



ISSN 2072-2419

№ 2

# Международный Вестник Ветеринарии

INTERNATIONAL BULLETIN  
OF VETERINARY MEDICINE



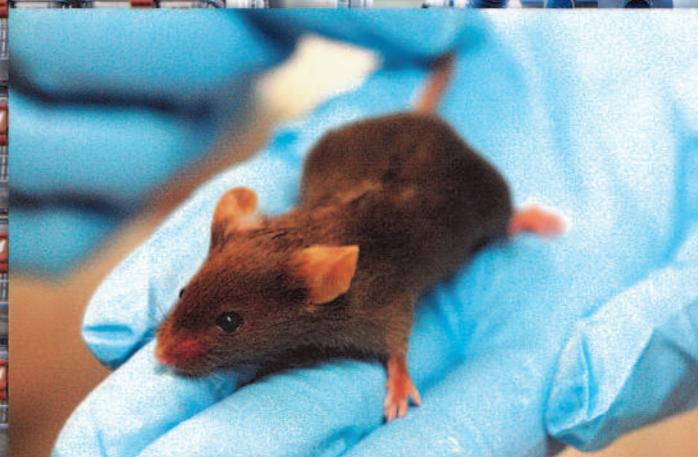
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2014

[www.gavm.spb.ru](http://www.gavm.spb.ru)

The logo for Allentown, featuring the word "Allentown" in a bold, blue, sans-serif font, flanked by stylized blue horizontal bars on both sides. The background of the entire advertisement is a photograph of a laboratory animal facility, showing rows of metal cages on a cart and blue flexible ventilation ducts hanging from the ceiling.

# Allentown

Иновационные  
Лабораторные  
Технологии



Оптимальные решения  
для содержания животных  
AllenTown Inc.

[www.inlabtech.ru](http://www.inlabtech.ru)

# Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

# 2.2014

## Редакционный совет

А.А. Стекольников – гл. ред., член-корр.  
РАСХН, д.в.н., проф., СПб  
В.Д. Соколов – зам. гл. ред. д.в.н. проф., СПб  
А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф.,  
Витебск

## Редакционная коллегия

А.А. Алиев, д.в.н., проф., СПб.  
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.  
Л.М. Белова, д.б.н., проф., СПб.  
М.И. Гулюкин, акад. РАСХН, д.в.н., проф.  
Москва.  
Н.В. Зеленецкий, д.в.н., проф., СПб.  
Л.Ю. Карпенко, д.б.н., проф., СПб.  
С.П. Ковалев, д.в.н., проф., СПб.  
А.А. Кудряшов, д.в.н., проф., СПб.  
В.А. Кузьмин, д.в.н., проф., СПб.  
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.  
К.В. Племяшов, д.в.н., проф., СПб.  
Б.С. Семенов, д.в.н., проф., СПб.  
А.М. Смирнов, акад. РАСХН, д.в.н., проф.,  
Москва.

А.А. Сухинин, д.б.н., проф., СПб.  
А.Н. Шиков, д.ф.н., проф., СПб.

## Редакционно-технический отдел

В.Д. Соколов, д.в.н. проф., СПб.  
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.  
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.  
А.В. Рыбакова, к.в.н., СПб.

Сдано в набор 28.04.2014

Подписано к печати 28.04.2014

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянцева № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

## Editor –in– chief

A.A. Stekolnikov professor, DVM, Corresponding  
Member of the Russian Academy of Agricultural  
Sciences

## Managing Editor

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg  
A.I. Yatusевич - professor, DVM, Vitebsk

## Editorial Board

A.A. Aliyev - professor, DVM, St. Petersburg  
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg  
L.M. Belova - professor, DBS, St. Petersburg  
M.I. Gulyukina - Academician of the Agricultural  
Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM,  
professor, Moscow  
N.V. Zelenevski - professor, DVM, St. Petersburg  
L.Y. Karpenko - professor, DBS, St. Petersburg  
S.P. Kovalev - professor, DVM, St. Petersburg

A.A. Kudryashov - professor, DVM, St. Petersburg  
V.A. Kuzmin - professor, DVM, St. Petersburg  
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg .  
K.V. Plemyshev - professor, DVM, St. Petersburg  
B.S. Semenov - professor, DVM, St. Petersburg  
A.M. Smirnov - Academician of the Agricultural  
Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM,  
professor, Moscow

A.A. Sukhinin - professor, DVM, St. Petersburg  
A.N. Shikov - professor, DFS, St. Petersburg

## Technical Department

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg  
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg  
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg  
A.V. Rybakova - PhD, St. Petersburg  
Sent to 03/14/2014

Signed for printing 14/03/2014

The format of 100 × 70 1/16 .

Glossy paper number 1. Offset printing.

Conv. Pec. liter. 5.2 1.63 fl. incl.

Conv. Cr. - ott . 18.2 . Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: Цюрихский университет (UZH) — крупнейший университет Швейцарии, в котором в настоящее время обучается более 26 000 студентов. История UZH берет свое начало с 1525 года, что позволяет ему входить в группу "старейших университетов" Швейцарии. UZH представляет собой классический исследовательский университет. Сейчас в UZH действуют 7 факультетов один из которых ветеринарный. UZH занимает высокие места в уважаемых международных рейтингах.

## ПОЗДРАВЛЯЕМ УЧАСТНИКОВ III-ГО МЕЖДУНАРОДНОГО КОНГРЕССА ВЕТЕРИНАРНЫХ ФАРМАКОЛОГОВ И ТОКСИКОЛОГОВ!

### НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

Номер государственной регистрации СМИ ПИ № ФС 77-28268 от 18 мая 2007 г. Подписной индекс в агентстве Роспечать 82393.

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (ФГОУ ВПО «СПбГАВМ»)

Журнал основан в январе 2004 года в Санкт-Петербурге и входит в список ведущих лицензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Журнал распространяется по всем регионам России и Республике Беларусь (ВУЗЫ, НИИ, ВЕТЕРИНАРНЫЕ ОТДЕЛЫ).

Журнал выходит не менее 4 раз в год. В нем публикуются работы по всем основным вопросам ветеринарии и смежным дисциплинам.

В этот журнал Вы можете поместить рекламу Вашей фирмы. Объявления и коммерческая реклама публикуются после оплаты. Срок исполнения – в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

Справки и технические возможности типографии, в которой печатается журнал, оговариваются по телефону (812) 387-11-58.

**Адрес редакции:** 196084, СПб, ул. Черниговская дом 5, СПбГАВМ, редакция журнала «Международный вестник ветеринарии» (МВВ).

### RESEARCH AND PRODUCTION JOURNAL

State registration number media PI № FS 77-28268 on May 18, 2007. Subscription Index Rospechat 82393.

Founded in January 2004 by Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Saint - Petersburg State Academy of Veterinary Medicine " ( FSEI- HPE " SPbGAVM")

International Bulletin of Veterinary an academic international peer-reviewed journal that publishes original research articles as well as review articles in veterinary sciences and related academic disciplines. It covers all the scientific and technological aspects of veterinary sciences in general, anatomy, physiology, biochemistry, pharmacology, microbiology, pathology, public health, parasitology, infectious diseases, clinical sciences, alternative veterinary medicine and other biomedical fields.

The manuscripts submitted to this journal must be previously unpublished and not be under consideration for publication elsewhere. Manuscripts that are found to have been plagiarized from a manuscript by other authors, whether published or unpublished, will incur plagiarism sanctions.

This journal, including all individual contributions and illustrations published therein, is legally protected by copyright. Any use, exploitation or commercialisation is illegal and liable to criminal prosecution.

Requests about legal photocopy reproduction, copyright or duplication processing should be addressed to the editorial office:

196084, St. Petersburg, ul . Chernihiv house 5 SPbGAVM, Editorial Board of "International Bulletin of Veterinary Medicine" (IBVM), phone +7-812- 3871158 .

## СОДЕРЖАНИЕ

Инфекционные болезни	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Роль бактерий рода <i>Klebsiella</i> при ассоциативных инфекциях коров и телят в условиях промышленного комплекса. <i>Смирнова Л.И., Забровская А.В., Приходько Е.И., Ярикова В.Э., Гегирова Д.М.</i> 7</li> <li>• Биологические свойства микроорганизмов вида <i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>, изолированных из молока коров при мастите. <i>Смирнова Л.И., Забровская А.В., Егорова С.А., Приходько Е.И., Ярикова В.Э., Гегирова Д.М.</i> 12</li> <li>• Биологические свойства изолятов возбудителей бактериальных болезней КРС. <i>Кострова Е.С., Прунтова О. В., Горюшева Н.В., Шадрова Н. Б.</i> 17</li> </ul>
Фармакология, токсикология, фармация	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Фармакокоррекция боли при повреждениях. <i>Соколов В.Д., Фисенков Н.Н.</i> 21</li> <li>• Влияние премикса на иммунологическую реактивность поросят. <i>Скалкина О.А., Андреева Н.Л.</i> 26</li> </ul>
Зооигиена, Санитария, Кормление	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Низкопентозановое зерно ржи – ценный концентрированный корм для животных. <i>Лунегова И.В., Кобылянский В.Д., Солодухина О.В.</i> 30</li> <li>• Определение бактерицидной активности препарата «Биомицин». <i>Шкромада О.И.</i> 37</li> <li>• Показатели биологической безопасности питьевой воды на заболеваемость животных. <i>Соколюк В.М.</i> 41</li> </ul>
Биохимия, анатомия, физиология	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Состояние белкового обмена и естественной резистентности поросят первого месяца жизни. <i>Паникар И.И.</i> 45</li> <li>• Гистотопография и плотность расположения эндокриноцитов в эпителии кишечника взрослых гусей. <i>Куц Н. Н.</i> 52</li> <li>• Патоморфология пневмонии у поросят при сальмонеллёзе, вызванном <i>Salmonella typhi suis</i> и <i>Salmonella typhimurium</i>. <i>Лаковников Е.А., Жданова Ю.А.</i> 56</li> <li>• Антиагрегационный контроль сосудистой стенки над тромбоцитами у новорожденных телят. <i>Медведев И.Н., Нагорная О.В., Завалишина С.Ю.</i> 59</li> <li>• Позвоночная артерия как один из путей кровоснабжения головного и спинного мозга у таксы. <i>Прусаков А.В., Верунен С.В.</i> 63</li> <li>• Влияние биологически активных веществ на показатели неспецифической резистентности у коров. <i>Зоткин Г.В., Косорлукова З.Я, Яшин И.В., Блохин П.И.</i> 67</li> </ul>
Экспериментальная фармакология	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Обзор систем индивидуально вентилируемых клеток, производства компании AllenTown, США. <i>Таращенко Д., Ковалева М.</i> 72</li> <li>• Влияние типа клеток для содержания на поведение крыс с хронической нейропатической болью. <i>Белозерцева И.В., Шекунова Е.В.</i> 77</li> <li>• Методы рандомизации животных в эксперименте. <i>Селезнева А.И, Макарова М.Н, Рыбакова А.В.</i> 84</li> <li>• Токсикологические исследования: оборудование для оценки повреждения нервной системы. <i>Воронцова О.Н., Воронцов Д.Д., Бондаренко Н.А.</i> 90</li> <li>• Общие принципы анестезии и анальгезии лабораторных животных. <i>Фатеева Е.И., Чернов А.С, Телегин Г.Б.</i> 97</li> <li>• Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных. <i>Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гуцин Я.А.</i> 103</li> <li>• Применение бактериальных тест-систем для оценки потенциального мутагенного эффекта новых фармацевтических соединений. <i>Ацапкина А.А, Крышень К.Л.-, Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i> 109</li> </ul>

CONTENTS

Infectious diseases	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>The role of bacteria Klebsiella when associated infections cows and calves in the conditions of an industrial complex.</i> L. Smirnova, A. Zabrovskaya, E. Prikhodko, V. Yarikova, D. Gegirova. 7</li> <li>• <i>Biological properties of microorganisms species of Klebsiella pneumoniae subsp.pneumoniae isolated from milk cows mastitis.</i> L. Smirnova, A. Zabrovskaya, S. Egorova, E. Prikhodko, V. Yarikova, D. Gegirova. 12</li> <li>• <i>Species diversity of bovine bacterial disease agents.</i> Y. Kostrova, O. Pruntova, N. Goryusheva, N. Shadrova. 17</li> </ul>
Pharmacology, toxicology, pharmacy	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Pain stress and wound healing.</i> V. Sokolov, N. Fisenkov. 21</li> <li>• <i>Primex influence on the immune status of piglets.</i> O. Skalkina, N. Andreeva. 26</li> </ul>
Zoohygiene, Sanitation, Feeding	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Rye with low pentose - valuable concentrated feed for animal.</i> I. Lunegova, V. Kobylanskii, O. Soloduhina. 30</li> <li>• <i>Definition bactericidal activity preparation "Biotsydin".</i> O. Shkromada. 37</li> <li>• <i>The indexes of drinking water biological safety and morbidity in animals.</i> V. Sokoluk. 41</li> </ul>
Biochemistry, anatomy, physiology	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>State of proteometabolism and natural rezistentnosti of piglings of the first month of life.</i> I. Panikar. 45</li> <li>• <i>Histotopography and density of distribution of the endocrine cells in gut epithelium of adult geese.</i> N. Kushch. 52</li> <li>• <i>Pathomorphology pneumonia of piglets in salmonellosis caused by Salmonella typhi suis and Salmonella typhimurium.</i> E. Lakovnikov, Y. Zhdanova. 56</li> <li>• <i>Antiaggregation controls vascular wall on platelet in neonatal calves.</i> I. Medvedev, O. Nagornaya, S. Zavalishina. 59</li> <li>• <i>Vertebral artery, an alternative way of blood supply of the brain and spinal cord dachshund.</i> A. Prusakov., S. Verunen. 63</li> <li>• <i>The effect of biologically active substances on indices of nonspecific resistance of cows.</i> G. Zotkin, Z. Kosorlukova, I. Yashin, P. Blokhin. 67</li> </ul>
Experimental pharmacology	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Review of individual ventilated cell production company Allentown, US.D.</i> Trashchenko, M. Kovaleva. 72</li> <li>• <i>Effect of laboratory cage type on behavior of rats with neuropathic pain.</i> I. Belozertseva, E. Shekunova. 77</li> <li>• <i>Randomization of experimental animals.</i> A. Selezneva, M. Makarova, A. Rybakova. 84</li> <li>• <i>Acute toxicity: equipment to study effects on the nervous system.</i> O. Vorontsova, D. Vorontsov, N. Bondarenko. 90</li> <li>• <i>Guidelines for laboratory animals anesthesia and analgesia.</i> E. Fateeva, A. Chernov, G. Telegin. 97</li> <li>• <i>Features histological processing of organs and tissues of laboratory animals.</i> A. Muzhikyan, M. Makarova, Y. Gushin. 103</li> <li>• <i>Bacterial test systems to evaluate the potential mutagenic effect of new drugs.</i> A. Atsapkina, K. Kryshen, M. Makarova, V. Makarov. 109</li> </ul>



## РОЛЬ БАКТЕРИЙ РОДА *KLEBSIELLA* ПРИ АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЯХ КОРОВ И ТЕЛЯТ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА

Смирнова Л.И.<sup>1</sup>, Забровская А.В.<sup>2</sup>, Приходько Е.И.<sup>1</sup>, Ярикова В.Э.<sup>1</sup>, Гегирова Д.М.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины»

<sup>2</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

### РЕФЕРАТ

Цель работы - определение этиологической значимости микроорганизмов разных видов рода *Klebsiella*, выделенных в микробных ассоциациях при маститах и вульвовагинитах коров, а также ринитах, бронхитах, бронхопневмониях и гастроэнтеритах телят в условиях промышленного комплекса Ленинградской области. Задача исследований – изучение биологических свойств и патогенного потенциала выделенных культур рода *Klebsiella* и ассоциированных с ними микроорганизмов. В промышленном молочном хозяйстве Ленинградской области были проведены бактериологические исследования 170 проб, в том числе молока коров со скрытыми и клинически проявляющимися маститами, мазков из верхнего свода влагалища коров, мазков из носа телят, ректальных мазков телят, смывов с доильных стаканов и оборудования в доильном зале, подстилочного материала, воздуха. Было выделено 47 культур *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, 6 культур *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* и 17 культур *K. oxytoca*. В большинстве случаев их выделяли в ассоциации с *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*.

