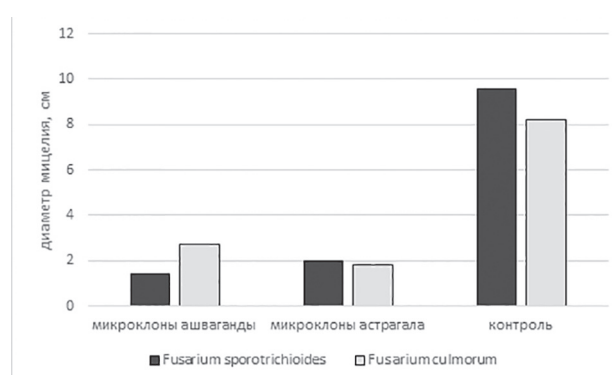


Рис. 5. Влияние растительных экстрактов микроклонов ашваганды и астрагала в концентрациях 100 мг/л на рост мицелия грибов рода *Fusarium* L.

эффектом. Наши исследования показали, что вторичные метаболиты могут оказывать не только ингибирующий эффект на рост раковых клеток человека, но и могут быть стимуляторами различных морфофизиологических процессов, о чем свидетельствует ряд литературных источников [9,10].

## Список литературы

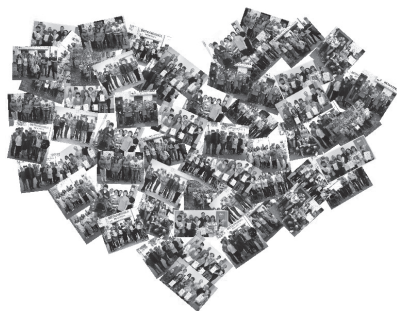
1. Алексеева, Г.М. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Санкт-Петербург. СпецЛит. – 2013.
2. Доан Тху Тхуи. О способности микроклонов лекарственных растений на примере *Dioscorea caucasica* Lipsky к образованию биофлавоноидов / Доан Тху Тхуи, Е.А. Калашникова, С.М. Зайцева, Р.Н. Киракосян // Естественные и технические науки. – 2018. – №2. – С. 38.
3. Запрометов М.Н. Образование фенольных соединений в процессе дифференциации в каллусной культуре чайного растения / М.Н. Запрометов, Н.В. Загоскина, В.Ю. Стрекова, Г.А. Морозова // Физиология растений. – 1979. – №26. – С. 485–491.
4. Куркин, В.А. Фенилпропаноиды – перспективные природные биологически активные соединения / В.А. Куркин // Самара: Изд. Гос. Мед. Ун-т. – 1996. – С. 31-37.

5. Носов, А.М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений / А.М. Носов // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. Под редакцией Р.Г. Бутенко. – М.: Наука. – 1991.
6. Носов А.М. Использование клеточных технологий для промышленного получения биологически активных веществ растительного происхождения / А.М. Носов // Биотехнология, – 2010. – №5. – С. 8-28.
7. Alves C.T. Antifungal activity of phenolic compounds identified in flowers from North Eastern Portugal against *Candida* species / Alves C.T., Ferreira I., Barros L., Silva S., Azeredo J., Henriques M. // Future Microbiol. – 2014. – 9(2). P. 139-146
8. Devi, P.U. *Withania somnifera* dunal (ashwagandha): potential plant source of a promising drug for cancer chemotherapy and radiosensitization. / P.U.Devi // Indian J. Exp Biol. – 1996. – 34. – P. 927-932.
9. Jeong, H. Molecular Discrimination of Medicinal *Astragali Radix* by RAPD Analysis. Immunopharmacology and Immunotoxicology / H. Jeong, J. Um, S. Kim, K. Koh, W. Hwang, K. Lee, C. Kim, H. Kim // Pakistan Journal of Biological Sciences, – 2015. – 310 p.
10. Zengqi Li. The synthesis and storage of phenolic compounds in the root and rhizome of *Echinacea purpurea* / Zengqi Li, Tiexin Tang, Shejian Liang, Xiping Ning, Mei Bai, Hong Wu // American journal of Plant Sciences. – 2012. – 3– P. 551–558.



**ЧОУДПО «ИНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»**  
г. Санкт-Петербург

## Курсы повышения квалификации



- Ветеринарная кардиология – 4 ступени
- Лабораторная диагностика
- Ветеринарная офтальмология
- Ветеринарная рентгенология – 2 ступени
- Ветеринарная ультразвуковая диагностика – 4 ступени
- Ветеринарная фармация

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](http://www.invetbio.spb.ru/seminars.html)**

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



DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10028

УДК 636.4054:612.015

Ключевые слова: антистрессовые препараты, аскорбат лития, липидно-холестероловый обмен, липопротеид, холестерол

*Key words: anti-stress drugs, lithium ascorbate, lipid-cholesterol metabolism, lipoprotein, cholesterol.*

**Остренко К.С., Галочкина В.П., Галочкин В.А.**

## **ВЛИЯНИЕ АСКОРБАТА ЛИТИЯ НА ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН РАСТУЩИХ СВИНЕЙ** *INFLUENCE OF LITHIUM ASCORBATE ON LIPID METABOLISM OF GROWING PIGS*

ВНИИФБиП животных – филиал ФГБНУ «ФНЦ – ВИЖ им. Академика Л.К. Эрнста»  
*VNIIFBIP animals – a branch of federal state budgetary scientific institution "Federal scientific center for animal husbandry – VIZH named after Academician L. K. Ernst"*

Остренко Константин Сергеевич, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук.

E-mail: ostrenkoks@gmail.com. Тел.: 8 (910) 916 66 58

*Ostrenko K. S., senior researcher, candidate of biological Sciences.*

E-mail: ostrenkoks@gmail.com. Тел.: 8 (910) 916 66 58

Галочкина Валентина Петровна, старший научный сотрудник, профессор, доктор биологических наук.

Тел.: 8 (915) 862 66 00.

*Galochkina V.P., senior researcher, Professor, doctor of biological Sciences. Tel.: 8 (915) 862 66 00*

Галочкин Владимир Анатольевич, заведующей лабораторией Иммунобиотехнологии, ведущий научный сотрудник, профессор, доктор биологических наук. E-mail: obbusin@mail.ru. Тел.: 8 (910) 523 98 22

*Galochkin V.A., Head of the laboratory of Immunobiotechnology, leading researcher, Professor, doctor of biological Sciences. E-mail: obbusin@mail.ru. Tel.: 8 (910) 523 98 22*

**Аннотация.** Цель исследования – изучение влияния нового антистрессового препарата на липидный обмен при выращивании и откорме свиней. Эксперимент проведен на 5 группах свиней породы ирландский ландрас (4 опытные и 1 контрольная) по 10 голов в каждой в период от 60- до 210-суточного возраста. Животных 1, 2, 3 и 4 опытных групп ежедневно в течение всего периода дорастивания и откорма получали с кормом аскорбат лития в виде порошка в дозе 10, 5, 2 и 0,5 мг/кг живой массы соответственно. Перед постановкой животных в опыт и на 180-е сутки эксперимента отбирали пробы крови. В плазме крови были определены триацилглицеролы, фракции липопротеинов, общий холестерин. Аскорбат лития положительно влияет на липидно-холестероловый обмен и, как следствие, способствует повышению приростов живой массы и качества мяса. При введении с кормом аскорбата лития с 60-го дня до убоя в дозировке 10, 5 и 2 мг/кг массы тела, аскорбат лития проявляет выраженные адаптогенные и стресспротекторные свойства, предотвращает накопления липопротеидов низкой и очень низкой плотности и активизирует выработку липопротеидов высокой плотности, у контрольных животных наблюдается обратная реакция. Выявленные эффекты аскорбата лития свидетельствуют о перспективности разработки новых эффективных способов повышения стрессоустойчивости, неспецифической резистентности и продуктивности животных с помощью препаратов на основе органических солей лития.