*K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* относились к 2-м разным популяциям клебсиелл одного подвида, были вирулентны, отличались по биохимической активности, чувствительности к разным группам АБП, наличию β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Выделенные *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* были вирулентны, проявляли резистентность к многим группам АБП, обладали β-лактамазой расширенного спектра (БЛРС). Культуры *K. oxytoca* не обладали вирулентностью, были чувствительны к подавляющему большинству тестируемых АБП.

**Ключевые слова:** маститы коров, ассоциированная инфекция, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*, *Klebsiella oxytoca*, β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС).

### ВВЕДЕНИЕ

К роду *Klebsiella* семейства *Enterobacteriaceae* в настоящее время относят 4 вида: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. terrigena*, *K. planticola*. Вид *K. pneumoniae* делят на 3 подвида: *K. pneumoniae pneumoniae*, *K. pneumoniae ozaenae* и *K. pneumoniae*

*rhinoscleromatis* [4]. Колиформные бактерии рода *Klebsiella* широко распространены в природе. Их выделяют из множества объектов внешней среды, включая почву, воду, молочные продукты. Они являются представителями резидентной микрофлоры кишечника различных видов живот-

ных и человека. В то же время клебсиеллы могут играть роль этиологического фактора при пневмониях, метритах, маститах, гастроэнтеритах, септических процессах у людей и животных [2,5]. Интенсивная лекарственная терапия, применение антибиотиков при подобных состояниях часто приводит к количественным и качественным изменениям микробиотозов кожи, слизистых оболочек, кишечника, способствующим отягощению течения основного заболевания. Одновременное развитие нескольких возбудителей характеризуется не только суммированием болезнетворных возможностей, но и вызывает взаимное усиление вирулентности ассоциантов [3]. Наряду с этим в популяциях взаимодействующих микроорганизмов увеличивается число особей, устойчивых к антибиотикам [1,6].

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В промышленном животноводческом комплексе Ленинградской области провели бактериологические исследования проб молока коров со скрытыми и клинически проявляющимися маститами, а также здоровых животных. Пробы молока (30-50 мл) брали в стерильные пластиковые ёмкости после тщательной обработки вымени мыльным раствором, дезинфекции сосков 70% этиловым спиртом и сдаивания первой порции молока в отдельную посуду. С целью изучения распространённости потенциальных возбудителей мастита провели также бактериологическое исследование мазков из верхнего свода влагалища коров, больных маститами и вульвовагинитами, мазков из носа телят при рините, бронхите и бронхопневмонии, ректальных мазков у телят при энтеритах, смывов с доильных стаканов и оборудования в доильном зале, подстилочного материала, воздуха. Мазки и смывы брали стерильными увлажнёнными ватно-целлюлозными зондами и доставляли для исследования в транспортной среде Amis (без активированного угля).

Пробы подстилочного материала доставляли в стерильных пластиковых контейнерах. Пробы воздуха брали седиментационным методом (по МУК 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды»), в родильном отделении и доильном зале с экспозицией 1, 3 и 5 минут. Первичные посевы делали на среду Эндо, глюкозо-кровяной агар, желточно-солевой агар Чистовича. Полученные чистые культуры бактерий тестировали по комплексу культурально-биохимических свойств. Окончательную идентификацию и определение чувствительности к антибиотикам проводили с помощью автоматической микробиологической системы «VITEC COMPACT 2» [1]. Вирулентность выделенных культур определяли постановкой биопробы на белых мышках при введении им подкожно смыва суточной агаровой культуры в концентрации 500 млн. м.к./1 см<sup>3</sup>, в дозе 0,2 см<sup>3</sup>.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

С декабря 2012 года по декабрь 2013 года в промышленном молочном хозяйстве Ленинградской области были проведены бактериологические исследования 170 проб материала, взятого из вышеперечисленных локусов. Из доставленного материала микроскопическим и бактериологическим методами исследования выделены следующие микроорганизмы, имеющие практическое ветеринарное значение.

В результате проведённого бактериологического исследования было выделено 47 культур *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, 6 культур *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* и 17 культур *K. oxytoca*. При разных формах мастита из молока коров выделили 27 культур *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. В 36,7% случаев их выделяли в ассоциации с *Proteus mirabilis*, в 14,4% - в ассоциации с *Pseudomonas aeruginosa*, в 37% случаев - в ассоциации с *Escherichia coli*. При исследовании биохимических свойств культур *K. pneumo-*

Таблица 1

Микроорганизмы, выделенные при обследовании  
промышленного животноводческого комплекса

№	Вид материала	К-во проб	Выделенные микроорганизмы	К-во культур
1	Молоко при острой и подострой форме мастита до лечения	26	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumonia</i>	15
			<i>Proteus mirabilis</i>	5
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
			<i>Escherichia coli</i>	10
2.	Молоко при подостром мастите после лечения	15	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumonia</i>	8
			<i>Proteus mirabilis</i>	4
3.	Молоко при скрытом мастите	15	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumonia</i>	4
			<i>S.aureus</i>	2
4.	Молоко клинич. здоровых коров	20	-	0
5.	Мазки из влагалища коров, больных маститом и вульвовагинитом	15	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumonia</i>	4
			<i>S.aureus</i>	10
			<i>Streptococcus</i> sp.	5
			<i>Escherichia coli</i>	9
6.	Мазки из влагалища клинически здоровых коров	15	<i>Escherichia coli</i>	4
			<i>Streptococcus</i> sp.	4
7.	Мазки из носовой полости телят с болезнями респираторных органов	10	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	2
			<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>ozenae</i>	2
			<i>Escherichia coli</i>	4
			<i>Proteus mirabilis</i>	1
8.	Ректальные мазки от телят с гастроэнтеритами	4	<i>Escherichia coli</i>	4
			<i>Proteus mirabilis</i>	3
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	4
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	4
9.	Мазки из носовой полости клинически здоровых телят	10	<i>Escherichia coli</i>	10
			<i>Streptococcus</i> sp.	5
			<i>Stap.aureus</i>	6
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	4
10.	Смывы с доильных аппаратов и оборудования:			
10.1	до дойки (чистого)	5	-	0
10.2	после дойки коров с маститами	3	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumonia</i>	3
10.3	после дойки и промывки моющее-дезинфицирующим средством	5		0
10.4	Смывы из стакана с раствором для обработки сосков до доения (во время использования)	3	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumonia</i>	3
10.5	Смывы со стакана с дез. раствором для обработки сосков после доения	3	-	0
10.6	Смывы со стен оборудования «карусель» в доильном зале	5	<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	5
			<i>K.pneumoniae</i> subsp. <i>ozenae</i>	3
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	4
			<i>Escherichia coli</i>	1
10.7	Смыв со стены в родильном отделении	1	-	0
11.	Пробы подстилки в животноводческом помещении	5	<i>Escherichia coli</i>	5
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	5

12.	Пробы подстилки в животноводческом помещении	5	Proteus vulgaris	4
			Proteus mirabilis	1
13.	Пробы воздуха в доильном зале	5	K.pneumoniae subsp. pneumoniae	3
			K.pneumoniae subsp. ozaenae	1
14.	Пробы воздуха в родильном отделении	5	Escherichia coli	5
Итого:		170		176

niae subsp. pneumoniae на анализаторе «VINEK COMPACT 2» установили, что они относятся к 2-м разным популяциям клебсиелл одного вида, которые отличались по биохимической активности, чувствительности к АБП. При этом они показывали нетипичный результат дифференцирующего теста на уреазу (-) и лизиндекарбоксилазу (-).

Тестируемые культуры K.pneumoniae subsp. pneumoniae 1-го варианта, выделенные из секрета молочной железы при мастите, были вирулентны для белых мышей и вызывали их гибель в течение 4-6 дней после заражения. Они обладали устойчивостью к АБП нескольких классов: сульфаниламидам, ко-тримоксазолу, тетрациклину, аминогликозидам (тобрамицину, гентамицину, амикацину), β-лактамам (ампициллину, амоксицилину, цефепиму, цефотаксиму) обладали β-лактамазой расширенного спектра (БЛРС). Тестируемые культуры K.pneumoniae subsp. pneumoniae 2-го варианта были вирулентны для мышей, но проявляли устойчивость только к ампициллину.

Культуры Ps. aeruginosa и P. mirabilis, выделенные в ассоциации с клебсиеллами, также были вирулентны (вызывали гибель белых мышей в течение 2-4-х суток после заражения) и устойчивы к наиболее часто применяемым классам АБП: фторхинолонам (налиндиксовой кислоте, ципрофлоксацину), сульфаниламидам, ко-тримоксазолу, тетрациклину, полимиксину, аминогликозидам (стрептомицину, гентамицину), нитрофурантоину, β-лактамам (амоксицилину, ампициллину, цефотаксиму). Тестируемая культура K.pneumoniae subsp. ozaenae была вирулент-

на для мышей, проявляла резистентность к сульфаниламидам, ко-тримоксазолу, тетрациклину, тобрамицину, гентамицину, амикацину, амоксицилину, ампициллину, обладала β-лактамазой расширенного спектра (БЛРС). Тестируемая культура K.pneumoniae subsp. pneumoniae не обладала вирулентностью для мышей, была чувствительна к подавляющему большинству тестируемых АБП за исключением ампициллина. Культуры E.coli не вызывали гибели мышей.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных сделан вывод, что одна из причин маститов коров в условиях промышленного комплекса - патологическое воздействие циркулирующей в животноводческих помещениях ассоциации грамотрицательных микроорганизмов. Ведущим этиологическим фактором в данной ассоциации является K.pneumoniae subsp. pneumoniae. Её выделяли из молока, со слизистых оболочек телят с болезнями респираторных органов и со слизистых оболочек влагалища коров, болеющих маститами, то есть она является постоянным членом патологического микробиоценоза. В связи с высокой перекрёстной резистентностью представителей этой микробной ассоциации практически ко всем классам АБП, которые есть возможность применить в ветеринарной практике в данном хозяйстве, бороться с инфекционными маститами в сложившихся условиях очень сложно. Трудность заключается также в том, что K.pneumoniae subsp. pneumoniae хорошо сохраняется, и, вероятно, имеет возможность размножаться во внешней среде, особенно на влажных поверхностях оборудования доильного зала и доильных аппаратах, присутствует

в воздухе доильного зала. *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* устойчива к дезинфектантам и моющим средствам, не уничтожается применяемым в хозяйстве раствором для обработки сосков перед доением, недостаточно чувствительна к средствам, которыми обрабатывается аппаратура и помещение «карусели». В таких условиях коровы могут перезаражаться во время доения.

Представляет интерес обнаружение в исследуемом материале *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae*. Микроорганизмы этого подвида описаны как возбудители озыны – инфекционной болезни человека, характеризующейся хроническим ринитом, поражением гортани, трахеи, атрофией слизистой оболочки носа [5]. Мы выделили клебсиеллы подвида *ozaenae* при исследовании мазков из носовой полости телят с болезнями респираторных органов, смывов со стен оборудования «карусель» в доильном зале и проб воздуха в доильном зале. Предполагаем, что появление популяции этих бактерий в животноводческом комплексе может носить антропогенный характер и связано с вероятностью инфицирования ими обслуживающего персонала.

Микроорганизмы вида *K. oxytoca* изолированы при исследовании проб подстилочного материала в животноводческом помещении, мазков из носовой полости клинически здоровых телят, ректальных мазков от телят с гастроэнтеритами, смывов со стен оборудования в доильном зале. В данном случае микроорганизмы *Klebsiella oxytoca* можно рассматривать как сапрофитный микроорганизм, присутствие которого, однако, может осложнять лечение телят с заболеваниями кишечника.

**The role of bacteria *Klebsiella* when associated infections cows and calves in the conditions of an industrial complex.**

**L. Smirnova, A. Zabrovskaya, E. Prikhodko, V. Yarikova, D. Gegirova.**

## **ABSTRACT**

The aim of our study was definition of etiological importance of different microbial species *Klebsiella*, isolated in microbial associations from cows with mastitis and vulvovaginitis, as well as from sick calves with rhinitis, bronchitis, pneumonia and gastroenteritis in an industrial complex of the Leningrad region. We have studied the biological properties and pathogenic potential of the genus *Klebsiella* isolates and their associated microorganisms. The bacteriological study of 170 samples, including milk cows with hidden and clinically manifested mastitis, vaginal swabs from cows, calves nasal swabs, rectal swabs calves, washouts from the teat cups and equipment in the milking parlor, litter, air was conducted in the industrial dairy farming Leningrad region. Cultures were 47 *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, 6 cultures *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae*, 17 cultures and *K. oxytoca*. In most cases isolated in association with *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* belonged to the 2nd different populations *Klebsiella* one subspecies were virulent differed in biochemical activity, sensitivity to different groups of antimicrobials, the presence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL). Dedicated *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* were virulent, developed resistance to many groups of antimicrobials, and produced ESBL. *K. oxytoca* culture did not possess virulence, were sensitive to majority of tested antimicrobials.

**Key words:** bovine mastitis, mixed infection, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*, *Klebsiella oxytoca*, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL).

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Забровская А.В. Устойчивость к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и из продуктов в Ленинградской области в 2004-2010 гг. // Международный вестник ветеринарии. -

2011. -№3. -С. 16.
2. Лабинская А. С., Костюкова Н. Н., Иванова С. М. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга 2. ОАО «Издательство «Медицина». -2010. -399с.
3. Методические рекомендации по профилактике и лечению стрептококкозов у крупного рогатого скота и птиц. // СПб:ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины». -2012. - 36с.
4. Хоулт Д., Криг Н., Снит П. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.Т.2: пер.с англ./под ред. С.Уилльямса. -М.:Мир. - 1997. - 319с.
5. Очилов Р.А. Биологические свойства штаммов *K.pneumoniae* и *S.aureus*, выделенных в виде монокультур и ассоциаций, при дисбактериозах кишечника у детей с бронхолегочной патологией: автореф. дис... к.б.н.. -Уфа. -2004. -24с.
6. Гемникова Л.В. Препарат АСП для лечения маститов: автореф.дисс... канд.вет.наук. СПб. -2013. -24с.

УДК: 579.842.16:618.19-002:636.2

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ ВИДА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUBSP. *PNEUMONIAE*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ МОЛОКА КОРОВ ПРИ МАСТИТЕ

Смирнова Л.И.<sup>1</sup>, Забровская А.В.<sup>2</sup>, Егорова С.А.<sup>2</sup>, Приходько Е.И.<sup>1</sup>, Ярикова В.Э.<sup>1</sup>, Гегирова Д.М.<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»  
<sup>2</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

### РЕФЕРАТ

Цель данной работы - изучение биологических свойств, в том числе факторов патогенности *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, выделенных из молока коров при маститах. Бактерии рода *Klebsiella*, относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae*, широко распространены в природе, часто присутствуют в организме здоровых людей и животных, не принося ощутимого вреда. Но при снижении иммунного статуса клебсиеллы могут вызывать различные заболевания. В частности, наряду с другими колиформными бактериями они способны вызывать так называемый энверонментальный мастит коров. Исследовали молоко лактирующих коров, эксплуатируемых в условиях молочного промышленного комплекса Ленинградской области без выгула, при острых, подострых и скрытых маститах. В 36,7% случаев клебсиеллы выделяли в ассоциации с *Proteus mirabilis*, в 14,4% - в ассоциации с *Pseudomonas aeruginosa*, в 37% случаев – в ассоциации с *Escherichia coli*. Из молока коров, больных маститами, изолированы вирулентные для мышей *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* двух различных биовариантов. Изученные штаммы имеют очень сильную способность к образованию слизи. Также они проявляют гемолитическую активность, высокую адгезивную активность, изученную на модели нативных эритроцитов человека. Изученные штаммы продуцируют дезоксирибонуклеазу. Они устойчивы к наиболее часто применяемым классам АБП, обладают β-лактамазой расширенного спектра. Клебсиеллы- штамма Э6-1 (*Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*) продуцируют β-лактамазу класса СТХМ-1. Всё это позволяет счи-

тать их этиологическим фактором мастита коров в данном хозяйстве.

**Ключевые слова:** *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, мастит коров, культурально-биохимические свойства, вирулентность, ДНК-зная активность, адгезивная активность, резистентность к АБП, β-лактамаза расширенного спектра класса СТХМ-1.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Клебсиеллы вида *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* – условно патогенные, колиформные бактерии рода *Klebsiella*, относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae*. Они широко распространены в природе, часто присутствуют в организме здоровых людей и животных, не принося ощутимого вреда. Однако при снижении иммунного статуса клебсиеллы могут вызывать различные заболевания. Это крупозная пневмония, гнойно-септические процессы, поражения суставов, поражения органов мочеполовой системы, гастроэнтериты, тяжёлые госпитальные инфекции у недоношенных детей, пожилых и ослабленных лиц [2]. Серьёзная проблема молочного животноводства - ассоциированные колиформные маститы коров. Клебсиеллы наряду с другими колиформными бактериями вызывают так называемый энверонментальный мастит (англ. *environment* — окружающая среда) [5,7]. Термин используют, чтобы привлечь внимание к тому факту, что первичная среда обитания бактерий, вызывающих энверонментальный мастит, — окружающая среда (экскременты, почва, доильное оборудование, вода, подстилочные материалы и др.). Подтверждением этиологической значимости условно-патогенных микроорганизмов, в частности культур *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в виде ассоциаций и монокультур, является изучение их биологических свойств и патогенного потенциала [2,4].

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследовали молоко лактирующих коров, эксплуатируемых в условиях молочного промышленного комплекса Ленинградской области без выгула, при ост-

рых, подострых и скрытых маститах. Пробы молока (30-50 мл) брали в стерильные пластиковые ёмкости после тщательной обработки вымени мыльным раствором, дезинфекции сосков 70%-м этиловым спиртом и сдаивания первой порции молока в отдельную посуду. Бактериологическое исследование начинали не позднее 2-х часов после отбора проб. Для выявления колиформных бактерий первичные посевы проводили на среду Кесслер и среду Эндо. Полученные чистые культуры клебсиелл культивировали на ГРМ-бульоне и МПА, идентифицировали по комплексу культурально-биохимических свойств. Способность к капсулообразованию изучали на среде МПА с 1% глицерина и 1% глюкозы и на среде Эндо с 5% молока; гемолитическую активность – на кровяном агаре с эритроцитами человека и эритроцитами барана. Окончательную идентификацию и определение чувствительности к антибиотикам проводили с помощью автоматической микробиологической системы «VITEC COMPACT 2». Наличие бета-лактамаз определяли методом «двойных дисков» [6]. Класс бета-лактамаз устанавливали методом ПЦР. ДНК-азную активность определяли, используя готовую среду «ДНК-агар» фирмы "Pronadisa" производства "Conda", Испания. Адгезивную активность проверяли на модели эритроцитов человека. Считали высокоадгезивными культуры бактерий, имеющие с эритроцитами средний показатель адгезии (СПА) - свыше 4-х, среднеадгезивными - от 2,01 до 4,0, низкоадгезивными - от 1,01 до 2,0 и неадгезивными - при СПА от 0 до 1,0. [1, 3]. Вирулентность выделенных культур определяли поста-

новкой биопробы на белых мышах при введении им подкожно смыва суточной агаровой культуры (500 тыс.м.т./см<sup>3</sup>) в дозе 0,2 см<sup>3</sup>. Чувствительность к бактериофагам испытывали методом «стекающей капли», используя «бактериофаг клебсиеллёрный поливалентный очищенный жидкий» (НПО Микроген, г.Уфа), «Клебсифаг», «бактериофаг клебсиелл пневмонии» (НПО Биомед, г.Пермь), «пиобактериофаг поливалентный очищенный» (НПО Микроген, г.Уфа), «секстафаг (пиобактериофаг поливалентный)» (НПО Биомед, Пермь).

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

При разных формах мастита из молока коров, эксплуатируемых в промышленном комплексе по производству молока (Ленинградская область), выделили 27 культур *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. При этом в 36,7% случаев их выделяли в ассоциации с *Proteus mirabilis*, в 14,4% - в ассоциации с *Pseudomonas aeruginosa*, в 37% случаев – в ассоциации с *Escherichia coli*.

Клебсиеллы представляли собой мелкие, неподвижные, грамтрицательные палочки, расположенные одиночно, попарно или цепочкой из трёх клеток. Они обладали хорошо заметной при микроскопии капсулой, которая была бесцветной при окраске по Бурри-Гинсу и голубой при окраске метиленовым синим по Михину. Культуры клебсиелл хорошо росли на простых средах. При росте на ГРМ-бульоне вызывали равномерное помутнение, тонкую слизистую плёнку на поверхности. После посева на плотную среду визуальное рост колоний можно было наблюдать уже через 2-3 часа. При микроскопии (x400) молодых 2-3-часовых колоний на среде МПА можно было наблюдать, что бактерии в колонии располагаются петлеобразно (в отличие от культур *K.pneumoniae* subsp. *ozaenae*, которые располагаются в 2-3 часовой колонии концентрическими рядами). На МПА че-

рез 18-24 ч вырастали серо-белые, полупрозрачные, блестящие, сливающиеся слизистые колонии диаметром 3-4 мм. На среде Эндо после культивирования при 37-38°C в течение 18-24 ч изучаемые культуры образовывали очень крупные колонии диаметром до 12-15 мм, двух типов: 1. бледно-розовые, блестящие, слизистые, сливающиеся, приподнимающиеся над поверхностью среды на 3-5мм; 2. тёмно-красные, с ярким металлическим блеском, глянцевые, также слизистые, пышные, приподнимающиеся над поверхностью среды на 5-6 мм и выше. Через 4-5 суток после посева колонии второго типа также обесцвечивались, становились светло-розовыми, вероятно из-за вторичного подщелачивания среды Эндо слизью. При прикосновении бактериологической петлёр к колонии слизь тянулась за петлёр на 10 см и более. Культуры продолжали активно расти при температуре 20-23°C, через 48 часов слой слизи становился настолько мощным, что часть колоний отрывалась от поверхности среды в перевёрнутой чашке Петри и образовывала сгустки и тяжи на крышечке. Через 3-4 дня после посева слизистая субстанция колоний уплотнялась в виде напоминающей резину клейкой массы, образуя подобие матрикса. Из таких колоний было трудно взять материал для изготовления мазков и пересева: при введении бактериологической петлёр колония как бы «пружинила», не позволяя отделить материал. Особенно активно образование слизи проявилось при пересеве исследуемых колоний на МПА с глицерином и глюкозой и среду Эндо с 5% молока (модификация кафедры микробиологии СПбГАВМ). На такой среде колонии данной популяции клебсиелл за 48 ч инкубации достигали диаметра 20-22 мм. На кровяном агаре исследуемые культуры давали средние и крупные серые слизистые колонии, среда в чашке становилась тёмно-коричневой, непосредственно во-

круг колоний в некоторых случаях появлялась узкая (1-2 мм) зона  $\beta$ -гемолиза.

При исследовании биохимических свойств выделенных культур *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* определили, что они не выделяют индол и сероводород, замедленно растут на цитратной среде Симмонса, не обладают фенилаланиндезаминазой, дают отрицательную реакцию с метиловым красным и положительную (или сомнительную) Фогеса-Проскауэра, замедленно свёртывают молоко. С помощью анализатора «VINEK СОМПАСТ 2» установили, что они относятся к 2-м разным популяциям клебсиелл одного вида, отличающимся по биохимической активности. При этом оба варианта показывали нетипичный результат дифференцирующего теста на уреазу (-) и лизиндекарбоксилазу (-). Культуры первого варианта замедленно расщепляли лактозу.

Культуры *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, выделенные из секрета молочной железы при мастите, были вирулентны для белых мышей и вызывали их гибель в течение 4-6 дней после заражения.

Исследуемые культуры клебсиелл проявляли высокую адгезивную активность по отношению к нативным эритроцитам человека. Средний показатель адгезии (СПА) - больше 4-х. Коэффициент участия эритроцитов в адгезивном процессе также был высоким и принимался за 100. [1,3].

Так как степень патогенности микроорганизмов во многом зависит от активности продуцирования экстрацеллюлярных энзимов - факторов нестабильности, к которым относится и ДНКаза (дезоксирибонуклеаза), мы провели тестирование выделенных культур по этому показателю. Выделенные культуры клебсиелл обладали выраженной ДНК-зной активностью. Через 10 минут после нанесения на зону роста клебсиелл на ДНК-агаре 8-10 мл IN раствора НС1 ширина

зоны деполимеризации на ДНК-агаре составляла 5-7 мм.

Тестируемые культуры *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* (вариант 1) обладали устойчивостью к антимикробным препаратам нескольких классов: сульфаниламидам, ко-тримоксазолу, тетрациклину, аминогликозидам (тобрамицину, гентамицину, амикацину),  $\beta$ -лактамам (ампициллину, амоксиклаву, цефепиму, цефотаксиму) продуцировали  $\beta$ -лактамазу расширенного спектра (БЛРС) класса СТХМ-1. Тестируемые культуры *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* (вариант.2), выделенные из этих же проб молока, проявляли устойчивость только к ампициллину.

Тестируемые культуры *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* обоих вариантов проявляли чувствительность к препарату «бактериофаг клебсиелллезный поливалентный очищенный жидкий» (НПО Микроген, г.Уфа); к другим испытанным коммерческим препаратам, содержащим клебсиелллезные бактериофаги, были нечувствительны.

Культуры *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus mirabilis*, выделенные из молока в ассоциации с клебсиеллами, также были вирулентны (вызывали гибель белых мышей в течение 2-4-х суток после заражения внутривентриально в дозе 0,2 см<sup>3</sup>) и устойчивы к наиболее часто применяемым классам АБП: фторхинолонам (налидиксовой кислоте, ципрофлоксацину), сульфаниламидам, ко-тримоксазолу, тетрациклину, полимиксину, аминогликозидам (стрептомицину, гентамицину), нитрофурантоину,  $\beta$ -лактамам (амоксиклаву, ампициллину, цефотаксиму).

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Из молока больных маститами коров, эксплуатируемых в условиях промышленного животноводческого комплекса Ленинградской области, изолированы вирулентные для мышей *Klebsiella pneumoniae*

subsp. pneumoniae двух биовариантов. Изученные штаммы имеют ярко выраженную способность к образованию капсульного слизистого вещества, проявляют гемолитическую активность, высокую адгезивную активность, продуцируют дезоксирибонуклеазу, устойчивы к наиболее часто применяемым классам АБП, обладают β-лактамазой расширенного спектра. Клебсиеллы- штамма Э6-1 (*Klebsiella pneumoniae* subsp. pneumoniae) продуцируют бета-лактамазу класса СТХМ-1. Это позволяет считать их этиологическим фактором мастита коров в данном хозяйстве.

**Biological properties of microorganisms species of *Klebsiella pneumoniae* subsp. pneumoniae isolated from milk cows mastitis.**

L. Smirnova, A. Zabrovskaya, S. Egorova, E. Prikhodko, V. Yarikova, D. Gegirova.

**ABSTRACT**

Bacteria of the genus *Klebsiella*, belonging to the family Enterobacteriaceae, widely distributed in nature, are often present in healthy humans and animals, without causing noticeable damage. But while reducing the immune status *Klebsiella* can cause various diseases. In particular, along with other coliform bacteria capable of causing the so-called environmentalny cow mastitis. The aim of this work - the study of biological properties, including pathogenicity *Klebsiella pneumoniae* subsp. pneumoniae, isolated from milk from cows with mastitis. The milk of lactating cows, operated under the dairy industry Leningrad region without walking, acute, subacute, and latent mastitis was investigated. In 36.7 % of the *Klebsiella* isolated in association with *Proteus mirabilis*, in 14.4 % - the association with *Pseudomonas aeruginosa*, in 37 % of cases - in association with *Escherichia coli*. Milk of cows with mastitis, isolated virulent for mice *Klebsiella pneumoniae* subsp. pneumoniae two different biological variants. Studied

strains have a very strong ability to produce mucus. They also exhibit hemolytic activity, high adhesive activity, studied on the model of native human erythrocytes. Studied strains produce DNA-ase. They are resistant to the most commonly used classes of ABP possess β- lactamase spread spectrum. ▸ *Klebsiella* strain E6 -1 (*Klebsiella pneumoniae* subsp. *Pneumoniae*) ▸ t produce β- lactamase - class СТХМ 1. All it makes their etiological factor mastitis cows on the farm.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов. // Лабораторное дело. -1986. -№4. -С. 210-212.
2. Зверев В.В., Бойченко М.Н. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х томах. Том 2-й. Издательство ГЕОТАР-Медиа. -2014. -С. 58-59.
3. Смирнова Л.И. Адгезивные свойства кишечной палочки и профилактика колибактериоза птиц, дисс...канд.вет.наук. -СПб. -1996. -С. 85-93.
4. Лабинская А.С., Костюкова Н.Н., Иванова С. М. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга 2. «Медицина» - 2010. -228с.
5. Темникова Л.В. Препарат АСП для лечения маститов: автореф.дисс... канд.вет.наук. -СПб. -2013. -24с.
6. Забровская А.В. Устойчивость к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и из продуктов в Ленинградской области в 2004-2010 гг. // Международный вестник ветеринарии. - 2011. -№3. -С. 15-18.
7. <http://www.vetmagazines.ru>.