**Summary.** *The aim of the study was to study the effect of a new anti – stress drug on lipid metabolism in the cultivation and fattening of pigs. The experiment was carried out on 5 groups of pigs of Irish Landrace breed (4 experimental and 1 control) with 10 heads in each in the period from 60 to 210 days of age. Animals of 1, 2, 3 and 4 experimental groups during the entire period of rearing and fattening received lithium ascorbate in the form of powder daily at a dose of 10, 5, 2 and 0.5 mg/kg of live weight, respectively. Before setting the animals in the experiment and on the 180th day of the experiment, blood samples were taken. Triacylglycerols, fractions of lipoproteins, total cholesterol were determined in blood plasma. Lithium ascorbate has a positive effect on lipid-cholesterol metabolism and, as a result, contributes to the increase in live weight and quality of meat. With the introduction of feed ascorbate lithium from the 60th day prior to slaughter at a dosage of 10, 5 and 2 mg/kg of body weight, ascorbate lithium exhibits a pronounced adaptogenic and stress-protection properties, prevents the accumulation of lipoproteins of low and very low density and activates the production of high-density lipoproteins, in the control animals is observed in the reverse reaction. The revealed effects of lithium ascorbate indicate the prospects for the development of new effective ways to increase stress resistance, nonspecific resistance and productivity of animals using drugs based on organic lithium salts.*

### **Введение**

Содержание животных в условиях крупных промышленных комплексов связано с воздействием на организм различных стрессовых факторов [15]. Вызвано это, прежде

всего специфическими условиями промышленной технологии: отсутствием моциона, солнечной инсоляции, несбалансированностью рационов кормления по белку, витаминам и другим компонентам [14].



Согласно современным представлениям, одним из наименее изученных звеньев системы адаптации к действию этих факторов является процессы свободнорадикального окисления [7]. Усиление свободнорадикального перекисного окисления липидов (СПОЛ) и депрессия ферментов антиоксидантной защиты приводят к развитию окислительного стресса (ОС), который в свою очередь вызывает поражение внутренних органов животных [10]. В условиях промышленной технологии содержания животных это состояние длительное время остаётся клинически не замеченным, и поэтому не проводится своевременная профилактика метаболических отклонений у животных [9,11]. Значительное снижение продуктивности свиней связано с технологическими операциями в цикле выращивания, такими, как перегруппировка, увеличение плотности размещения, гипоксия и изменения в кормлении [8]. В конечном итоге совокупность стрессоров является фактором, сдерживающим развитие свиноводства на промышленной основе.

Цель данного исследования – предупреждение развития нарушений липидного обмена вызванных воздействием стрессоров различной этиологии и снижения периода восстановления после перенесенных стрессов, вне зависимости от технологии выращивания, климатических, кормовых и иных факторов. Отличительной особенностью данной работы является возможность применения с аскорбата лития с кормом, а не в качестве инъекционных форм как при применении солей лития с гамма-аминомасляной кислотой [3].

## Материалы и методы

Опыты были проведены в АО «Шумятино» Малоярославецкого района Калужской области на 5 группах поросят породы ландрас по 10 голов в каждой. Опытные и контрольные группы были сформированы из поросят 2-месячного возраста. Рацион и технологический процесс не отличались от основной технологии откорма и доращивания поросят. Аскорбат лития вводили с кормом в дозе (мг/кг живой массы): 1 группа – 10, 2 – 5, 3 – 2; 4 – 0,5. Контрольная груп-

па поросят находилась на основном рационе без добавления препарата. При проведении опыта рационы кормления составлялись согласно нормам ВИЖ при использовании программного комплекса Корм Оптима Эксперт, при этом уровень кормления был составлен в расчёте на получение от 500 до 700 г среднесуточного прироста живой массы. Рационы состояли из полнорационных комбикормов СК-5, СК-6, СК-7. Животные содержались в станках безвыгульно. Климат в помещениях поддерживался в автоматическом режиме согласно зоогигиеническим требованиям. Вода была в свободном доступе. Общий цикл выращивания – 210 дней.

Перед началом эксперимента и в возрасте 180 сут. проводили забор крови из наружной яремной вены в вакуумные пробирки с добавлением 10%-ного раствора трилона Б. В плазме крови были определены концентрации триацилглицеролов, ммоль/л, общего холестерина, ммоль/л, холестерина липопротеинов низкой плотности, ммоль/мл, холестерина липопротеинов очень низкой плотности, ммоль/л, холестерина липопротеинов высокой плотности, ммоль/л.

Показатели, характеризующие липидно-холестероловые эффекты, проанализированы с использованием тест-систем фирмы ЮНИМЕД.

## Результаты и обсуждение

Физиологическая роль липидов в организме заключается в том, что они входят в состав клеточных структур и используются как богатые источники энергии.

В крови различают несколько классов липопротеидов. К ним относятся липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеиды высокой плотности (ЛПВП). Липопротеиновый спектр крови может изменяться под влиянием внешних стресс-факторов, поэтому определение его биохимического статуса является важным фактором оценки продуктивности животных [13]. На начальном этапе опыта уровень липопротеидов различных фракций мало различался в опытных и контрольной группе (табл. 1).

Наиболее распространенными из липидов являются триацилглицеролы (ТАГ), которые в организме выполняют резервную роль в виде запасного жира или протоплазматического жира клеток. В сыворотке крови у свиней опытных групп содержание ТАГ в крови варьирует от 0,50 до 0,48 в возрасте 60 суток. В течение периода откорма достоверно увеличивается уровень триацилглицерола в 1 и 2 группе на 51,7 и 41,4% данные показатели указывают на более интенсивное увеличение живой массы поросят.

Изменения в опытных группах зафиксированы по показателям липидно-холестеролового обмена. Уровень холестерина был выше у животных опытных групп по сравнению с контролем. Холестерин является жизненно необходимым веществом, так как участвует в образовании желчных кислот, которые, в свою очередь, играют важную роль в процессе переваривания и всасывания жира.

ЛПВП состоят в основном из белковой части и содержат немного холестерина. Их основная функция – переносить излишки холестерина в печень, откуда они выделяются в виде желчных кислот. Поэтому холестерин ЛПВП также называется «хорошим холестерином» [12]. В наших исследова-

ниях ЛПВП было больше у животных опытных групп по сравнению с контролем (на 106; 101; 98; 79% соответственно), что свидетельствует о более интенсивном обмене липидов в организме животных этих групп.

Липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) и липопротеиды очень низкой плотности, или «плохой» жир, переносят к тканям необходимый им холестерин. У животных опытных групп в сыворотке крови на 180 сут. опыта содержание их незначительно увеличено относительно 60 сут., но значительно ниже показателей в контрольной группе – в 1 группе на 23%, во 2 – на 19, в 3 – на 14, в 4 – на 10%. Обращает на себя внимание, что к концу откорма у животных опытных групп отмечено увеличение концентрации ЛПВП и снижение концентрации ЛПНП и ЛПОНП, а у контрольных животных наблюдается обратная реакция.

Важно не суммарное количество липидов различных фракций, а их соотношение. В сбалансированной липопротеиновой системе повышенное содержание хиломикронов, ЛПОНП и ЛПНП определяют риск избыточного отложения холестерина в эндотелии сосудов; в то же время повышение концентрации ЛПВП ускоряет вывод холе-

**Таблица 1**

**Показатели липидно-холестеролового обмена (M±m, n=5)**

Группы	ТАГ	ОХ	Х ЛПВП	Х ЛПНП	Х ЛПОНП
Возраст 60 сут.					
1	0,50±0,04	2,52±0,12	0,89±0,13	1,15±0,19	0,48±0,041
2	0,49±0,06	2,53±0,18	1,01±0,46	1,12±0,24	0,40±0,014
3	0,52±0,04	2,76±0,21	0,93±0,51	1,37±0,31	0,46±0,024
4	0,48±0,09	2,69±0,26	0,99±0,24	1,28±0,21	0,42±0,032
контроль	0,48±0,02	2,82±0,24	1,09±0,31	1,31±0,18	0,42±0,021
Возраст 180 сут.					
1	0,88±0,10*	3,92±0,54	1,71±0,24*	1,67±0,46	0,26±0,043*
2	0,82±0,06*	3,81±0,73	1,67±0,37*	1,75±0,39	0,28±0,039*
3	0,75±0,12	3,73±0,67	1,64±0,31*	1,86±0,54	0,34±0,050*
4	0,60±0,09	3,62±0,47	1,49±0,18*	1,95±0,73	0,46±0,076
контроль	0,58±0,16	3,57±0,96	0,83±0,09	2,17±0,31	0,57±0,092

Примечание: ТАГ – триацилглицеролы, ммоль/л; ОХ – холестерин общий, мм/л; Х ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л; Х ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности, ммоль/л; Х ЛПОНП – холестерин липопротеидов очень низкой плотности, ммоль/л. \*P<0,05 по t- критерию при сравнении с контролем.

стерола из эндотелия и организма [2]. Ведущий путь химической трансформации липопротеинов (ЛП) – избыточное перекисное окисление липидов, входящих в их состав. Перекисно модифицированные ЛПНП, с одной стороны, подвергаются захвату макрофагами и гладкомышечными клетками артериальной стенки, которые приводит к массивному накоплению в них эфиров холестерина; с другой стороны, перекисная модификация ЛПНП сопровождается существенным повышением их иммуногенности. Образование аутоантител к измененным ЛПНП, захватываемым клетками артериальной стенки является дополнительным фактором повреждения артерий (деструкция под влиянием иммунных комплексов).