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ КРС

Кострова Е.С. - аспирант, сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота, Прунтова О. В. - д.б.н., профессор, главный эксперт по пищевой безопасности, Горюшева Н.В. - вед. вет. врач, сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота, Шадрова Н. Б. - к.б.н., вед. научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ВНИИЗЖ



### РЕФЕРАТ

Целью исследований явилось проведение анализа результатов по выделению возбудителей бактериальных патологий крупного рогатого скота. Исследования проводились на базе референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ». Материалом для исследований послужили патогенные микроорганизмы выделенные из проб патологического материала и молока от крупного рогатого скота, поступивших в лабораторию за 2013г. Выделение патологических микроорганизмов и изучение их биологических свойств проводились по общепринятым методикам и с использованием современных средств диагностики бактериальных инфекций животных. Всего за 2013г. было проведено исследование 72 проб молока и 75 проб патологического материала, в результате которого проведен анализ изолированных микроорганизмов, частоту их встречаемости, чувствительность к антибактериальным препаратам. По итогам видовой идентификации микроорганизмов было установлено что лидирующее место среди возбудителей маститов коров занимает *Staphylococcus aureus* – 30% и *Pseudomonas aeruginosa* – 25% от всех изолятов. Доминирующее видом среди выделенных бактерий из патологического материала от коров с клиническими и субклиническими признаками инфекционных заболеваний (повышенная температура тела, истечения из носа, истечения из влагалища, диспепсия, вялость, отказ от корма, воспаление вымени) являлся *E. coli* (59% от всех выделенных изолятов). Также необходимо отметить важную роль в патологии бактерий вида *Ps. aeruginosa* – 13% и бактерий семейства *Pasteurellaceae* – 8%. Полученные данные по исследованию чувствительности всех выделенных патогенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам, показали различную степень резистентности внутри каждого вида микроорганизма. Необходимо отметить, что наиболее часто выделяемые бактерии вида *Ps. aeruginosa* и *E.coli* имели наибольшую устойчивость ко всем группам антибиотиков, за исключением, препаратов группы фторхинолона.

**Ключевые слова:** крупный рогатый скот, патогенные бактерии, антимикробные препараты, резистентность.

### ВВЕДЕНИЕ

Одна из важных задач ветеринарии – борьба с инфекционными болезнями крупного рогатого скота (КРС) бактериальной этиологии, так как они составляют 80% в структуре от общей заболеваемо-

сти скота [7].

Бактерии, в том, числе и патогенные, обладают большой изменчивостью, которая выражается относительным непостоянством формы, величины, культуральных, ферментативных реакций, устойчи-

ности к антимикробным препаратам и других биологических свойств. Это является причиной того, что в странах Европейского Союза и Северной Америки приоритетными направлениями исследований в области ветеринарной микробиологии являются определение тенденций в распространении патогенных бактерий среди сельскохозяйственных животных и выявлении их антибиотикорезистентных форм (8, 9). В связи с этим работы, целью которых является выделение возбудителей бактериальных инфекций, изучение их биологических свойств, определение их устойчивости к антибиотикам являются актуальными.

Целью данной работы явился анализ результатов бактериологических исследований проб патологического материала и молока от КРС, поступивших в ФГБУ ВНИИЗЖ в течение 2013 г, изучение биологических свойств выделенных патогенных микроорганизмов и их чувствительности к антибактериальным препаратам в соответствии с выполнением плана НИР по теме «Биологические свойства бактерий семейства Pasteurellaceae, выделенных на территории РФ».

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В работе использовали пробы молока и патологического материала (внутренние органы, абортированные плоды, влагалищные смывы, соскобы кожи с сосков вымени) от КРС различных возрастных категорий (от 3 дневного возраста до 8 лет) с клиническими и субклиническими признаками заболеваний.

Для первичного посева патологического материала и молока, выделения чистых культур и определения биохимических свойств выделенных бактерий использовали следующие питательные среды: агар Эндо (Merck), хромогенный агар для колиформных бактерий (Merck), 1,5% агар на основе перевара по Хоттингеру, 1,5% агар на основе перевара по Хоттингеру с добавлением 10% эритро-

цитов крови лошади (ХКЭ). Приготовленные питательные среды хранили в защищенном от света месте при 4°C не более 14 дней.

Бактериологический анализ проб патологического материала и молока выполняли в соответствии с методическими указаниями [3, 4, 6].

Культивирование бактерий для получения биомассы проводили в аэробных условиях при 37°C в течение 24 часов.

Выделенные культуры идентифицировали с применением бактериологического анализатора Vitek2 Compact, а также с использованием Maldi Tof масс спектрометрии и тест системы Slidex Staph Plus (производство bioMérieux, Франция).

Патогенность бактерий определяли путем постановки биологической пробы на белых мышках посредством внутрибрюшинного заражения суточными бульонными культурами в объеме 0,5мл. [3, 4, 6].

Чувствительность к антимикробным препаратам (амикацин, ампициллин, гентамицин (группа аминогликозида), котримоксазол, триметоприм (группа котримоксазола), нитрофуран, фурадонин (группа нитрофурана), амоксициллин, амоксиклав, доксициклин, ампициллин/сульбактам (группа пенициллина), колистин, колистин сульфат (группа циклических полипептидов), окситетрациклин, тетрациклин (группа тетрациклина), левофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, цiproфлоксацин (группа фторхинолона) левомицетин, , хлорамфеникол (группа хлорамфеникола), цефоперазон, цефуроксим (группа цефаспорина)) определяли диско-диффузионным методом с применением набора дисков, пропитанных различными антибиотиками (НИЦФ, г. Санкт-Петербург) по стандартной методике, в соответствии с МУК 4.2.1890-04. [5]

Статистический анализ данных проводился с использованием стандартных ме-

тодик по Ашмарину И.П. и Воробьеву А.А. [1].

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате бактериологического исследования 72 проб молока были выделены бактерии, следующих семейств: Micrococccaceae (20 изолятов из 52); Enterobacteriaceae (17 изолятов); Pseudomonadaceae (13 изолятов); Bacillaceae (2 изолята).

В течение периода наблюдения у белых мышей отмечали угнетенное состояние, отказ от корма, взъерошенный шерстный покров и в итоге летальный исход. Все изоляты были патогенны для белых мышей.

Представители семейства Micrococccaceae составили 38% от общего количества изолятов, выделенных из проб молока, бактерии семейства Enterobacteriaceae – 33% и 25% - семейства Pseudomonadaceae.

В результате определения видовой принадлежности выделенных из маститного молока микроорганизмов было показано, что лидирующее место среди них занимает *St. aureus* (30% от всех выделенных изолятов) (рис. 1).

В результате бактериологического исследования 75-ти проб патологического материала выделены бактерии следую-

щих семейств: Enterobacteriaceae (16 изолятов); Pasteurellaceae (5 изолятов). Pseudomonadaceae (3 изолята); Micrococccaceae (1 изолят), патогенные для белых мышей.

Инструментальная идентификация изолятов с применением бактериологического анализатора Vitek2 Compact и времяпролетного масс спектрометра Maldi ToF позволила определить, что 59% от всех выделенных патогенов принадлежали к виду *E. coli* (Рис. 2).

Изоляты семейства Enterobacteriaceae выделенные из проб патологического материала от КРС были чувствительны к антимикробным препаратам группы цефалоспоринов, к аминогликозиду амикацину и амоксицилину из группы пенициллина и устойчивы к ко-тримоксазолу и циклическим полипептидам.

Исследуемые бактерии семейства Pasteurellaceae были чувствительны к антимикробным препаратам групп фторхинолона и цефалоспоринов и не чувствительны к циклическим полипептидам и аминогликозидам.

Бактерии вида *Ps. aeruginosa* были резистентны ко всем вариациям антимикробных препаратов группы пенициллина, а также к препаратам группы хлорамфеникола, тетрациклина и нитрофурана, но чувствительны к препаратам группы

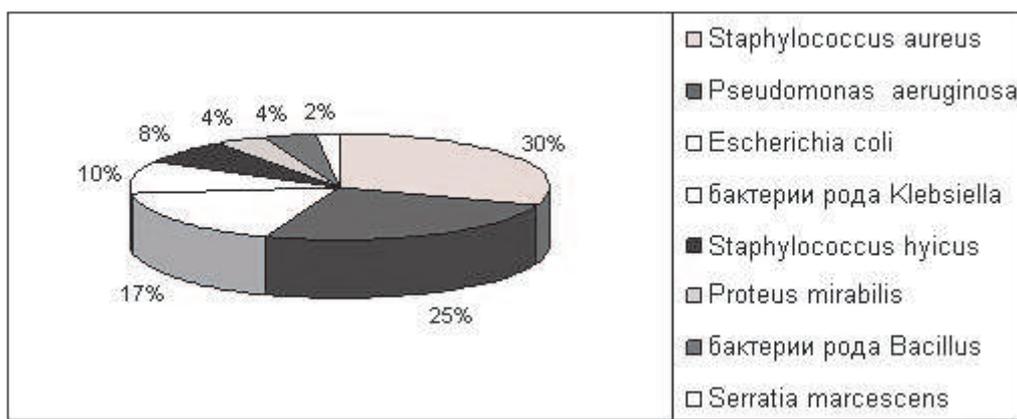


Рис. 1. Видовой спектр патогенных микроорганизмов, выделенных при исследовании проб молока крупного рогатого скота

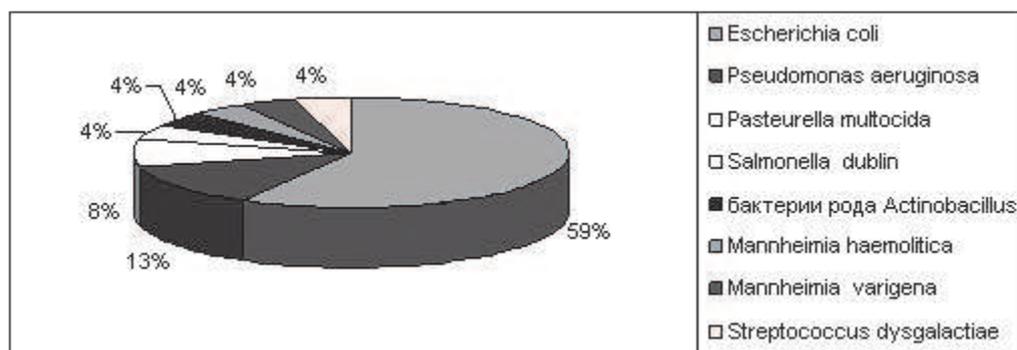


Рис. 2. Видовой спектр патогенных микроорганизмов, выделенных при исследовании проб патматериала КРС

фторхинолона.

При определении чувствительности к антимикробным препаратам культур, выделенных из молока КРС, определили высокую чувствительность к антимикробным препаратам группы фторхинолона и низкую чувствительность к антибиотикам из групп ко-тримоксазола и циклических полипептидов.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате бактериологического исследования 72 проб молока были выделены бактерии, следующих семейств: Micrococcosaceae (38% от общего количества изолятов); Enterobacteriaceae (33%); Pseudomonadaceae (25%); Bacillaceae (4%). Лидирующее место среди них занимает *St. aureus* (30% от всех выделенных изолятов).

По итогам бактериологического исследования 75-ти проб патологического материала выделены бактерии следующих семейств: Enterobacteriaceae (62% от общего количества изолятов); Pasteurellaceae (21%). Pseudomonadaceae (13%); Micrococcosaceae (4%). В результате видовой идентификации изолятов было показано, что доминирующим видом являлся *E. coli* (59% от всех выделенных изолятов).

Полученные данные по антибиотико-чувствительности исследуемых изолятов показали различную степень устойчивости к препаратам внутри каждого вида

микроорганизма. Однако необходимо отметить, что изоляты *Ps. aeruginosa* были резистентны ко всем группам антибиотиков, за исключением, препаратов группы фторхинолона.

#### **Species diversity of bovine bacterial disease agents.**

**Y. Kostrova, O. Pruntova, N. Gorysheva, N. Shadrova.**

#### **ABSTRACT**

The results of bacteriological studies of pathologic material and milk from cattle with clinical and subclinical signs of respiratory infectious diseases and mastitis are presented. The biological properties of the isolated pathogens and their sensitivity to antibiotics were studied at the Reference Laboratory for Cattle Diseases FGBI «ARRIAH». The studies were carried out according to the plan of research on the topic of «Biological properties of bacteria of the family Pasteurellaceae, isolated in the territory of the Russian Federation». The bacterial isolates and their biological properties were characterized using conventional techniques and some modern methods (bacteriological analyzer Vitek2 Compact, Maldi Tof mass spectrometry and system test Slidex Staph Plus (production bioMerieux, France). Seventy two milk and 75 pathologic material samples were analysed. The pathogenic bacteria of the following families were isolated: Micrococcosaceae (20 isolates), Enterobacteriaceae

(17 isolates), Pseudomonadaceae (13 isolates), Bacillaceae (2 isolates). As a result of the species identification of microorganisms 30% bacteria (out of the total number of mastitis milk isolates) were shown to be *Staphylococcus aureus* and 25% – *Pseudomonas aeruginosa*. From the total number of isolated pathogens 59% were shown to be *E.coli* and 8% – bacteria of the family Pasteurellaceae. All the isolated pathogens demonstrated various resistance within each species to different antibiotics. It should be noted that the most frequently isolated bacteria species *Ps. aeruginosa* and *E.coli* were highly resistant to a wide range of antibiotics, except for drugs of fluoroquinolone group.

**Key words:** cattle, pathogenic bacteria, antimicrobial agents, resistance.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. - М.: Медицина. -1962. - 180с.
2. Копытин В.К., Новиков О.Г. Мастит у

коров. // Ветеринария. -1999. -№ 2. -С. 12-14.

3. Метод. ук. по лабораторной диагностике пастереллезов животных и птиц. - Минсельхоз от 20.08.92.

4. Метод. ук. по ускоренной индикации морганелл, сальмонелл и энтеропатогенных эшерихий с адгезивными антигенами в патологическом материале, кормах, объектах внешней среды в реакции коагулютинации. -Минсельхозпрод РФ от 11.10.99.

5. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

6. Рекомендации по борьбе с маститом коров. -Минсельхоз СССР 01.07.83.

7. <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/rf.html>

8. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011 // J. Scientific Report of EFSA. -2013. -№11(5). -222с.

9. [www.defra.gov.uk](http://www.defra.gov.uk)



## ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

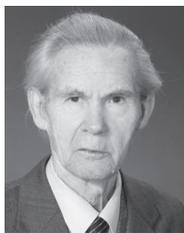
УДК: 616,619.36

### ФАРМАКОКОРРЕКЦИЯ БОЛИ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ

Соколов В.Д.<sup>1</sup> - д.в.н, профессор, каф. фармакологии и токсикологии,  
Фисенков Н.Н.<sup>2</sup> - к.в.н.

<sup>1</sup> Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

<sup>2</sup> Горветуправление СПб



#### РЕФЕРАТ

При травме возникает боль, на которую реагирует не только ЦНС вплоть до болевого шока, но и весь организм, отвечая определенными стрессовыми реакциями, проявляющимися изменениями биохимических и физиологических показателей. В крови уменьшается содержание белка и увеличивается количество лейкоцитов, содержание глюкозы, катехоламинов, ПОЛ, кортикостероидов и других веществ, которые называются “медиаторами” стресса. Подобные стрессовые реак-

ции влияют на течение и заживление раневого процесса и их необходимо и можно уменьшать, так как существует фармакологическая коррекция стрессовых реакций. Воздействовать при этом можно на всем протяжении ноцицептивной системы, хотя эффективнее это достигается на начальном и конечном ее участках. Через день после ранения у собак резко изменяются «стрессовые» показатели. Достоверно увеличивается количество лейкоцитов, лизоцима, щелочной фосфатазы, глюкозы и снижается содержание общего белка, т.е. показателей, характеризующих стрессовую реакцию организма. Эти показатели и на третий день после травмы хотя и нивелируются, но еще не приходят к фоновым показателям. Дополнительное назначение при лечении травмированных собак кетамина, ромпуна и анальгина, а также при использовании присыпки ЗАП (содержит анестетик) снижает болевую реакцию, что проявлялось в менее выраженных показателях «медиаторов» стресса. Одновременно с этим, у животных, которым назначали наркотические и анальгетические средства на 2 – 3 дня быстрее купировался патологический процесс (ускорялось заживление ран). Тоже самое происходило, когда для лечения травмированных животных использовали присыпку ЗАП, обладающую обезболивающим действием (в рецептуре присыпки содержится анестетик анестезин).