Физические, химические и биологические свойства ЛП зависят, с одной стороны, от соотношения между белковым и липидным компонентами этих частиц, а с другой, – от состава и свойств белков и липидов [6]. Наиболее крупными частицами, состоящими на 98% из липидов (преимущественно, ТАГ – на 84-87%), являются хиломикроны (ХМ). Они образуются в клетках слизистой тонкого кишечника и являются транспортной формой для пищевых нейтральных жиров. Доставляясь током лимфы в легкие, а затем в печень, они превращаются в ЛПНП и ЛПОНП, содержащие около 60% холестерина плазмы. ЛПВП также образуются в печени, частично, – в кишечнике и плазме крови в результате «деградации» ЛПОНП. ЛПНП наиболее атерогенны в силу ряда причин. Они транспортируют около 60% всего холестерина плазмы и способны, наряду с ЛПВП, проникать в стенку сосудов через эндотелиальный барьер, но, в отличие от ЛПВП, которые легко выводятся из стенки, способствуя выведению избытка липидов, ЛПНП задерживаются в ней [5].

Гипертрофированные при стрессах антигенные стимулы исходят от перекисно модифицированных ЛПНП, они же рассматриваются как главные факторы структурно-функциональной клеточных мембран, что и служит основной причиной возникновения патологических состояний кровеносных сосудов.

В последние годы в зоотехнической науке все более утверждается в правах гражданства характеристика рационов по критериям атерогенности и антиатерогенности. Состояние липидно-холестеролового обмена у животных нас интересует в связи с качеством продуктов питания, поставляемых этими животными для человека [1]. Иными словами, речь идет о комплексной оценке потенциальной адекватности рациона и для животного, и для человека. Без такой оценки трудно рассчитывать на получение продуктов здорового питания людей и пригодных для детского, диетического и функционального питания [4].

В последние годы во многих странах мира значительно возрос интерес к использованию свиней для медико-биологических исследований. Объясняется это тем, что строение, функционирование сердечно-сосудистой, пищеварительной и других систем, а также обмен веществ у свиней во многом сходны с таковыми у человека. Свиньи справедливо считаются одним из наиболее удобных объектов для изучения атеросклероза, так как анатомо-гистологические структуры внутренней оболочки аорты и венечных сосудов у человека и свиньи весьма близки. У свиней нередко отмечаются спонтанные атеросклеротические поражения аорты и венечных артерий, патогенетически весьма близкие к атеросклеротическим поражениям сосудов у человека. Показатели содержания в крови холестерина и бета-липопротеидов также имеют много общего с таковыми у человека. Свиньи, как и человек, всеядные, поэтому у них холестерин в определенном количестве поступает в организм с пищей и, по-видимому, этот экзогенный холестерин имеет значение в развитии атеросклероза. Эти данные послужили предметом выбора свиней в качестве модели экспериментального атеросклероза. Для зоотехнии интерес представляет, в какой степени рационы способны профилактировать или провоцировать нарушения в организме животных липидно-холестеролового обмена, связанные с активизацией липопероксидации и вытекающими последствиями в виде повышенного содержания

компонентов перекисного окисления липидов в продуктах животного происхождения.

## Заключение

В результате воздействия технологических стрессоров в стандартном производственном цикле выращивания и откорма свиней повышается уровень общей реактивности организма, что отражается на картине крови.

Анализ показателей липидного обмена в крови исследуемых свиней характеризует применение аскорбата лития как нормализующие и стимулирующие липогенез, т.е. синтез энергопластических веществ организма. Что важно при выращивании поросят раннего отъема, т.к. накопление запасов липидов в их организме повышает энергоресурсы для адаптации условиям среды и их содержания, и тем самым способствует стрессоустойчивости, сохранности и продуктивности растущего молодняка.

Выявленные эффекты аскорбата лития свидетельствуют о перспективности разработки новых эффективных способов повышения стрессоустойчивости, неспецифической резистентности и продуктивности животных с помощью препаратов на основе органических солей лития.

## Список литературы

1. Бабайлова Г.П. Влияние промышленной технологии на некоторые показатели крови свиноматок / Г.П. Бабайлова, Ж.А. Перевойко // Мат. между. науч.-практ. конф: «Вопросы физиологии, содержания, кормопроизводства и кормления, селекции сельскохозяйственных животных, биологии пушных зверей и птиц, охотоведения». – Киров, 2008. – С. 25-27.
2. Галочкин В.А. Применение ноотропного адаптогена нового поколения для регуляции интенсивности и направленности обменных процессов в организме супоросных свиноматок и подсосных поросят / В.А. Галочкин, Г.И. Боряев, А.В. Агафонова, В.П. Галочкина // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2016. – № 1. – С. 5-29.
3. Галочкин В.А. Разработка теоретических основ и создание антистрессовых препаратов нового поколения / В.А. Галочкин, В.П. Галочкина, К.С. Остренко // Сельскохозяйственная биология, – 2009. – №9. С.43-54.
4. Губер Н. Б. Биологическая ценность мясной продукции при использовании биологически активных веществ / Н.Б. Губер, А.З. Шакирова, Г.М. Топурия // Международный научно-исследовательский журнал. – 2013. – Т 10. – № 1. – С. 96-97.
5. Карпищенко А.И. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы). СПб.: Инте-медика, 2001. – 530 с.
6. Мазгаров, И.Р. Сравнительная характеристика продуктивности стрессустойчивых свиноматок, подготовленных и неподготовленных к осуществлению репродуктивной функции / И.Р. Мазгаров // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: М-лы междунар. науч.-практ. конф. – Троицк: Институт ветеринарной медицины Южно-Уральского государственного аграрного университета, 2005. – С. 75-79.
7. Остренко К.С. Применение аскорбата лития для регуляции липидно-холестеролового обмена и системы редукции глутатиона у супоросных свиноматок / К.С. Остренко, В.П. Галочкина, В.А. Галочкин // Ukrainian Journal of Ecology. – 2018. – Т. 8. – № 2. – С. 59-66. DOI:10.15421/2018\_310.
8. Baker S. Nanoagroparticles emerging trends and future prospect in modern agriculture system. Environ Toxicol Pharmacol / S. Baker, T. Volova, S.V. Prudnikova, S. Satish, M.N. Prasad. – 2017/ – №53: 10-17. DOI: 10.1016/j.etap.2017.04.012.
9. Delgadillo Puga C. Antioxidant activity and protection against oxidative-induced damage of Acacia shaffneri and Acacia farnesiana pods extracts: in vitro and in vivo assays / Delgadillo Puga C, Cuchillo Hilario M, Espinosa Mendoza J.G., Medina Campos O., Molina Jijón E., Díaz Martínez M., Álvarez Izazaga M.A., Ledesma Solano J.Á., Pedraza Chaverri J. // BMC Complement Altern Med. – 2015. – № 15(1): 435. DOI: 10.1186/s12906-015-0959-y.
10. Izgüt-Uysal V.N. Effect of carnitine on stress-induced lipid peroxidation in rat gastric mucosa. / V.N. Izgüt-Uysal, A. Agaç, N. Derin // J Gastroenterol. – 2001. – №36 (4): 231-6.
11. Kobayashi K. Medical-grade collagen peptide in injectables provides antioxidant protection / K. Kobayashi, Y. Maehata, Y. Okada, M. Kusubata, S. Hattori, K. Tanaka, C. Miyamoto, F. Yoshino, A. Yoshida, S.S. Takahashi, M.C. Lee // Pharm Dev Technol. – 2015. – № 20(2): 219-26. DOI:10.3109/10837450.2013.860547.
12. Lutomski C.A. Resolution of Lipoprotein Subclasses by Charge Detection Mass Spectrometry / C.A. Lutomski, S.M. Gordon, A.T. Remaley, M.F. Jarrold // Anal Chem. – 2018/ – № 5. – 90(11): 6353-6356. DOI: 10.1021/acs.analchem.8b01127.
13. Mahmoudian M. Natural low- and high-density lipoproteins as mighty bio-nanocarriers for anticancer drug delivery / M. Mahmoudian, S. Salatin, A.Y. Khosroushahi // Cancer Chemother Pharmacol. – 2018. – № 18. DOI: 10.1007/s00280-018-3626-4.
14. Merlot E. Prenatal stress, immunity and neonatal health in farm animal species / E. Merlot, H. Quesnel, A. Prunier // Animal. – 2013. – №7 (12): 2016-25. DOI: 10.1017/S175173111300147X.
15. Velarde A. Animal welfare towards sustainability in pork meat production / A. Velarde, E. Fàbrega, I. Blanco-Penedo, A. Dalmau // Meat Sci. – 2015. – № 109: 13-7. DOI:10.1016/j.meatsci.2015.05.010.