**Ключевые слова:** болевой стресс, обезболивающие средства, раны.

### **ВВЕДЕНИЕ**

При травмировании у животных, как и у человека, возникает боль. Механизм возникновения боли связан с раздражением (повреждением) чувствительных нервных окончаний (ноцицепторов) с последующей передачей возбуждения в центральную нервную систему, где оно воспринимается и проявляется в сознании как боль.

Известно, что на боль реагирует не только ЦНС вплоть до болевого шока, но и весь организм, отвечая определенными стрессовыми реакциями, проявляющимися изменениями биохимических и физиологических показателей. Существует и понятие – **болевой стресс** [2,4,6]. При этом в крови увеличивается содержание глюкозы, катехоламинов, ПОЛ, кортикостероидов и других веществ, которые называются «медиаторами» стресса [1,3]. Подобные стрессовые реакции влияют на течение и заживление раневого процесса и их необходимо и можно уменьшать, так как существует фармакологическая коррекция стрессовых реакций [1,8]. При этом, воздействовать можно на всем протяжении ноцицептивной системы, хотя более эффективно это достигается на

начальном и конечном ее участках. Именно поэтому при разработке в НИИВФ «Эврика» препаратов для лечения животных с повреждением тканей в их рецептуру обязательно вводятся обезболивающие компоненты, как например, в заживляющую антисептическую присыпку [10]. Ряд исследователей с этой целью предлагают назначать иммуностимуляторы [2], что также оправдано. Дело в том, что иммуностимуляторы, кроме активации иммунной системы, проявляют и адаптогенное действие, то есть антистрессовое [9]. Определенным обезболивающим эффектом обладают и противовоспалительные средства, особенно высокоактивные, такие, как например, известный гомеопатический препарат траумель и недавно разработанный в СПБИФ Афлогилекс [7]. Кроме того, при лечении травмированных животных полезно помнить, что для боли [5] характерны четыре составляющие компонента, в разной степени представленных в каждом случае.

1. Чувствительность к боли (ноцицепция) результат повреждения ткани (травма, болезненный процесс и др.).

2. Боль, возникающая от поступления импульсов с других периферических рецепторов в ЦНС.

3. Страдание, обусловленное болью и непониманием больным происходящих в его организме процессов.

4. Поведение больного, страдающего от боли. Либо стремление к уединению, либо, напротив, к получению сочувствия.

Почти также на боль реагируют и животные, особенно те, которые долго находятся по соседству с человеком.

В данной серии опытов для снижения болевой реакции у травмированных животных кроме основного лечения дополнительно применили кетамин и анальгин.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Опыты провели на собаках со свежими укушенными и резаными ранами, которым применяли необходимое лечение (хирургическая обработка, назначение антисептиков и мазей, а также заживляющую антисептическую присыпку – ЗАП). Одновременно с этим части животным вводили внутримышечно кетамин в дозе 7 мг/кг или ромпун в дозе 0,2 мл/голову, или подкожно анальгина в дозе 30 мг/кг, в форме 25% -го раствора. У животных дважды (через сутки и через 3 суток) бра-

ли кровь для исследования на содержание лейкоцитов, щелочной фосфатазы, глюкозы, общего белка и процента лизоцима существующими методами. Контролем служили интактные собаки аналогичных пород и возраста. Полученные показатели обработаны статистически.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Исследования показали, что через день после ранения у собак резко изменяются «стрессовые» показатели. Достоверно увеличивается количество лейкоцитов, лизоцима, щелочной фосфатазы, глюкозы и снижается содержание общего белка, т.е. показателей, характеризующих стрессовую реакцию организма (табл.1).

Данные таблицы 1 показывают, что до ранения содержание лейкоцитов в сыворотке крови было  $10,9 \pm 0,2 \times 10^9$ /л, тогда как через сутки после стресса оно составило  $14,9 \pm 0,8 \times 10^9$ /л, а на третьи сутки  $13,7 \pm 0,8 \times 10^9$ /л; активность лизоцима увеличилась с 11,2% до 16,7% через 1 сутки и на 3 сутки составила 13,5%. Содержание щелочной фосфатазы увеличилось в 2 раза (с 31,5 до 75,1 МЕ/л), содержание

Таблица 1

**Биохимические показатели крови у интактных и травмированных животных**

Показатели	Интактные собаки	Через сутки после травмы	Через трое суток после травмы
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	10,9 ± 0,7	14,9 ± 0,8	13,7 ± 0,8
Лизоцим, %	11,2 ± 1,3	16,7 ± 1,4	13,5 ± 1,2
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	31,5 ± 1,5	75,1 ± 3,7	57,4 ± 2,7
Глюкоза ммоль/л	4,9 ± 0,2	7,2 ± 0,3	5,1 ± 0,2
Белок, г/л	72,2 ± 4,1	61,3 ± 3,5	58,4 ± 3,4
Гемоглобин, г/л	141,3 ± 9,5	143,7 ± 8,9	139,7 ± 9,1

Таблица 2

**Биохимические показатели крови у травмированных животных, которым в период лечения назначали кетамин**

Показатели	Через сутки после травмы	Через трое суток после травмы
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	12,9 ± 0,9	10,7 ± 0,7
Лизоцим, %	14,1 ± 1,2	12,3 ± 1,1
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	51,7 ± 3,1	47,3 ± 1,9
Глюкоза, ммоль/л	6,9 ± 0,3	5,2 ± 0,3
Белок, г/л	62,9 ± 3,7	65,3 ± 3,8

Таблица 3

## Влияние обезболивающих средств на заживление экспериментальных ран у белых крыс

Препараты	Показатели (в сутках)				
	Истечение из раны	В том числе гнойные в %	Исчезновение зуда	Появление грануляции	Время заживления
СКТ	1	2	1	3,3±0,2	8,9±0,3
СКТ+кетамин	Первые 2ч	-	Первые 2 ч	2,1±0,1	7,5±0,3
ЗАП	Первые 2ч	-	Первые 2ч	2,3±0,1	7,3±0,2
Контроль	2		2	4,1±0,2	9,8±0,4

глюкозы возросло с  $4,9 \pm 0,2$  ммоль/л до  $7,2 \pm 0,3$  ммоль/л, которое было увеличено и на 3 сутки; одновременно снизилось содержание белка и составило  $61,3 \pm 3,5$  г/л через сутки и  $58,4 \pm 3,4$  на 3 сутки, против  $72,2 \pm 4,1$  г/л у интактных животных.

В тоже время, при назначении животным наркотических или наркозоподобных, а также анальгетических средств, например кетамина, ромпуна или анальгина, указанные показатели болевого стресса были значительно меньшими и быстрее приходили к исходным результатам (табл.2).

Из таблицы 2 видно, что дополнительное назначение при лечении травмированных собак кетамина, снижало болевую реакцию, что проявлялось в менее выраженных показателях «медиаторов» стресса.

Почти аналогичные результаты были получены при дополнительном назначении ромпуна и анальгина, а также при использовании присыпки ЗАП.

Одновременно с этим, у животных, которым назначали наркотические и анальгетические средства на 2 – 3 дня быстрее купировался патологический процесс (ускорялось заживление ран). Тоже самое происходило, когда для лечения травмированных животных использовали присыпку ЗАП, обладающую обезболивающим действием (в рецептуре присыпки содержится анестетик анестезин). Следовательно, снижение болевой

реакции в организме травмированных животных оказывает положительное действие на уменьшение стрессовой реакции организма и процессы регенерации поврежденных тканей.

В таблице 3 приведены данные влияния обезболивающих средств – наркотического средства кетамина и анестетика (входит в состав присыпки ЗАП) на заживление ран у крыс. Для сравнения взята обычная присыпка, состоящая из стрептоцида, ксероформа и талька (СКТ).

Такое позитивное влияние наркотических и анестезирующих веществ на общую реакцию организма при ранении и более быстрое купирование патологического процесса можно объяснить тем, что эти вещества уменьшают, «снимают» травматическую боль (воздействуют, уменьшают раздражение ноцицепторов), которая как раз и вызывает ответную стрессовую реакцию организма.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, уменьшение болевых импульсов, раздражающих болевые центры в головном мозге и вызывающих болевую стрессовую реакцию организма с помощью наркотических или анестезирующих средств, позитивно сказывается на лечении травмированных животных.

### Pain stress and wound healing.

V. Sokolov, N. Fisenkov.

### ABSTRACT

At a trauma there is a pain to which reacts not only TsNS up to painful shock, but

also all organism, answering with the certain stressful reactions, being shown changes of biochemical and physiological indicators. In blood protein content decreases and the quantity of leukocytes, the content of glucose, catecholamines, corticosteroids and other substances which are called as stress "mediators" increases. Similar stressful reactions influence the current and healing of wound process and them it is necessary and it is possible to reduce as there is a pharmacological correction of stressful reactions. Thus, it is possible to influence throughout notsitseptivny system though more effectively it is reached on initial and final its sites. Every other day after wound at dogs "stressful" indicators sharply change. Authentically the quantity of leukocytes, лизоцима increases, alkaline phosphatase, glucose and the content of the general protein, i.e. the indicators characterizing stressful reaction of an organism decreases. These indicators and for the third day after a trauma though are leveled, but don't come yet to background indicators. Additional appointment at treatment of the injured dogs ketaminum, rompunum and analginum, and also when using ZAP powder (contains anesthetic) reduces painful reaction that was shown in less expressed indicators of "mediators" of a stress. At the same time with it, at animals to whom appointed narcotic and analgetichesky means to 2 – 3 days pathological process (healing of wounds was accelerated) was quicker stopped. Too most occurred when for treatment of the injured animals used the ZAP powder possessing anesthetizing action (the compounding of powder contains anesthetic benzocaine).

**Key words:** painful stress, anesthetics, wounds.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Андреева Н.Л. Антистрессовые средства / Фармакология. -М.: Колос. -2013. – С. 376-383.
2. Виденин В.Н. О раневом процессе, воспалении и оперативном стрессе у живот-

ных // Международный вестник ветеринарии. СПб. -2009. -№4. – С. 81-83.

3. Винникова С.В. Стресс, вызванный кратковременной 3-х часовой иммобилизацией у крыс // Международный вестник ветеринарии. -СПб., -2013. -№4. – С. 36-39.

4. Войтенко В.Д., Фисенков Н.Н. Повышение эффективности мазей при лечении животных с гнойными ранами // Международный вестник ветеринарии. -СПб., -2013. -№1. – С. 36-39.

5. Давыдов В.У. Стресс и адаптация в крупных промышленных комплексах // Лекция для студентов вет. институтов. – Л., -1986. –22 с.

6. Лоуренс Д.Р., Бенитт П.Н. Боль // Клиническая фармакология. Перевод с английского. -М. -1993. – С. 6 – 9.

7. Плященко С.И., Сидоров В.Т. Резистентность организма животных при различных типах кормления и условиях содержания // Ветеринария. – 1983. - №2. – С. 22 – 24.

8. Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Соколов В.Д. Изучение противовоспалительной активности нового ветеринарного препарата Афлогилекс на модели экспериментального адьювантного артрита // Международный вестник ветеринарии. -СПб., -2013. -№1. – С.39-43.

9. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Соколов А.В. Фармакологическая коррекция стрессов, иммунодефицитов и продуктивности птиц // Справочник ветеринарного врача птицеводческого предприятия. СПб., -1995. – С. 122 – 132.

10. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Попова О.С. Новый биологически активный препарат Маримикс 5:0 // Международный вестник ветеринарии. -СПб., -2011. -№1. – С. 6-10.

11. Фисенков Н.Н. К вопросу о механизме действия заживляющей антисептической присыпке (ЗАП) // Международный вестник ветеринарии. -СПб., -2011. -№1. – С. 37-40.

## ВЛИЯНИЕ ПРЕМИКСА НА ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАКТИВНОСТЬ ПОРОСЯТ

Скалкина О.А. - ветврач, Андреева Н.Л. – д.б.н., профессор, зав.каф. фармакологии и токсикологии, Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



### РЕФЕРАТ

Целью нашего исследования явилось изучение в условиях хозяйства влияния разработанного нами премикса Янтамет на организм свиней, как активатора защитных сил организма и стимулятора роста и развития для повышения продуктивности и улучшения качества продукции в свиноводстве. Премикс содержит янтарную кислоту, проявляющую массу позитивных фармакологических эффектов, метилурацил – иммуностимулятор и адаптоген и наполнитель. Предварительно в эксперименте было установлено, что премикс Янтамет проявляет иммуностимулирующее, антиоксидантное, антистрессовое, и антимикробное действие. Обладает анаболической активностью, ускоряет процесс клеточной регенерации, особенно эпителиальной ткани. Стимулирует клеточные и гуморальные факторы защиты, действует противовоспалительно, повышает общую устойчивость организма к неблагоприятным факторам. Не угнетает молочно-кислую микрофлору кишечника. Препарат практически не токсичен (4-ый класс опасности). Применение премикса Янтамет в рационе поросят, который обладает иммуностимулирующим, антиоксидантным, антистрессовым, антимикробным действием, вызывает увеличение количества иммуноглобулинов класса М в 2,2 раза, что указывает на усиление первичного иммунного ответа, иммуноглобулинов класса А в 1,3 раза, иммуноглобулинов класса G в 1,4 раза. Это способствует усилению продукции антител и активизации защитных сил организма.

**Ключевые слова:** свиньи, премикс, янтарная кислота, метилурацил, иммуноглобулины класса М, А и G.

### ВВЕДЕНИЕ

Организм животных постоянно подвергается воздействию окружающей среды. Особое место среди факторов внешней среды занимают микроорганизмы и вирусы, являющиеся возбудителями инфекционных заболеваний, иммунодефицита и всевозможные стрессы, облегчающие проникновению возбудителей болезни в организм. Одним из способов профилактики инфекционных болезней является иммунизация и выработка у животных специфического иммунитета путем введения соответствующего антигена (вакцин). Другим, не менее важным способом предупреждения различных заболеваний,

является повышение естественной резистентности организма животных которая противостоит действиям факторов внешней среды, как возбудителям болезни, так и неблагоприятным условиям содержания [7].

Понятие естественной резистентности тесно связано с понятием иммунологической реактивности, которая характеризуется способностью организма отвечать на воздействие факторов внешней среды определенными реакциями. Ответные реакции организма животного на внедрение патогенных микроорганизмов, вирусов и других агентов, а также продуктов их жизнедеятельности называют иммун-

ной реактивностью, [3,4,5,6], К сожалению, как отмечает [9], иммунодефициты и стресс практически стали неотъемлемой частью нашего животноводства.

Организм способен реагировать на поступление чужеродных антигенов синтезом белков, обладающих специфическим средством с антигеном, вызвавшим этот синтез. Эти иммуноглобулины синтезируются в В - лимфоцитах. Итоговой фазой В-клеточного иммунитета является продукция Ig-антител, которая происходит постоянно. Основными классами иммуноглобулинов в крови животных являются: IgA, IgM, IgG. Именно от них зависит устойчивость организма к чужеродным антигенам.

Другим направлением в борьбе с инфекционными заболеваниями и стрессами является повышение иммунитета путем нормализации кормления животных и содержания животных с добавлением различных биологически активных веществ (БАВ), назначаемых в виде премиксов [1,2,8].

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Целью нашего исследования явилось изучение влияния разработанного нами премикса Янтамет на организм поросят, как активатора защитных сил организма и стимулятора роста и развития для повышения продуктивности и улучшения качества продукции в свиноводстве. Премикс содержит янтарную кислоту, проявляющую массу позитивных фармакологических эффектов, метилурацил – иммуностимулятор и адаптоген и наполнитель. Предварительно в эксперименте было установлено, что премикс Янтамет проявляет иммуностимулирующее, антиоксидантное, антистрессовое, и антимикробное действие. Обладает анаболической активностью, ускоряет процесс клеточной регенерации, особенно эпителиальной ткани. Стимулирует клеточные и гуморальные факторы защиты, действует противовоспалительно, повышает общую

Таблица 1  
Влияние премикса на количество иммуноглобулинов в крови поросят

Показатель	Группа животных	
	Опыт (n=15)	Контроль (n=10)
IgA, г/л	5,5 ± 0,5*	4,2 ± 0,5
IgM, г/л	0,05 ± 0,01*	0,02 ± 0,01
IgG <sup>1</sup> , г/л	29,4 ± 1,1*	25,0 ± 0,6
IgG <sup>2</sup> , г/л	3,3 ± 0,3*	2,3 ± 0,2

Примечание: \* - статистически достоверно по сравнению с контролем (P < 0,05).

устойчивость организма к неблагоприятным факторам. Не угнетает молочнокислую микрофлору кишечника. Препарат практически не токсичен (4-ый класс опасности). Это очень важно при групповом способе применения, поскольку от этого зависит ростостимулирующий эффект препарата. Опыт проводили в АОЗТ «Совхоз Октябрьский» Ленинградской области Волосовского района. В опыте использована опытная и контрольная группы поросят-отъемышей по 25 голов в каждой группе трехпородного гибрида (крупная белая, ландрас, дюрок). В группы животных подбирали по принципу аналогов, подопытным свиньям в течение 30 дней вводили в основной рацион премикс, состоящий в дозе по 200 г на группу свиней в сутки. Контрольной группе свиней премикс не добавляли. Учитывали общее состояние организма животных, прирост живой массы и количество иммуноглобулинов в крови. Кровь брали до начала введения и через 30 суток после начала применения премикса. Иммуноглобулины определяли цинк-сульфатным методом (М.А. Костина, 1983).

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

За время эксперимента в контрольной группе животных 7 поросят (28%) заболели бронхопневмонией, в подопытной

группе в легкой форме заболели 2 поросят (8%).

При определении иммуноглобулинов выяснили, что Янтамет заметно активировал иммунную систему животных. Полученные данные представлены в таблице 1.

Из данных таблицы видно, что под действием этого премикса усилился гуморальный, иммунный ответ, что проявилось в увеличении иммуноглобулинов в крови животных подопытной группы.

Наиболее заметное увеличение (в 2,2 раза) иммуноглобулинов класса М указывает на усиление первичного иммунного ответа, так как после контакта с антигеном синтезируется преимущественно IgM, а затем IgG, которые вызывают усиление продукции антител и ускоряют развитие иммунной реакции.

Увеличение иммуноглобулинов класса А (в 1,3 раза) указывает на влияние данного премикса на защиту слизистых эпителиальных покровов, так как входящий в IgA секреторный компонент обеспечивает защиту именно слизистых покровов. Это особенно важно для крупных свиноводческих хозяйств, где содержится большое количество животных и высока вероятность заражения вирусными и бактериальными агентами. Иммуноглобулины класса G играют основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях, вызывая гибель возбудителя с участием комплемента, и опсонизируя фагоцитарные клетки. Они способны нейтрализовать бактериальные экзотоксины, а, проникая через плаценту, формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных. При использовании премикса содержание иммуноглобулинов класса G увеличилось в 1,4 раза. Этим и объясняется устойчивость животных подопытной группы к респираторным болезням. В контрольной группе заболело бронхопневмонией 28% животных, тогда как в подопытной всего 8%. Одновременно с этим прирост живой

массы животных в подопытной группе был на 7% больше, чем в контрольной группе.

Таким образом, применение премикса Янтамет в рационе свиней, который обладает иммуностимулирующим, антиоксидантным, антистрессовым, антимикробным действием, вызывает увеличение количества иммуноглобулинов класса М в 2,2 раза, что указывает на усиление первичного иммунного ответа, иммуноглобулинов класса А в 1,3 раза, иммуноглобулинов класса G в 1,4 раза. Это способствует усилению продукции антител и ускоряет развитие иммунной реакции, тем самым, повышает общую устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней среды. Следовательно, премикс Янтамет повышает защитные силы организма свиней, что проявляется в увеличении в крови подопытных животных всех изучаемых иммуноглобулинов, более высокой устойчивостью к респираторным болезням и увеличением прироста живой массы. Данный премикс может быть использован для усиления гуморального иммунитета у свиней, содержащихся в крупных комплексах, которые обычно подвержены различным болезням.

**Primex influence on the immune status of piglets.**

**O. Skalkina, N. Andreeva.**

#### **ABSTRACT**

The aim of our study was to investigate the influence of the economy in terms of the developed world on the body premix Yan-tamet pigs as an activator of host defenses and stimulator of growth and development to increase productivity and improve product quality in pig . Premix contains succinic acid, exhibiting a lot of positive pharmacological effects methyluracil - immunostimulant and adaptogenic and filler. Pre- experiment , it was found that the premix Yan-tamet exhibits immunostimulant , antioxidant, anti-stress and anti-microbial action. Has anabolic activity , accelerates the proc-

ess of cell regeneration , especially of epithelial tissue . Stimulates cellular and humoral factors protection , anti-inflammatory effect , increases the overall resistance to adverse factors. Not inhibit lactic acid intestinal microflora. The drug is practically non-toxic ( 4th class of danger) . Application Yantamet premix in the diet of pigs , which has immunity, antioxidant, anti-stress , anti-microbial effect , causes an increase in the amount of immunoglobulin M 2.2 times , indicating that the strengthening of primary immune response , immunoglobulin A 1.3-fold of immunoglobulin G 1.4 times . It enhances the production of antibodies and activation of the body's defenses .

**Key words:** pigs , premix , succinic acid, metiluratsil class immunoglobulins M, A and G.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Андреева Н.Л. Альтернатива антибиотикам // Международный вестник ветеринарии. – 2009. - № 2. – С. 10-13.
2. Андреева Н.Л., Соколов В.Д. К вопросу о терминологии использования биологически активных веществ в ветеринарии // Международный вестник ветеринарии. - 2010. – №4. – С.25-30.
3. Карпуть И.М. Иммунная реактивность свиней // Минск. -1981. -143 с.
4. Крысенко Ю.Г., Трошин Е.И., Меньшиков А.В. Иммунобиохимические показатели крови поросят после вакцинации против цирковиральной инфекции // Международный вестник ветеринарии. -2010. -№2. -С. 6-8.
5. Крячко О.В., Лютинский С.И. Применение тимогена для терапии неспецифической бронхопневмонии поросят // СПб-В. Луки. -2002.
6. Крячко О.В., Лютинский С.И. Системный анализ иммунобиологических показателей у поросят при острой неспецифической бронхопневмонии // В. Луки - СПб. – Воронеж. -1999. -27 с.
7. Плященко С.И., Сидоров В.Г. Естественная резистентность организма живот-

ных // Л: Колос. -1979. -184 с.

8. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Попова О.С. Новый биологически активный препарат маримикс 5:0 // Международный вестник ветеринарии. – 2011. - № 1. – С. 6-10.

9. Соколов В.Д. Необходимость постоянной фармакокоррекции стрессов и иммунодефицитных состояний у животных // Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки: Экспресс-информ. СПб., - 2001. -№9. -С.3-4.



## НИЗКОПЕНТОЗАНОВОЕ ЗЕРНО РЖИ – ЦЕННЫЙ КОНЦЕНТРИРОВАННЫЙ КОРМ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Лунегова И.В. – к.в.н., доцент кафедры кормления животных<sup>1</sup>,  
Кобылянский В.Д. – д.б.н., профессор<sup>2</sup>, Солодухина О.В. – д.б.н.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины,  
<sup>2</sup> Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. Санкт-Петербург



### РЕФЕРАТ

Впервые проведены исследования по изучению кормовой ценности зерна новой зернофуражной ржи в рационах лабораторных животных. Данная рожь характеризуется низким, как и у пшеницы, генетически обусловленным содержанием водорастворимых фракций пентозанов.

Низкое содержание пентозанов в зерне не приводит к образованию слизи в желудке животных, чем снимает проблему, существующую при кормлении классической хлебопекарной рожью. Результаты представлены в сравнительном аспекте с основными зернофуражными культурами (пшеница, ячмень, овес). В течение всего экспериментального периода зернофуражная рожь охотно поедалась лабораторными животными. При сравнении кормовой ценности ее зерна с другими видами злаков, наблюдали увеличение прироста массы тела крыс на 12%, по сравнению с ячменем и на 27%, по сравнению с пшеницей. Включение новой зернофуражной ржи в рацион кроликов увеличило их прирост массы тела на 47% по сравнению с ячменем и на 53% - по сравнению с овсом. Впервые созданная, не имеющая мировых аналогов, зернофуражная рожь характеризуется высокой кормовой ценностью и по этому показателю равна или превышает другие злаковые культуры.

**Ключевые слова:** низкопентозановая рожь, пшеница, ячмень, овес, крысы, кролики.

### ВВЕДЕНИЕ

Зерно ржи, выращиваемых в настоящее время сортов, используется, преимущественно, для производства хлеба и служит сырьем для крахмалопаточной и спиртоводочной промышленности. Современные сорта ржи превосходят пшеницу, ячмень и кукурузу по питательной и биологической ценности, характеризуются хорошей сбалансированностью аминокислотного состава белков. Питательная ценность белка ржи соответствует белку коровьего молока на 83%, а пшени-

цы – на 41%. Однако, использование зерна ржи на корм животным, особенно с однокамерным желудком (свиньям, птицам), ограничено присутствием в составе его некрахмальных полисахаридов, водорастворимых пентозанов (арабинозы и ксилозы), которых в зерне ржи в 2-3 раза больше, чем в полисахаридах других злаках.

Арабиноксиланы обладают высокой водопоглощательной способностью, в результате чего образуют гели (слизи) в желудке животного. При высокой кон-

центрации водорастворимых пентозанов образовавшаяся слизь, обволакивая корм, блокирует доступ пищеварительных ферментов к белкам, жирам и крахмалу зерна. Наряду с этим слизь, покрывая стенки кишечника, ограничивает всасывание и усвоение продуктов пищеварения [8,9]. Пентозаны не гидролизуются дрожжами, не перевариваются ферментами человека и животных и, следовательно, проходят через весь желудочно-кишечный тракт без изменений [2,5].

Другие сахара и некрахмальные полисахариды гидролизуются и перевариваются в желудке животных, не создавая проблем в пищеварении и усвоении питательных веществ.

Использование зерна обыкновенной хлебопекарной ржи на корм животным (свиньям, курам, индейкам, мелкому и крупному рогатому скоту) в странах ЕЭС достигает 50% от всего валового сбора зерна. Это стало возможным за счет добавления в кормовые рационы специальных ферментов, расщепляющих пентозаны [8] и других БАВ, стимулирующих рост и развитие животных [1].

В России, без использования специальных добавок, применение зерна хлебопекарной ржи в комбикормовой промышленности не превышает 5-11% от валового сбора урожая [5]. Добавление ржи в комбикорма для крупного рогатого скота и свиней не превышает 20%, взрослой птицы – 7% и молодняка птицы – 5%. Для увеличения эффективности использования комбикормов с высоким содержанием ржи разработаны приемы химической и физической обработки зерна, а также различные ферментные добавки. Эти разработки позволяют увеличить ввод ржаного зерна в комбикорма до 50% [3].

Наиболее эффективным способом улучшения сортовых популяций являются генетико-селекционные методы получения генотипов растений с нужным признаком. Проблема создания зернофураж-

ной ржи в настоящее время решена в результате реализации конкурсного Проекта 2004-2011 гг. «Разработать технологию селекции и создать популяционные сорта озимой ржи, пригодные для хлебопекарной, комбикормовой и перерабатывающей промышленности» в ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР) [2].

Созданная зернофуражная низкопентозановая рожь по содержанию водорастворимых арабиноксиланов в зерне (0,5-1%) равна пшенице, которая широко и бесппроблемно используется в кормлении животных и птицы. При низком содержании пентозанов в зерне ржи в желудочно-кишечном тракте животных не образуются слизи, снижающие её кормовую ценность.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В течение 2012-2013 гг. были проведены экспериментальные исследования по включению низкопентозановой ржи в кормление лабораторным животным.

С этой целью в условиях вивария ФГБОУ ВПО СПбГАВМ на начальном этапе были сформированы 2 группы молодых беспородных крыс со средней массой тела 101,21 г по 5 голов в каждой группе. Крысы 1-й подопытной группы скормливали хлебную рожь в количестве 20 г/гол.сут., крысам 2-й подопытной группы низкопентозановую рожь в тех же количествах, в течение 21 дня эксперимента, затем увеличили до 30 г/гол/сут.

В дальнейшем нами были проведены исследования по сравнению кормовой ценности низкопентозановой ржи в сравнении с другими злаковыми культурами. Для этой цели были сформированы 3 группы белых беспородных крыс со средней массой тела 49 г в месячном возрасте, по 5 голов в каждой группе. Крысам 1-й подопытной группы скормливали низкопентозановую рожь в первую неделю эксперимента 15 г/гол/сут., во вторую неделю эксперимента - 30 г/гол/сут., в третью и четвертую недели эксперимента - по 45

г/гол/сут. Крысам 2-й подопытной группы в тех же количествах скармливали ячмень, 3-й подопытной группе - пшеницу.

Последующие испытания проводили на 20 кроликах породы серый великан в возрасте 45 дней, со средней массой тела 673 г, которые были разделены на 4 группы по 5 голов в каждой. Кроликам 1-й подопытной группы скармливали рожь низкопентозановую, 2-й подопытной группе пшеницу, 3-й подопытной группе ячмень, 4-й подопытной группе овес. Зерновые корма скармливали из расчета 30 г/гол/сут. в течение первых 2-х недель эксперимента, а затем увеличили до 50 г/гол/сут. до конца эксперимента. Сено скармливали вволю, в качестве минеральных добавок использовали трикальцийфосфат 1,5 г/гол/сут. и поваренную соль 1,0 г/гол/сут. Продолжительность эксперимента составила 8 недель.

Кормовую ценность низкопентозановой ржи в рационе лабораторных животных изучали по следующим показателям: поедаемость и еженедельные приросты массы тела в сравнении с другими зерновыми культурами.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Создание первых, не имеющих мировых аналогов сортов ржи зернофуражного использования, обусловило необходимость изучения уровня пригодности низкопентозанового зерна в кормлении животных.

Первые опыты проведены на лабораторных животных в 2012-2013 гг. сотрудниками кафедры кормления животных СПбГАВМ совместно с сотрудниками ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова.

*Изучение кормовой ценности низкопентозановой и хлебной ржи в рационах крыс.*

В результате эксперимента мы наблюдали за достоверными изменениями массы тела крыс при поедании ими разных

сортов ржи. В первые дни эксперимента у крыс, получавших хлебную рожь мы отмечали повышенную жажду и снижение потребления корма, по сравнению с крысами, получавшими низкопентозановую рожь, что отразилось на изменении массы тела лабораторных животных за весь подопытный период.