DOI: 10.24411/2074-5036-2019-10029

УДК 619:616-091:636.4

Ключевые слова: свиньи, откорм, послеубойный осмотр, патологоанатомические изменения

*Key words: pigs, fattening, post-slaughter examination, pathological changes*

**Балабанова В.И., Кудряшов А.А.**

## ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ОТКОРМОЧНЫХ СВИНЕЙ, УСТАНОВЛЕННЫЕ ПРИ ПОСЛЕУБОЙНОМ ОСМОТРЕ *PATHOLOGICAL CHANGES FROM FATTENING PIGS ESTABLISHED AT POST MORTEM INSPECTION*

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

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

*Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine*

*Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya Str., 5*

Балабанова Виктория Игоревна, к. в. н., доц., доцент кафедры патологической анатомии  
и судебной ветеринарной медицины

*Balabanova Victoria Igorevna, PhD, Associate Professor of the Pathologic Anatomy Department*

Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., проф., зав. кафедрой патологической анатомии  
и судебной ветеринарной медицины. Тел. 8.812.3881378

*Kudriashov Anatoly Alexeevich, Doctor of Veterinary Science, Professor,*

*Head of the Pathologic Anatomy Department. Tel. +78123881378*

**Аннотация.** Цель работы – установить патологоанатомические изменения у откормочных свиной при послеубойном осмотре туш и внутренних органов и при возможности определить болезни, имевшие место у откормочного поголовья данной свинофермы. Объектом и материалом исследования послужили подвергнутые убою на мясокомбинате откормочные свиньи в возрасте 150-160 дней и живым весом около 100 кг, из свиноводческой фермы с законченным производственным циклом (от опороса до убоя). Совместно со специалистами фермы и мясокомбината на конвейере в 2019 году проведён послеубойный осмотр туш и внутренних органов. Число исследованных животных составило 120 голов. Из 120 голов, у 20 для диагностики атрофического ринита выполнили поперечный распил верхней челюсти на уровне 1-го премоляра и осмотрели носовую перегородку и носовые раковины. В результате послеубойного осмотра внутренних органов откормочных свиной найдены патологоанатомические изменения в органах дыхания, сердце, желудочно-кишечном тракте и органах мочеотделения. Это изменения, свойственные ряду болезней, имевших место на момент убоя: атрофическому риниту, пролиферативной энтеропатии, гастриту, язве желудка, циститу урогенной бактериальной природы и кистозу почек, а также изменения, типичные болезням, перенесённым ранее: энзоотической пневмонии и предположительно стрептококкозу.

**Summary.** *The purpose of the work is to establish pathological changes in fattening pigs during post-slaughter examination of carcasses and internal organs and, if possible, to determine the diseases that occurred in the fattening livestock of this pig farm. The object and material of the study were fattening pigs aged 150-160 days and weighting about 100 kg from a pig farm with a complete production cycle (from farrow to finish) subjected to slaughter at the meat processing plant. In 2019, together with the specialists of the farm at the meat processing plant, on the conveyor, a post-slaughter inspection of carcasses and internal organs was carried out. The number of animals studied was 120 heads. Of the 120 heads, 20 for the diagnosis of atrophic rhinitis performed transverse sawing of the upper jaw at the level of the 1st premolar and examined the nasal septum and nasal shells. As a result of post-slaughter examination of internal organs of fattening pigs pathoanatomical changes in respiratory organs, heart, gastrointestinal tract and urinary organs were found. These changes are characteristic of a number of diseases that took place at the time of slaughter: atrophic rhinitis, proliferative enteropathy, gastritis, gastric ulcer, cystitis of urogenic bacterial nature and kidney cysts, as well as changes typical for diseases previously transmitted: enzootic pneumonia and supposedly streptococcosis.*

### Введение

Эффективность производства на свиноводческих фермах во многом зависит от состояния здоровья выращиваемого поголовья. Фермы терпят убытки, порой значительные, от потерь массы и падежа животных, причиняемых различными болезнями. Особенно ощутимы убытки от падежа в откормочных

группах, где в выращивание и откорм свиной в течение нескольких месяцев вложены большие, невосполнимые затраты. При официальной норме падежа свиной на откорме в 1% [5], на свиноводческих фермах отход откормочных свиной нередко доходит до 4% и более [4]. Мероприятия по сокращению потерь принято начинать и основывать на диагностике бо-

лезней поголовья каждой фермы. В этом отношении рациональным диагностическим мероприятием может быть патологоанатомический мониторинг, осуществляемый в виде вскрытия павших свиней в агрохозяйстве и в виде послеубойного осмотра туш и внутренних органов на бойне [8,9,10,14]. Подобное патологоанатомическое исследование откормочных свиней, доставленных для убоя на мясокомбинат, проведено нами совместно со специалистами свиноводческого хозяйства в 2019 году. Цель работы – установить патологоанатомические изменения у откормочных свиней при послеубойном осмотре туш и внутренних органов и при возможности определить болезни, имевшие место у откормочного поголовья данной свинофермы.

## Материалы и методы исследования

Объектом и материалом исследования послужили подвергнутые убою на мясокомбинате откормочные свиньи, в возрасте 150-160 дней и живым весом около 100 кг, из свиноводческой фермы с законченным производственным циклом (от опороса до убоя). Совместно со специалистами фермы и мясокомбината на конвейере проведён послеубойный осмотр туш и внутренних органов. Число исследованных животных составило 120 голов. Из 120 голов, у 20 для диагностики атрофического ринита выполнили поперечный распил верхней челюсти на уровне

1-го премоляра и осмотрели носовую перегородку и носовые раковины.

## Результаты исследования

Порядок ветеринарно-санитарной экспертизы на протяжённом конвейере крупного мясокомбината не предусматривает одновременное детальное исследование всех органов каждого животного. Поэтому определение причины того или иного патологоанатомического изменения в органах на конвейере чаще всего бывает предположительным. Однако, нередко при обнаружении патогномичных изменений, возникает возможность диагностировать определённые болезни в качестве нозологических форм. При диагностике основывались на патологоанатомических изменениях, характерных для той или иной болезни. Результаты исследования сведены в таблице 1.

Как видно из данных, сведённых в таблице, при послеубойном осмотре откормочных свиней найдены патологоанатомические изменения в органах дыхания, сердце, желудочно-кишечном тракте и органах мочеотделения. При осмотре поверхности распила верхней челюсти, на уровне первых премоляров у 20 свиней, у 1 из них обнаружили деформацию носовой перегородки и носовых раковин (рис. 1,2), типичную для атрофического ринита [15]. Единичная находка патологоанатомических изменений, характерных для

Таблица 1

### Патологоанатомические изменения, установленные у откормочных свиней при послеубойном осмотре

№№	Патологоанатомические изменения	Исследовано свиней	Число и % находок	
			Число	%
1	Атрофический ринит	20	1	5,0
2	Участки ателектаза в лёгких	120	8	6,7
3	Спайки листков плевры	120	6	5,0
4	Спайки листков перикарда	120	5	4,2
5	Язва желудка в развитии	120	8	6,7
6	Хронический гастрит	120	7	5,8
7	Пролиферативная энтеропатия	120	7	5,8
8	Цистит	120	7	5,8
9	Кисты в почке	120	5	4,2
10	Очаговый фиброз коры почек	120	4	3,4



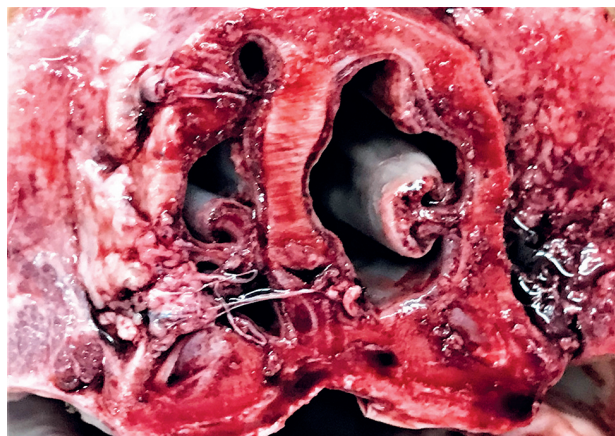


Рис. 1. Искривление носовой перегородки

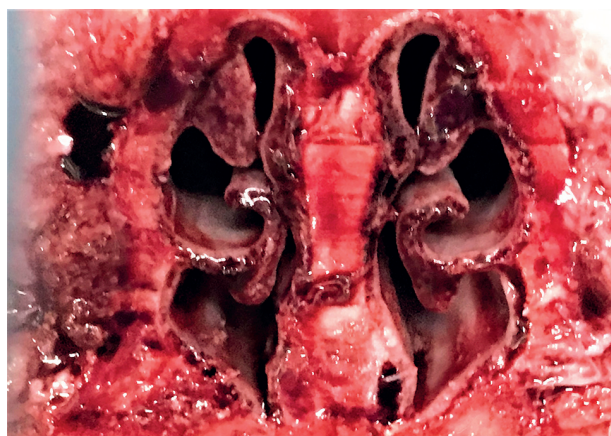


Рис. 2. Носовая перегородка не искривлена

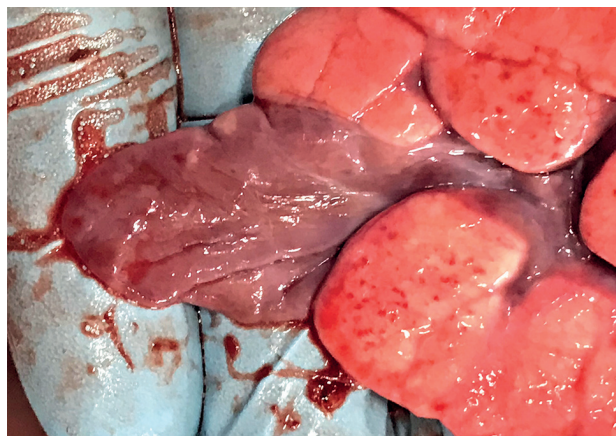


Рис. 3. Участки ателектаза в лёгких

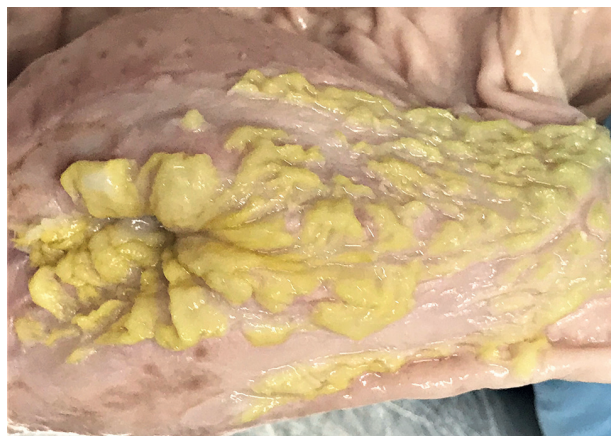


Рис. 4. Предъязвенный гиперкератоз

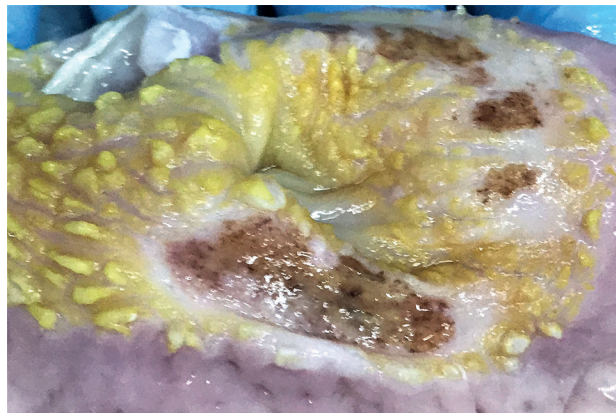


Рис. 5. Начало изъязвления



Рис. 6. Хронический гастрит



Рис. 7. Пролiferативная энтеропатия. Подвздошная кишка

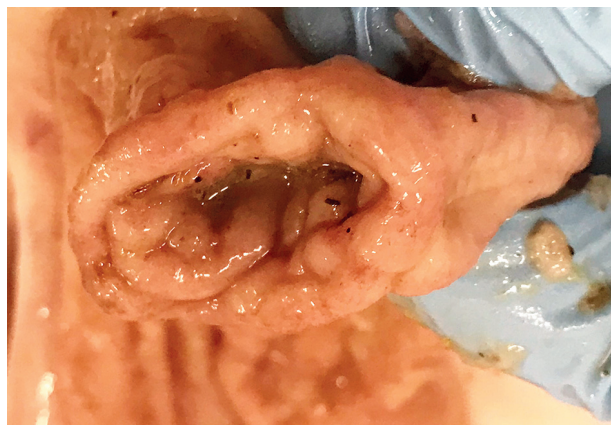


Рис. 8. Пролiferативная энтеропатия. Илеоцекальный сфинктер





Рис. 9. Уроцистит

атрофического ринита, указывает на предположительное благополучие хозяйства по этой болезни. У 6,7% свиней в лёгких найдены небольшие участки ателектаза, большей частью в краниальных и средних долях (рис. 3). Подобные изменения обычно бывают результатом разрастания соединительной ткани в месте воспалённого бронха в исходе энзоотической пневмонии, для которой типична лобулярная катаральная бронхопневмония с тенденцией в ателектаз, локализуемая в краниальных и средних долях лёгких [6,13]. Спайки листков плевры и спайки листков перикарда логично считать результатом фибринозного плеврита, являющегося компонентом таких бактериальных болезней свиней, как пастереллёз, актинобациллёзная плевропневмония, гемофилёзный полисерозит, стрептококкоз [1,7,11,12,19,21]. У 6,7% свиней в кардиальном отделе желудка обнаружили язву и предъязвенные изменения в виде сильного гиперкератоза и изъязвлений (рис. 4,5). Подобные изменения, судя по публикации [20], установили в желудке у 10% свиней при послеубойном осмотре на бойне в США. Нами же при вскрытии павших свиней откорма, проведённого в ряде свиноводческих хозяйств, язва желудка с кровоизлиянием в его полость найдена у 6,8% исследованных животных [3]. У ряда свиней в желудке установили патологоанатомические изменения, указывающие на хроническое воспаление: стенка желудка утолщена, плотной кон-



Рис. 10. Кистоз почки

систенции. Слизистая оболочка – светло-серого цвета со слабым красным оттенком, собрана в крупные и мелкие складки (рис. 6). Крупные складки, образующиеся при сокращении и окоченении мышечной оболочки, легко расправляются руками. Мелкие складки, являющиеся результатом пролиферативного воспаления, не удаётся расправить. У 5,8% свиней изменения, напоминающие хронический гастрит, обнаружили в подвздошной кишке. Стенка кишки также утолщена, уплотнена; слизистая оболочка – светло-серого цвета со слабым красным оттенком, собрана в крупные и мелкие складки (рис. 7). Мелкие складки, также являющиеся результатом пролиферативного воспаления, не удаётся расправить. Такие изменения считаются патогномичными для пролиферативной энтеропатии (лавсонииоза), болезни, вызываемой бактерией *Lawsonia intracellularis* [17]. Нерасправляемые складки найдены и на илеоцекальном клапане (баугиниевой заслонке) – анатомическом образовании, которое разделяет полости толстого и тонкого кишечника (рис. 8). Поэтому видится полезным проводить послеубойный осмотр подвздошной кишки, чтобы иметь представление о наличии патологоанатомических изменений, патогномичных для лавсонииоза, учитывая определённую недостаточность только лишь выявления генома возбудителя и антител к *Lawsonia intracellularis* у свиней на фермах. Известно, что на подобных фермах, где у свиней



выявляют геном возбудителя и антитела к лавсонии, лавсонияз нередко протекает бессимптомно [18]. В органах мочевыделения у 5,8% свиней обнаружили воспаление мочевого пузыря, у 4,2% – поликистоз почек, у 3,4% – очаговый фиброз коры почек. Воспалённый мочевой пузырь, имел неровную, набухшую слизистую оболочку, светло-серого цвета со слабым фиолетово-красным оттенком (рис. 9), с единичными кровоизлияниями и мелкими эрозиями. Уроцистит (цистит) у откормочных свиней чаще всего является результатом урогенной бактериальной инфекции и нередко заканчивается летально после прободения стенки мочевого пузыря [2,16]. Кисты в почках обнаружены у 4,2% свиней. Во всех случаях кисты были крупные,  $d=2-3$  см, соприкасающиеся одна с другой (рис. 10), числом 3-8, наполненные прозрачной бесцветной водянистой жидкостью. Согласно литературным источникам, подобные кисты у свиней возникают и спорадически, и как проявление врождённой аномалии развития, наследуемой по аутосомно-доминантному типу [16]. Очаговый фиброз коры почек – плотные, белые с жёлтым оттенком, образования, имеющие форму конуса с основанием на поверхности, рассцениваемые как стадия организации белых инфарктов, типичных для стрептококкоза.