Как видно из результатов таблицы новый сорт зернофуражной ржи не оказывает отрицательного влияние на рост и развитие организма крыс, в отличие от хлебопекарной ржи, которая содержит «антипитательные» вещества, негативно влияющие на организм подопытных животных.

*Изучение кормовой ценности низкопентозановой ржи в сравнении с пшеницей и ячменем в рационе крыс*

В ходе эксперимента нами были выявлены различия в поедаемости животными зерна разных злаков. При норме 15 и 30 г/гол/сут. все зерно полностью поедалось во всех подопытных группах (табл. 2).

В течение третьей недели, когда суточную норму корма увеличили до 45 г на особь, количество не съеденного зерна ржи и пшеницы было одинаково и составило 1,4 г, а зерна ячменя – 5 г. В течение четвертой недели зерно ржи поедалось охотнее по сравнению с пшеницей и ячменем.

Результаты анализа кормления крыс цельным зерном с большой убедительностью показали превосходство в поедаемости зернофуражной ржи над пшеницей и ячменем (рис. 1).

Отмечена общая закономерность сходной реакции крыс на кормление зерном разных видов, которая заключается в максимальной величине привеса в начале периода кормления и в его постепенном снижении к концу этого периода. За первую неделю привес составил: при кормлении зерном ржи -10,82 г (22,82%), ячменя – 10,79 г (19,92%), пшеницы – 5,97 г (12,67%). В четвертую неделю привес

Таблица 1

Изменение массы тела крыс за период эксперимента

Недели эксперимента	Хлебная рожь			Рожь зернофуражная (низкопентозановая)		
	средняя масса тела крысы, г	средний привес массы крысы, г	Суммарный привес массы крысы, г	средняя масса тела крысы, г	средний привес массы крысы, г	суммарный привес массы крысы, г
1	103,5±3,0	-	-	98,9±2,0	-	-
2	96,8±2,4	-6,7±0,9	-6,7±0,9	106,3±1,4*	7,4±1,1	7,4±1,1
3	101,9±2,5	5,1±0,2	-1,6±0,7	111,7±1,0*	5,5±0,7	12,8±1,8
4	113,6±2,3	11,7±0,4	10,1±0,5	125,7±1,1*	14,0±1,6	26,7±3,2
5	118,6±2,3	5,1±0,1	15,1±0,8	139,9±1,1*	14,2±1,6	41,0±3,7

Примечание: \*P>0,001

Таблица 2

Поедаемость крысами зерна разных видов злаков

Недели	Рожь зернофуражная		Пшеница		Ячмень	
	суточная норма зерна, г	количество несъеденного зерна, г	суточная норма зерна, г	количество несъеденного зерна, г	суточная норма зерна, г	количество несъеденного зерна, г
1	15	0	15	0	15	0
2	30	0	30	0	30	0
3	45	1,4	45	1,4	45	5,0
4	45	1,4	45	2,4	45	5,0

массы крыс снизился при кормлении рожью до 5,56 г (7,67%), ячменем – 5,12 (6,61%), пшеницей – 2,83 (4,56%).

На протяжении всего экспериментального периода наибольшие показатели еженедельного прироста массы тела крыс наблюдали в опыте, в котором кормовым рационом служило зерно ржи, второе место заняло зерно ячменя, третье – зерно пшеницы.

Окончательной сопоставимой оценкой кормовой ценности зерна разных видов являются результаты опыта, показывающие динамику прироста массы крыс при непрерывном кормлении. При поедании одинакового количества корма, различающегося по питательной ценности, выявлен постепенный ровный прирост массы тела крыс. В результате кормления зер-

ном ржи прирост крыс начался с 22,82% уже после первой недели эксперимента и достиг своего максимального значения (64,53%) после 4-х недель кормления; второе место по этим показателям заняло зерно ячменя - 19,92% и 52,34%, соответственно; третье место досталось зерну пшеницы - 12,67% и 37,63% (рис. 2).

Результаты опыта показали не только высокую кормовую ценность и пригодность зерна зернофуражной ржи, но и его превосходство по кормовым качествам над зерном пшеницы и ячменя, являющимся основным компонентом рационов лабораторных животных. Не исключено, что в дальнейшем при составлении новых рационов и комбикормов зернофуражная рожь может заменить пшеницу и ячмень.

*Изучение кормовой ценности зерна*

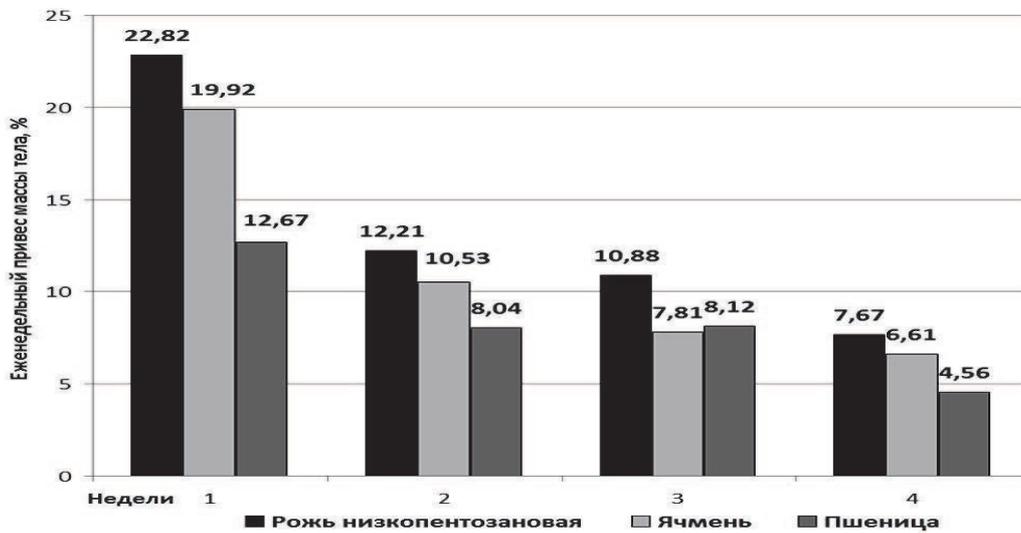


Рис. 1. Ежедневный прирост массы тела крыс при кормлении разным видом зерна, %

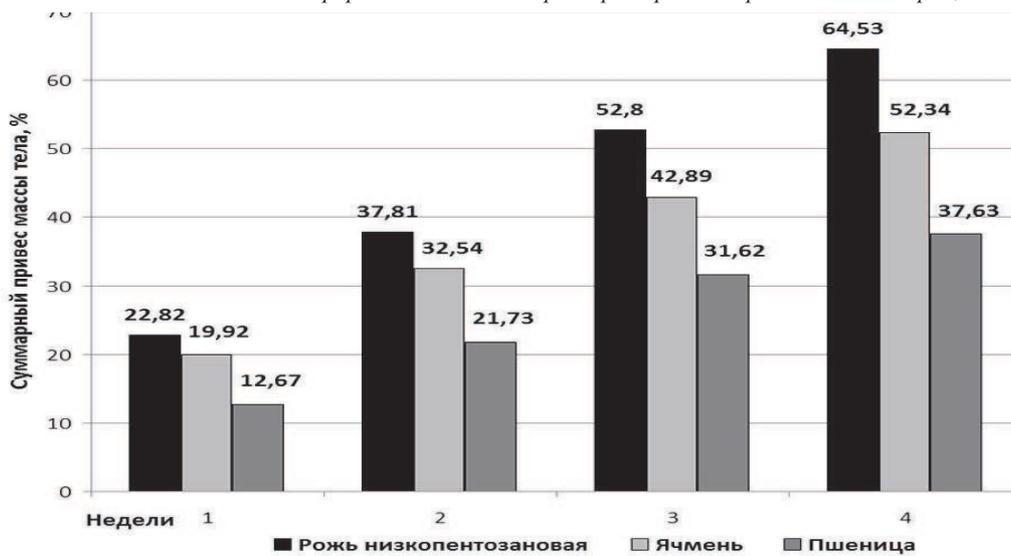


Рис. 2. Суммарный прирост массы тела крыс при кормлении разным видом зерна, % к начальной массе тела.

ржи зернофуражной в сравнении с пшеницей, ячменем и овсом в рационах кроликов

В настоящем эксперименте, в отличие от предыдущего, зерно подвергали дроблению для лучшей усвояемости и скармливали как дополнение к сену.

Максимальный еженедельный при-

рост массы тела кролика наблюдали в первую и вторую недели опыта в 1-ой подопытной группе -113,2 г (16,84%) и 81,4 г (10,36%), которые получали рожь и во 2-ой подопытной группе - 117 г (19,79%) и 92,5 г (13,54%), соответственно, которым скармливали пшеницу. Но следует отметить, что еженедельные при-

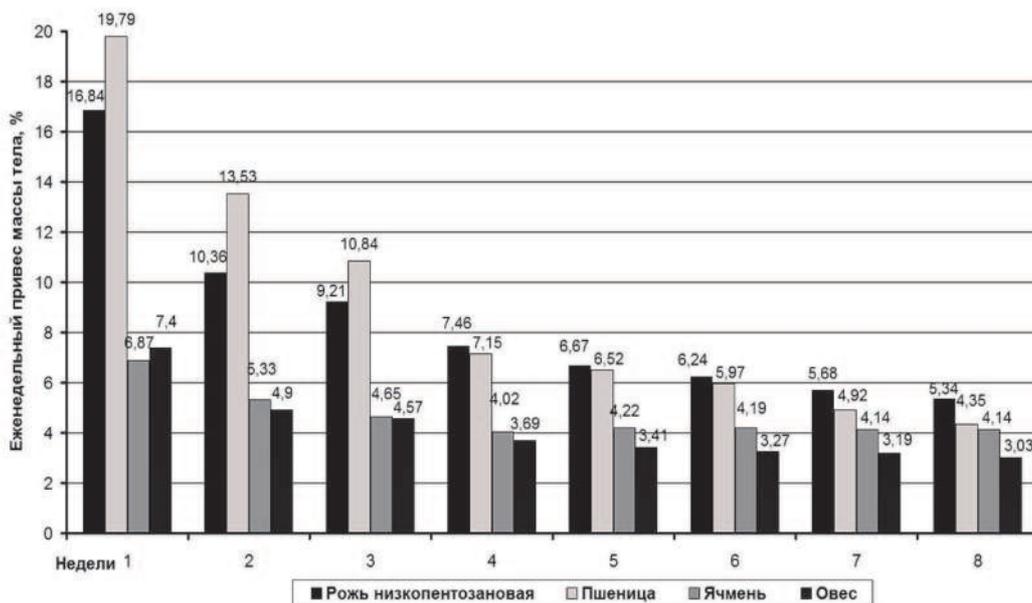


Рис. 3. Ежедневный прирост массы тела кроликов при кормлении разными видами кормов, %

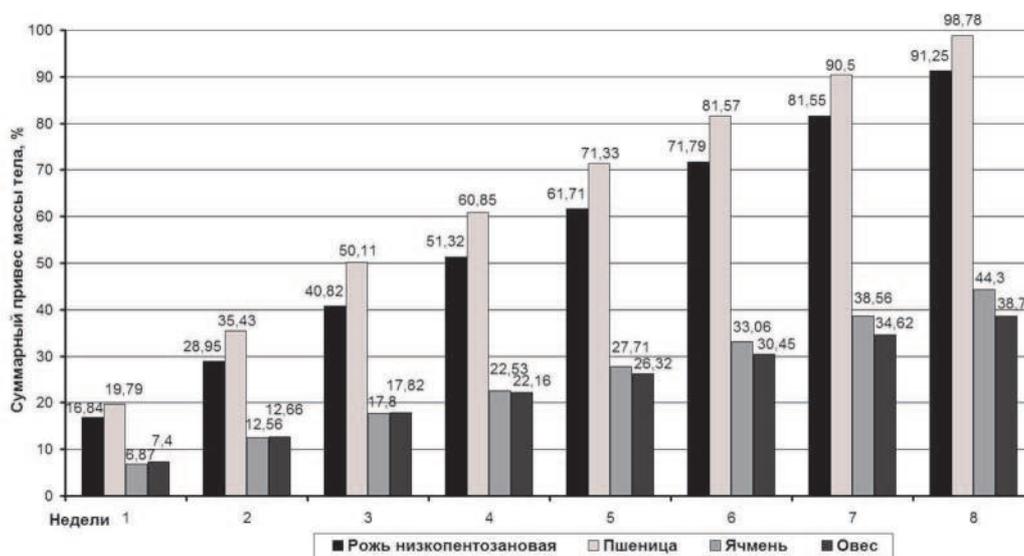


Рис. 4. Суммарный прирост массы тела кроликов при кормлении разными видами кормов, % к начальной массе тела

росты массы тела кроликов, получавших пшеницу, были выше на 2,95% в первую неделю эксперимента и на 3,18% во вторую неделю эксперимента (рис.3). Это

можно объяснить наименьшей массой тела кроликов в этой группе на начальном этапе эксперимента.

В течение третьей недели превосход-

ство пшеницы над рожью было не высоким, а начиная с четвертой недели и до конца эксперимента зерно ржи по кормовой ценности несколько превосходило пшеницу. Согласно полученным результатам можно сказать, что зерно зернофуражной ржи и пшеницы близки по кормовой ценности и вполне могут быть использованы в рационе кроликов, как взаимозаменяемые корма.

Использование зерна ячменя и овса в кормлении кроликов в первую неделю эксперимента дало в 2-3 раза меньший прирост массы тела кроликов, чем при скармливании пшеницы и ржи и составило на овсе 7,4%, ячмене 6,8%. Со второй недели и до конца эксперимента еженедельные приросты массы тела в 3-ей подопытной группе, были выше на 2-4% по сравнению с приростом кроликов 4-ой подопытной группы.

Не стандартные результаты по еженедельным приростам массы тела кроликов, получавших зерно ржи и пшеницы в первые недели опыта оказали отрицательное влияние на динамику суммарного привеса за весь период кормления (рис. 4).

В целом, показатели суммарного динамического прироста животных соответствовали четко выраженной положительной тенденции последовательного увеличения веса кроликов в течение всего периода кормления при введении зерна всех изученных видов злаков в рационы. Проведенные исследования показали, что в рационе кроликов зерно ржи по кормовой эффективности близко к зерну пшеницы.

Скармливание зерна ржи в составе рациона кроликов в течение 56 дней эксперимента привело к увеличению массы тела на 91,25%, пшеницей – на 98,78%, что в 2-2,5 раза выше, чем ячменя (44,30%) и овса (38,70%).

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Впервые проведены исследования по изучению кормовой ценности зерна новой зернофуражной ржи не имеющей ми-

ровых аналогов, на лабораторных животных. Данная рожь характеризуется низким, как и у пшеницы, генетически обусловленным содержанием водорастворимых фракций пентозанов. Низкое содержание пентозанов в зерне не приводит к образованию слизи в желудке животных, чем снимает проблему, существующую при кормлении классической хлебопекарной рожью.

В течение всего экспериментального периода зернофуражная рожь охотно поедалась лабораторными животными. При сравнении кормовой ценности ее зерна с другими видами злаков, наблюдали увеличение прироста массы тела крыс на 12%, по сравнению с ячменем и на 27%, по сравнению с пшеницей.

Введение новой зернофуражной ржи в рацион кроликов увеличило их прирост массы тела на 47% по сравнению с ячменем и на 53% - по сравнению с овсом.