## Заключение

В результате послеубойного осмотра откормочных свиней найдены патологоанатомические изменения в органах дыхания, сердце, желудочно-кишечном тракте и органах мочеотделения, свойственные ряду болезней, имевших место на момент убоя: атрофическому риниту, пролиферативной энтеропатии, гастриту, язве желудка, циститу урогенной бактериальной природы и кистозу почек, а также болезней, перенесённых ранее: энзоотической пневмонии и предположительно стрептококкоза.

## Список литературы

1. Балабанова В.И. Органопатология стрептококкоза поросят группы откорма / В.И. Балабанова, А.А. Кудряшов, Ж.Ю. Устенко // Международный вестник ветеринарии. – 2018. – 2. – С. 10-14.

2. Кудряшов А.А. Патологоанатомическая диагностика болезней поросят в группах доращивания и откорма / А.А. Кудряшов, В.И. Балабанова, Ю.В. Иванов, А.Р. Мусин, Т.П. Максимов, Ж.Ю. Устенко // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2018. – №1. – С. 56-62.

3. Кудряшов А.А. Определение первопричины внезапной смерти поросят на откорме посредством вскрытия / А.А. Кудряшов, А.А. Стекольников, В.И. Балабанова // Ветеринария. – 2019. – №2. – С. 51-54.

4. Лучкина Е.С. Анализ падежа животных на свиноводческом предприятии Амурской области / Е.С. Лучкина, А.О. Фёдорова // Материалы 3-ей Международной научно-практической конференции. Вестник КрасГАУ. – 2015. – №12. С. 218.

5. Постановление Правительства РФ от 15 июля 2009 г. N 560 «О нормах расходов в виде потерь от падежа птицы и животных». <https://base.garant.ru/12168519/>.

6. Alegre L. Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs / L. Alegre, R. López-Jiménez, M. Nofrías, J. Segalés // The Veterinary Journal. – 2010. – V. 184, 3. – P. 326-333.

7. Bossé J. Actinobacillus pleuropneumoniae: pathobiology and pathogenesis of infection / J. Bossé, H. Janson, B. Sheehan, A. Beddek, P. Langford // Microbes and Infection. – 2002. – V. 4, 2. – P. 225-235.

8. Closinger W. Mortality attributed to respiratory problems among finisher pigs in the United States / W. Closinger, E. Bush, M. Smith, B. Corso // Preventive Veterinary Medicine. – 1998. – V. 37, 1. – P. 21-31.

9. Correia-Gomes C. Voluntary monitoring systems for pig health and welfare in the UK: Comparative analysis of prevalence and temporal patterns of selected non-respiratory post mortem conditions / C. Correia-Gomes, J. Eze, J. Borobia-Belsué, A. Tucker // Preventive Veterinary Medicine. – 2017. – V. 146, 1. – P. 1-9.

10. Elbers A. Epidemiological studies on lesions in finishing pigs in the Netherlands. I. Prevalence, seasonality and interrelationship / A. Elbers, M. Tielen, J. Snijders, W. Cromwijk, W. Hunneman // Preventive Veterinary Medicine. – 1992. – V. 14, 4. – P. 217-231.

11. Fablet C. Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds / C. Fablet, C. Marois, V. Dorenlor, F. Eono, N. Rose // Research in Veterinary Science. – 2012. – V. 93, 2. – P. 627-630.

12. Fan Hong-jie. Advances in pathogenesis of Streptococcus suis serotype 2 // Journal of Integrative Agriculture. – 2017. – V. 16, 12. – P. 2834-2847.

13. Garcia-Morante B. Assessment of Mycoplasma hyopneumoniae-induced pneumonia using different lung lesion scoring systems: a comparative review / B. Garcia-Morante, J. Segales, L. Fraile, A. Perez de Rozas, M. Coll, M. Sibila // J. Comp. Pathol. – 2016. – V. 154. – P. 125-134.

14. Heinonen M. Sow mortality is associated with meat inspection findings / M. Heinonen, P. Bergman // Livestock Science. – 2018. – V. 208. – P. 90-95.

15. Jordan R.W. An experimental mouse model of progressive atrophic rhinitis of swine / R.W. Jordan, J.M. Roe // Veterinary Microbiology. – 2004. – V. 103, 3-4. – P. 201-207.

16. Maxie M.G. Urinary system in Jubb / M.G. Maxie, S.J. Newman // Pathology of Domestic Animals. – Fifth edition. – V. 2. – 2007. – Elsevier, Philadelphia. P. 425-522.

17. McOrist S. Proliferative enteropathy: in Diseases of swine (edited by J.J. Zimmerman, L.A. Kariker, A. Ramires, K.J. Schwartz, G.W. Stevenson) / S. McOrist, C.J. Gebhart. – Ames, Iowa: Wiley-Blackwell/ – 2012. P. 811-819.

18. Pascu C. Prevalence of Lawsonia intracellularis Infections in Pig Herds from the Western Romania / C. Pascu, L. Costinar, I. Mernea, D. Tătar, V. Herman // Agriculture and Agricultural Science Procedia. – 2015. – V. 6. P. 378-381.

19. Pors S. Immunohistochemical study of porcine lung lesions associated with Pasteurella multocida / S. Pors, M. Hansen, J. Bisgaard, H. Jensen, T. Iburg // The Veterinary Journal. – 2013. – V. 197. 2. – P. 483-488.

20. Sanz M. Assessment of sow mortality in a large herd / M. Sanz, J. Roberts, C. Perfumo, R. Alvarez, T. Donovan, G. Almond // J. Swine Health Prod. – 2007. – 15. 1. P. 30-36.

21. Zhang B. Update on the pathogenesis of Haemophilus parasuis infection and virulence factors / B. Zhang, C. Tang, M. Liao, H. Yue // Veterinary Microbiology. – 2014. V. 168. 1. P. 1-7.

## 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 моно- или комплексной терапии целого ряда болезней, которые ранее считались неизлечимыми или очень тяжело поддавались лечению.

### Основные направления применения «УМИ-05»

- Болезни мочевой системы: мочекаменная болезнь, пиелонефрит, поликистоз, цистит.
- Желчекаменная болезнь.
- Болезни 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 болезням 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](mailto:ivb-info@mail.ru). подробности на сайте: [www.invetbio.spb.ru](http://www.invetbio.spb.ru)



## ЮБИЛЕЙНЫЙ 25-Й ЕВРОПЕЙСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ КОНГРЕСС FECAVA 2019 ВПЕРВЫЕ ПРОВОДИТСЯ В РОССИИ, В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ!



Европейский ветеринарный конгресс по праву является крупнейшим международным форумом в сфере ветеринарной медицины на нашем континенте, собирающим крупнейших специалистов и определяющим тенденции дальнейшего развития отрасли.

Проводит конгресс Европейская Ассоциация ветеринарных врачей (FECAVA) ежегодно, в крупнейших городах Европы. В 2017 году конгресс принимала столица Дании Копенгаген, в 2018 году этой чести удостоилась столица Эстонии Таллин.

2019 год стал юбилейным – 25-м для Европейского ветеринарного конгресса, и проводиться впервые он будет на территории России, в красивейшем городе с великим историческим прошлым и настоящим – в Санкт-Петербурге.

Выбор этот совсем не случаен. Санкт-Петербург по праву является передовым субъектом РФ в ветеринарном отношении. Государственная ветеринарная служба города на протяжении многих лет признается одной из самых мощных и эффективных в нашей стране.

Уже сейчас известна не только дата и место проведения конгресса, но и некоторые подробности его программы.

**За подробностями обращаемся к «принимающей стороне» конгресса – сопредседателю 25-го Европейского ветеринарного конгресса FECAVA–2019, профессору, доктору ветеринарных наук, первому заместителю начальника Управления ветеринарии Санкт-Петербурга Али Абакаровичу Алиеву.**

**Корр.:** Али Абакарович, какие подробности известны о предстоящем событии – 25-м Европейском ветеринарном конгрессе FECAVA–2019?

**А.А. Алиев:** Конгресс будет проводиться с 4 по 7 сентября 2019 года здесь, в Санкт-Петербурге. Выбор нашего города местом проведения конгресса для нас, конечно, почетен, но и налагает серьезную ответственность и обязательства перед европейским и мировым ветеринарным сообществом.

Локация конгресса – площадка Экспофорума – крупнейшего выставочного комплекса на Северо-Западе России, отвечающего мировым стандартам. Торжественное открытие мы планируем провести 4 сентября, в настоящее время формируется деловая, научная, культурная программа конгресса.

Темы этого мероприятия учитывают актуальные вопросы современной ветеринарной медицины, лучшие зарубежные и российские специалисты выступят с сообщениями и докладами, проведут семинары и мастер-классы. Участники конгресса смогут продемонстрировать передовые новинки в ветеринарном оборудовании и технологиях, обсудить наиболее интересные вопросы и направления развития ветеринарной отрасли.

Участники и гости конгресса смогут ознакомиться с имеющими мировое значение музеями и памятниками, с историей и архитектурой северной столицы России, совершить путешествие по каналам и рекам, насладиться фонтанами и парками города. Надеюсь, запомнится и галаужин, который пройдет в историческом центре Санкт-Петербурга.

На официальном сайте конгресса FECAVA 2019: <http://fecava2019.org/ru/index/> можно пройти регистрацию, ознакомиться с программой его проведения и подробностями участия.

**Корр.:** Вы стояли у истоков организации Балтийского форума ветеринарной медицины и продовольственной безопасности, на протяжении всех лет его проведения возглавляете Организационный комитет форума. В 2019 году планируете его проведение?



**А.А. Алиев:** конечно, наш форум ежегодный, мы будем проводить его уже в 15-й раз! XV Международный Балтийский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности в 2019 году пройдет в рамках XXV Европейского ветеринарного конгресса FESAVA.

Приглашаю специалистов, участников и посетителей на такие события форума, как международный форум птицеводов, на секции «Актуальные вопросы в ветеринарии сельскохозяйственных животных», «Актуальные вопросы правового регулирования ветеринарии в Российской Федерации». И это далеко не весь список тем и вопросов, которые будут там подниматься. Зарегистрироваться и получить нужную информацию о форуме можно на официальном сайте Балтийского форума <https://www.baltvetforum.com>.

**Корр.:** Али Абакарович, Вашу деятельность в российском ветеринарном сообществе отличает умение не только грамотно руководить вверенным Вам подразделением государственной ветеринарной службы субъекта РФ, но и потрясающая способность поднять технологическую оснащенность оборудованием, материальное обеспечение, профессиональное мастерство работников на не достижимый до этого уровень, повысив тем самым престиж и рейтинг самого субъекта РФ. Как удастся этого достичь, ведь во многих регионах нашей страны мы не видим подобной картины?

**А.А. Алиев:** Я уверен в том, что создать эффективную систему управления способны только те руководители, которые хорошо знают процессы, происходящие в системе изнутри, те, кто знаком с механизмами функционирования системы.

Я нахожусь в руководстве государственной ветеринарной службой северной столицы с 1997 года, и мне очень, особенно на первых порах, помог приобретенный ранее опыт. Дело в том, что сразу после окончания Санкт-Петербургской государственной Академии ветеринарной медицины (тогда – Ленинградского ветеринарного института) меня направили на работу в Псковскую область, где три года я работал главным ветеринарным врачом Управления сельского хозяйства Стругоокрасненского района. Вот где была настоящая и напряженная практическая работа! Мне было вверено огромное хозяйство, с большим наличием поголовья сельскохозяйственных животных. Надо было оперативно обустроить содержание животных на приемлемом уровне, осуществлять лечебно-профилактические мероприятия, решать массу вопросов: от бытовых до административных, социальных и организационных, некоторые вопросы, касающиеся развития, нужно было согласовывать с районным и областным руководством.

Наладив работу районного Управления, я затем получил назначение на должность начальника Псковской областной станции по борьбе с болезнями животных. Соответственно повысился уровень решаемых задач и проблем, уже областного масштаба. Нельзя было забывать и о собственном совершенствовании в научном плане. Я уверен, что надо постоянно находиться в тонусе новейших разработок, технологий, приемов и новаций. В 1988 году я поступил в аспирантуру ЛВИ, на кафедру паразитологии: полученные в Псковской области практические знания решил подкрепить новейшими на тот момент научными разработками и технологиями, через три года защитился – стал кандидатом ветеринарных наук. В 1999 году без отрыва от работы я закончил Российскую Академию государственной службы при Президенте РФ по специальности «Государственное муниципальное управление», а в 2005-м защитил диссертацию, мне присвоили ученую степень доктора ветеринарных наук, несколько позже стал профессором.

К работе в руководстве Управлением ветеринарии Санкт-Петербурга я шел постепенно, не перепрыгивая через ступеньки служебной лестницы. А поэтому, получив назначение в 1997 году в руководстве ветеринарной службы такого грандиозного субъекта РФ, как Санкт-Петербург, города федерального подчинения, я имел четкое представление о том, как надо действовать.

Первое, на что я обратил внимание – как выглядят помещения, кабинеты? Как отлажен механизм исполнительской дисциплины? И пришел к неутешительным выводам – состояние лечебных помещений надо было значительно улучшать, оборудование не соответствовало современным требованиям, дисциплина работников сильно хромала.

Я не стал рубить с плеча, месяца три я знакомился с коллективом, узнавал людей, определял, кто может и хочет работать добросовестно, качественно выполняя свои обязанности,



а кто – нет. Это не была, естественно, ревизия в прямом смысле этого слова. Тем, кто хотел работать и прилагал для этого усилия, создавались условия для самореализации. Под перспективу обновления оборудования мы устраивали учебно-практические занятия и мастер-классы, семинары и лекции. С самого начала своей работы я ориентировался на создание добротной и эффективной системы функционирования государственной ветеринарной службы, которая способна успешно выполнять свои задачи в условиях такого мегаполиса, как Санкт-Петербург.

Конечно, учитывалась и специфика города. Петербург – город портовый, в своё время около восьмидесяти процентов продукции проходило через наши порты, через наши холодильные установки. Надо было расширять службу – и качественно, и количественно.

Постепенно, соответственно широкому спектру выполняемых задач наша ветеринарная служба выросла – прошла путь от 300 до 1200 человек. Было, конечно, очень непросто. Мы требовали профессионального выполнения задач от сотрудников, но и сотрудникам для нормальной работы нужно было создать благоприятные условия: конкурентоспособная зарплата, удобные для работы и отдыха кабинеты и вспомогательные помещения, создание деловой, настраивающей на созидательный лад атмосферы. С теми, кто в такую систему встраиваться не захотел, кто при минимальном вложении сил рассматривал свою деятельность как некую синектуру, приходилось и расставаться.

Напомню, что в конце 90-х-начале 2000-х годов лечебная работа в ветеринарной сфере нашего города находилась, мягко говоря, не в лучшем состоянии. Здания, где размещались клиники, требовали ремонта, а сами клиники были укомплектованы, в основном, примитивным оборудованием.

Профилактическая работа проводилась, но масштабы ее были недостаточны для 5-миллионного города. Достаточно сказать, что за год мы делали всего 8–10 тысяч прививок против бешенства и видовых инфекций. Это мизер относительно количества живущих в домах жителей города животных.

На сегодняшний день это количество дошло до 90 тысяч ежегодно!

Надо прямо сказать, что постепенно, шаг за шагом, ситуация изменялась к лучшему. Строились, и сейчас строятся современные клиники, специалисты службы проходят постоянные тренинги, позволяющие быть в хорошем профессиональном тоне, оборудование закупается самое современное, позволяющее качественно решать задачи обеспечения безопасности продовольствия, эпизоотического благополучия, выполнять лечебно-диагностические работы. Во всех учреждениях государственной ветеринарной службы города проводятся плановые ремонтные работы, позволяющие содержать клиники в хорошем состоянии.

Конечно, не забываем мы о благополучии наших специалистов, – средняя зарплата наших сотрудников составила в 2018 году около 60 тысяч рублей.

**Корр.:** Али Абакарович, откройте секрет: как Вам удаётся достигать таких результатов, причем, последовательно, по возрастающей и на притяжении более 20 лет?

**А.А. Алиев:** Ответ будет не сложным: я просто работаю, действую последовательно и пошагово, ставя себе тактические задачи и целенаправленно решая стратегическую задачу – госветслужба нашего города должна успешно выполнять возложенные на нее задачи и быть одной из самых передовых в стране!

Правда, работать для этого приходится по 18 часов в сутки. Но я не жалею, для меня это любимая работа, а с течением времени она, в значительной степени, стала и смыслом моей жизни.

**Корр.:** Мне довелось наблюдать, как Вы организуете и проводите один самых знаковых ветеринарных форумов – ежегодный Балтийский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности. В прошлом году в Петербург на этот форум съехались 1,5 тысячи специалистов со всего мира, и почти со всеми Вам удалось пообщаться! С 8 часов утра до 12 ночи вы постоянно были в гуще событий, встречали делегации, участвовали в секционных и лекционных мероприятиях, были модератором совещания руководителей региональных ветеринарных служб! Откуда черпаете силы для того, чтобы «потянуть» такую нагрузку?

**А.А. Алиев:** Я повторюсь: по шкале моих жизненных приоритетов работа занимает первое место. Все остальное – потом. Помните, когда-то известные киноактеры Николай Крючков и Василий Меркурьев пели замечательную песню о том, что для них «первым делом – самолеты!»? Так и для меня – первым делом – работа. А работа с людьми – наиважнейшая часть общей работы. Силы черпаю из своих природных генетических ресурсов и, конечно, результаты успешной работы придают дополнительные силы.

**Корр.:** Али Абакарович, Вы являетесь доктором ветеринарных наук, профессором, членом диссертационных советов 2-х ведущих отраслевых вузов страны. Что Вам дает работа со студентами и аспирантами?

**А.А. Алиев:** Работа со студентами и аспирантами дает возможность быть в хорошем информационно-научном и методическом тоне. Мною подготовлены и успешно прошли защиту диссертаций 14 кандидатов ветеринарных наук и доктор ветеринарных наук. Работая на протяжении многих лет в академической Государственной аттестационной комиссии (ГАК), я имею возможность быть в курсе



уровня подготовки студентов, видеть на каждом курсе наиболее подготовленных и способных. Многие студенты академии проходят практику в ветеринарных клиниках государственной ветеринарной службы, некоторые выпускники затем пополняют ряды сотрудников нашей службы.

Большое значение я уделяю сотрудничеству сразу с несколькими научными журналами, входящими в список ВАК – перечень ведущих научных журналов, которые Высшая аттестационная комиссия России определила для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора наук. Будучи членом редакционной коллегии нескольких таких изданий («Международный вестник ветеринарии», «Актуальные вопросы ветеринарной биологии», «Иппология и ветеринария» и др.) я имею возможность держать руку на пульсе последних разработок в этой области, делиться своими научными изысканиями.

**Корр.:** Как вы смотрите на будущее ветеринарии?

**А.А. Алиев:** Смотрю, несмотря ни на что, с оптимизмом. Есть конструктивно действующие общественные организации в сфере обращения с животными, есть специалисты высокого уровня, работающие в системе государственной ветеринарной службы – все они хотят что-то изменить, улучшить. Нам нужно объединяться – понимая, что ветеринарных специалистов, где бы они ни работали, объединяет общее дело и общие цели. Работать на благо города, на благо всей страны надо вместе!

**Корр.:** Али Абакарович, и заключительный вопрос: что бы Вы отметили, как сопредседатель 25-го Европейского ветеринарного конгресса FECAVA–2019, в контексте подготовки к этому самому крупному событию?

**А.А. Алиев:** то, что конгресс проводится в России и в Санкт-Петербурге, это, как я уже говорил и большая честь, и большая ответственность для нас.



Надо отдать должное в вопросах организации и проведения у нас конгресса российской Ассоциации практикующих врачей, которую возглавляет Сергей Владимирович Середа. В 2017 году именно российская Ассоциация практикующих врачей сумела победить в конкурсе на право проведения 25-го Европейского ветеринарного конгресса FECAVA–2019, а Сергей Владимирович Середа стал Президентом Евроконгресса.

Хочется отметить, что государственная ветеринарная служба Санкт-Петербурга давно и конструктивно взаимодействует с российской Ассоциацией практикующих врачей и лично с Сергеем Владимировичем. Объединив наши усилия, мы рассчитываем и это мероприятие провести на должном уровне.

## **Справка**

**Али Абакарович Алиев.** Доктор ветеринарных наук, профессор, действующий член Петровской Академии наук и искусств, первый заместитель начальника Управления ветеринарии Санкт-Петербурга.

*Автор более 200 научных работ.*

*Награжден медалями: золотой медалью «За вклад в развитие АПК России», «За заслуги в области ветеринарии», «В память 300-летия Санкт-Петербурга», «За достижения в области ветеринарной науки», удостоен звания «Почетный работник АПК», Почетной грамотой Министерства сельского хозяйства РФ, Грамотой губернатора Санкт-Петербурга, Благодарностью законодательного собрания Санкт-Петербурга и др. федеральными и ведомственными знаками отличия.*

*Награжден высшей наградой российского ветеринарного сообщества, присуждаемой за особые достижения в области ветеринарной медицины, - Национальной премией «Золотой скальпель».*

*Инициатор, автор организации и проведения, председатель Оргкомитета ежегодного международного Балтийского Форума ветеринарной медицины и продовольственной безопасности.*

*Автор и руководитель реализации Концепции развития системы государственной ветеринарной службы Санкт-Петербурга на принципах современных технологий, модернизации оборудования, строительства новейших государственных ветеринарных учреждений, эргономически удобных для посетителей и их питомцев.*

*Член диссертационных советов: при ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» и при ФГБОУ ВО «Нижегородская ГСХА». Сопредседатель 25-го Европейского ветеринарного конгресса FECAVA–2019.*

С А.А. Алиевым беседовал М.А. Большаков.

## Дорогие коллеги!

Имею честь пригласить вас на 25-й Европейский ветеринарный конгресс, который состоится с 4 по 7 сентября 2019 года в одном из самых красивых городов мира.

Программу конгресса составляют эксперты ветеринарии с мировым именем. Вас ждёт дружелюбная атмосфера, лекции и мастер-классы лучших специалистов.

Санкт-Петербург поразит вас своей историей и архитектурой, взволнует музеями и памятниками, заворожит фонтанами и каналами. Уверен, это путешествие навсегда останется в вашем сердце!

Приезжайте! Мы ждем вас!



A handwritten signature in black ink, which reads "Серге́й Владимирович Середа". The signature is fluid and cursive.

С наилучшими пожеланиями,  
Середа Сергей Владимирович,  
президент Евроконгресса FECAVA 2019,  
президент российской Ассоциации практикующих ветеринарных врачей,  
кандидат ветеринарных наук

[WWW.FECAVA2019.ORG](http://WWW.FECAVA2019.ORG)



## КРАТКАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ЖУРНАЛЕ фундаментальных и прикладных исследований «Актуальные вопросы ветеринарной биологии»

**1. Полная информация о журнале и архив номеров:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vp\\_main.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vp_main.htm)

**2. Правила для авторов, подготовка материалов, оформление статьи, сопроводительное письмо:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_avtor.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_avtor.htm) (полная версия).

Важным условием для принятия материалов в журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» является их соответствие правилам журнала (см. полную версию). При наличии значительных отклонений от правил, направленные материалы рассматриваться не будут.

Материалы следует присылать по электронной почте: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru). Электронный вариант статьи рассматривается как оригинал. **Сопроводительное письмо:** К материалам статьи необходимо приложить сопроводительное письмо на имя главного редактора журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» Чуваева И. В. Скачайте письмо, заполните его, распечатайте, подпишите у авторов и у руководителя организации/учреждения, поставьте круглую печать организации, отсканируйте письмо и вместе со статьей пришлите в редакцию.

**Шаблон письма:** <http://invetbio.spb.ru/journal/SoprovoPis.doc>

Задать вопрос о статусе статьи и пр. можно по электронной почте: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru)

### **3. Авторские права:**

Авторы должны гарантировать, что поданные в журнал материалы не были ранее опубликованы. Авторы должны быть согласны с автоматическим переходом их авторских прав к журналу «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» в момент принятия статьи к печати. С этого момента весь приведенный в статье материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением могут являться:

- предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме;
- использование материалов статьи как части лекции или обзора;
- использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

### **4. Оплата за публикацию статей:**

При соблюдении настоящих правил, рецензирование статьи и ее публикация является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях:

1. за публикацию цветных иллюстраций;
2. за большое количество иллюстративного материала (свыше 5-ти иллюстраций);
3. за размещение рекламной информации;
4. за повторную подачу материала в редакцию, в случае если статья (по результатам рецензирования) была отправлена автору на доработку;
5. за пользование платными услугами редакции.

**Платные услуги, их стоимость и условия оплаты:**

[http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_platusluga.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_platusluga.htm)

### **5. Рецензирование статей:**

Все материалы, поступающие в редакцию, для публикации в журнале, проходят рецензирование. Рецензирование осуществляется ведущими профильными специалистами (докторами и кандидатами наук).

**6. Подписка и приобретение журнала или отдельных статей, в том числе электронных версий:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_podpiska.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_podpiska.htm)

**7. Информация для рекламодателей:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_reklam.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_reklam.htm)