В заключении хотелось бы отметить, что впервые созданная, не имеющая мировых аналогов, зернофуражная рожь характеризуется высокой кормовой ценностью и по этому показателю равна или превышает другие злаковые культуры. Зерно новой зернофуражной ржи в дальнейшем после проведения ряда экспериментов можно будет использовать для кормления всех видов животных, в том числе с однокамерным желудком.

**Rye with low pentose - valuable concentrated feed for animal.**

**I. Lunegova, V. Kobylanskii, O. Soloduhina.**

#### **ABSTRACT**

For the first time conducted the study on the food value of grain of the new relayed rye in the diets of laboratory animals. This rye low as wheat, a genetically caused by the content of water-soluble fractions pentosans. Low content pentosans in the grain does not lead to the formation of broccoli in the stomach of animals than eliminates the problem that exists when feeding classic baking rye.

When comparing the nutritional value of its grains of other cereals, observed the increase of body weight of rats by 12%, compared with barley and 27%, compared with the wheat.

The inclusion of the new relayed rye in the diet of rabbits increased their weight gain by 47% compared with barley and 53% - in comparison with oats.

**Key words:** nizkorentabelnoj rye, wheat, barley, oats, baking rye, rats, rabbits.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л., Соколов В.Д.К вопросу о терминологии использования биологически активных веществ в ветеринарии // Международный вестник ветеринарии. 2010. - № 4. - С. 25-30.
2. Кобылянский В.Д., Солодухина О.В. Теоретические основы селекции зернофуражной ржи с низким содержанием водорастворимых пентозанов. // Сельскохозяйственная биология. -2013. -№2. -С. 31-39.
3. Косолапов В.М., Фицев А.И., Зверкова З.Н. Рожь в кормлении животных. // В кн.: Озимая рожь: селекция, семеноводство, технологии и переработка. -Уфа. -

2009. -С. 154-157.

4. Озимая рожь. Возделывание, использование на пищевые, кормовые и технические цели. Проблемы и решения. - М.: ФГНУ «Росинформагротех». -2007. -172 с.

5. Плешков Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений. -М. -1965. -447с.

6. Симмонд Д.Х., Кембелл У.П. Морфология и химия зерна ржи // В кн.: Рожь: производство, химия и технология. -М.: Колос. -1980. -С. 90-153.

7. Соловьева В.Ф. Содержание ингибиторов трипсина в семенах и продуктах переработки зернобобовых // Проблемы харчування №1. -Київ. -2003. -С. 34-37.

8. Boros D. Quality aspects of rye for feed purposes. // Vortr. Pflanzenzücht. -2007. -Vol.71. -P. 80-85.

9. Cyran M., Rakowska M., Wasilewko J., Buraczewska L. Degradation of dietary fiber polysaccharides of rye in the intestinal tract of growing pigs used as a model animal for studying digestion in humans. // J. Anim. Feed Sci. -1995. -№ 4. -P. 217-227.

10. Hulse J.H., Laing E.M. Nutritive value of triticale protein // Int. Develop. Res. Cent.: Ottawa, Canada. -1974. -P. 96.

УДК: 614.48:631.862:636.03

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «БИОЦИДИН»

Шкромада О.И. - к.в.н., доцент кафедры терапии,  
Сумский национальный аграрный университет



#### РЕФЕРАТ

В статье приведены данные по исследованию бактерицидного действия комплексного дезинфектанта «Биоцидин». В результате проведенных исследований было установлено, что бактерицидное действие комплексного дезинфектанта «Биоцидин» сильнее бактерицидного действия карболовой кислоты. Начальная концентрация раствора 1 : 50 с прогрессивным уменьшением действующего вещества в каждом последующем разведении. Одновременно готовили бульонную культуру *E. coli*, *S. aureus*, и *P. aeruginosa*. Для приготовления бульонной культуры в колбу наливали 25 см<sup>3</sup> бульона и вносили в него 0,25 см<sup>3</sup> суточной бульонной культуры микроорганизмов. Через сутки бульонную культуру фильтровали через стерильный ватно-марлевый или бумажный

фильтр. В колбы вносили по 0,5 см<sup>3</sup> суточной культуры испытуемых микроорганизмов. После 10-ти и 30-минутной выдержки брали пробы и проводили повторный посев на бульон. После этого колбы с бульоном ставили в термостат при температуре 37°C. Первый раз посева пересматривали через 10 часов, а окончательно – через 6-7 дней. Фенольный коэффициент при экспозиции 10 и 30 мин. составлял соответственно для кишечной палочки 122,9 и 109,6; стафилококка 106,0 и 78,4 и синегнойной палочки – 76,1 и 157,4. Действие дезинфектанта «Биоцидин» в присутствии белка снижается при экспозиции 10 и 30 мин. соответственно для кишечной палочки 2,2 и 2,8; стафилококка 2,53 и 2,8 и синегнойной палочки – 2,6 и 2,78.

**Ключевые слова:** фенольный коэффициент, бактерицидное разведение, культура микроорганизмов, белковый индекс.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В мероприятиях, обеспечивающих благополучие животноводства по заразным болезням, повышение продуктивности животных и санитарного качества продуктов, сырья и кормов животного происхождения, дезинфекция занимает одно из самых важных мест.

Дезинфекция - это уничтожение на объектах внешней среды, или удаление из них патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Объекты дезинфекции в сельском хозяйстве - территория ферм, все находящиеся на ней животноводческие, вспомогательные и бытовые помещения, оборудование, транспортные средства, используемые для перевозки животных, кормов, сырья и продуктов животного происхождения, инвентарь и предметы ухода за животными, одежда и обувь обслуживающего персонала, навоз и другие объекты, с которыми прямо или косвенно могут контактировать животные или обслуживающий персонал и которые могут быть фактором передачи возбудителей болезней [4].

Перспективным направлением создания новых и усовершенствования существующих средств есть разработка многокомпонентных препаратов, в состав которых входит несколько компонентов из разных классов химических соединений, которые взаимодополняют друг друга относительно спектра противомикробной активности и способности предотвращать

распространению стойких к ним микроорганизмам. Многопрофильная обработка животноводческих помещений такими дезинфектантами будет благоприятствовать значительному повышению эффективности использования предложенного препарата соответственно ветеринарно-санитарным требованиям [1, 3].

Заданием исследования было определение бактерицидного разведения, фенольного коэффициента и белкового индекса препарата «Биоцидин».

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Определение бактерицидного разведения, определение фенольного коэффициента и белкового индекса проводили согласно действующих методик [2].

Для определения бактерицидного разведения готовили исследуемый раствор. Начальная концентрация раствора 1 : 50 с прогрессивным уменьшением действующего вещества в каждом последующем разведении. Готовили серию растворов с шагом разведения 10.

Одновременно готовили бульонную культуру *E. coli*, *S. aureus*, и *P. aeruginosa*. Для приготовления бульонной культуры в колбу наливали 25 см<sup>3</sup> бульона и вносили в него 0,25 см<sup>3</sup> суточной бульонной культуры микроорганизмов. Через сутки бульонную культуру фильтровали через стерильный ватно-марлевый или бумажный фильтр.

В колбы вносили по 0,5 см<sup>3</sup> суточной культуры испытуемых микроорганизмов.

После 10-минутной выдержки из колб платиновой петлей брали пробы и переносили в пробирки с бульоном. Указанные виды работ проводили с соблюдением условий стерильности. Через 30 минут, выдерживая тот же интервал, снова брали пробы и проводили повторный посев на бульон. После этого колбы с бульоном ставили в термостат при температуре 37°C. Первый раз посевы пересматривали через 10 часов, а окончательно – через 6-7 дней.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Фенольный коэффициент выражает отношение концентрации растворов исследуемого вещества к концентрации фенола, что вызывают в равные промежутки времени при одинаковой температуре равнозначный дезинфицирующий эффект. Для исследования брали чистую кристаллическую карболовую кислоту без примесей воды. Методика определе-

ния фенольного коэффициента такая же, как и при определении бактерицидного разведения. Для получения достоверных результатов опыт повторяли 5 раз и рассчитывали значение среднего бактерицидного разведения фенола и исследуемого дезинфектанта «Биоцидин» отдельно при 10 и 30 минутной экспозиции.

Среднее число бактерицидного разведения (БР) дезинфектанта «Биоцидин» делили на среднее число бактерицидного разведения фенола. Полученные результаты при делении и есть фенольный коэффициент дезинфектанта «Биоцидин», которые показывают, во сколько раз этот препарат сильнее или слабее фенола. Полученные данные приведены в таблице 1.

При сравнительном анализе бактерицидной активности препарата «Биоцидин» и фенола было установлено, что исследуемый препарат был более эффективным чем карболовая кислота. Фенольный

Таблица 1  
Определение фенольного коэффициента дезинфектанта «Биоцидин», n=5

Культуры	Экспозиция, мин	«Биоцидин»	Фенол		Средний фенольный коэффициент
		БР	БР	фенольный коэффициент	
S. aureus	10	1: 10395,0	1:98	106,0	92,59
	30	1: 29560,0	1:376,8	78,4	
E. coli O2	10	1: 12052,2	1:98	122,9	116,25
	30	1: 21150,0	1:192,9	109,6	
P. aeruginosa	10	1:10429,0	1: 137	76,1	116,7
	30	1:30231,9	1: 192	157,4	

Примечание: БР – бактерицидное разведение.

Таблица 2  
Определение белкового индекса дезинфектанта «Биоцидин», n=5

Культуры	Экспозиция, мин.	«Биоцидин»	С белковой нагрузкой		Средний белковый индекс
		БР	БР	Белковый индекс	
S. aureus	10	1: 10395,0	1: 4108,7	2,53	2,6
	30	1: 29560,0	1: 10557	2,8	
E. coli O2	10	1: 12052,2	1: 5467,0	2,2	2,5
	30	1: 21150,0	1:7538,0	2,8	
P. aeruginosa	10	1:10429,0	1: 4011	2,6	2,7
	30	1:30231,9	1: 10874	2,78	

коэффициент при экспозиции 10 и 30 мин. составлял соответственно для кишечной палочки 122,9 и 109,6; стафилококка 106,0 и 78,4 и синегнойной палочки – 76,1 и 157,4.

Для определения белкового индекса использовали инактивированную сыворотку. Показатель снижения активности дезинфектанта в присутствии высокомолекулярного белка и есть белковым индексом (табл. 2).

Таким образом, действие дезинфектанта «Биоцидин» в присутствии белка снижается при экспозиции 10 и 30 мин. соответственно для кишечной палочки 2,2 и 2,8; стафилококка 2,53 и 2,8 и синегнойной палочки – 2,6 и 2,78.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Полученные результаты дают возможность сделать вывод, что дезинфектанта «Биоцидин» может проявлять бактерицидное действие на обработанных поверхностях даже при контакте с белковыми субстанциями, но в таком случае его эффективность снизится. Этот факт был учтен при установке эффективных концентраций рабочих растворов дезинфектанта «Биоцидин».

**Definition bactericidal activity preparation "Biotsydin".**

**O. Shkromada.**

#### **ABSTRACT**

The article presents data on the study of complex disinfectant bactericidal action "Biotsidin." The studies found that the bactericidal action of a complex disinfectant "Biotsidin" stronger bactericidal action of carbolic acid. To determine the bactericidal test solution was prepared by dilution. The initial concentration of the solution 1:50 with a progressive decrease in the active substance in each subsequent dilution. A series of solutions with dilution step 10. Simultaneously prepared broth culture of *E. coli*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa*. To prepare the culture broth in the flask was poured into 25 cm<sup>3</sup> and added to the broth in a 0,25 cm<sup>3</sup>

daily broth culture of microorganisms. After a day broth culture was filtered through a sterile cotton- gauze or filter paper. In the flask were added 0,5 cm<sup>3</sup> of overnight culture of the test organisms. After a 10- minute exposure of the flasks with a platinum loop were sampled and transferred to tubes containing broth. These types of work carried out under the conditions of sterility. After 30 minutes, maintaining the same interval, samples were taken again and carried on reseeded broth. Thereafter, the flask was placed in a broth with a thermostat at 37 ° C. The first time the crops are reviewed over 10 hours, and finally - after 6-7 days. Phenolic coefficient exposure 10 and 30 min. was, respectively, for *E. coli* and 122,9 109,6; *S. aureus* 106,0 and 78,4 and *P. aeruginosa* – 76,1 and 157,4. Disinfectant action "Biotsydin" in the presence of the protein is reduced by exposure to 10 or 30 minutes respectively for *E. coli* 2,2 and 2,8; 2,53 and 2,8 *S. aureus* and *P. aeruginosa* – 2,6 and 2,78.

**Key words:** phenol coefficient bactericidal dilution culture microorganisms, protein index.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Высоцкий А. Э. Методы токсикологической оценки новых дезинфицирующих химиопрепаратов, применяемых в ветеринарии // Научно-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ вет. препаратів та кормових добавок. – Львів. -2007. – Вип. 8. - № 3, 4. – С. 344-352.
2. Рекомендации по санитарно-бактериологическому исследованию смывов с поверхности объектов, подлежащих ветеринарному надзору. Утверждены Главным управлением ветеринарии с государственной ветеринарной инспекцией. № 432-3 от 19 июля 1988 г.
3. Касіч В. Експериментальне випробування дезінфектанту бровадез-плюс щодо збудників туберкульозу // Ветеринарна медицина України. – 2008. - №3. – С. 32-33.

4. Фотіна Г.А. Визначення бактерицидных властивостей дезінфікуючого препарату «Бровадез-плюс» // Проблеми зооінже-

нерії та ветеринарної медицини: Зб. наук. праць Харківської ДЗВА. – Харків. -2007. – Вип.15 (40). -Ч.2. -Т.1. – С. 91-95.

УДК 619:614.747:616.1/9:636.084.1

## ПОКАЗАТЕЛИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЖИВОТНЫХ

Соколюк В.М. - к.в.н., докторант,  
Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины



### РЕФЕРАТ

Целью работы было изучение микробиологических и паразитологических показателей воды, которую используют для поения животных в одном из хозяйств Житомирской области. Пробы воды отбирали по общепринятой методике из двух точек – непосредственно из скважины и автопоилки. На основании результатов исследований было установлено, что санитарно-микробиологические показатели МАФМ воды из открытых водоемов летом и осенью в десять раз превышают допустимые нормативы. Среди выделенных бактерий из исследованных проб воды наибольшую опасность представляет *E. coli* серовар O157. Такая вода может быть источником инфекций для животных и обсеменения продукции. Гельминтологическим исследованием воды из открытых водоемов установлено наличие в ней яиц и личинок гельминтов, что также представляет опасность для здоровья животных. В периоды ухудшения качества воды наблюдалось повышение заболеваемости коров на мастит и телят на болезни органов пищеварения. Поэтому при организации водоснабжения на животноводческих фермах важно учитывать качество и биологическую безопасность воды.

**Ключевые слова:** вода, безопасность, сезонность, заболеваемость, животные.

### ВВЕДЕНИЕ

Продуктивность и здоровье животных зависит не только от уровня кормления и условий содержания, но и от правильной организации поения их доброкачественной водой [1]. Животные потребляют воды в 2–3 раза больше чем корма. Вода также играет важную роль в переваривании питательных веществ, формирует среду для поддержания здоровой микрофлоры рубца и кишечника, что при оптимальном количестве пищеварительных ферментов обеспечивает эффективное расщепление питательных веществ [2].

Должный контроль качества воды влияет на улучшение производственных показателей, а также на снижение заболеваемости животных. Вопрос качества воды весьма актуален при выращивании молодняка сельскохозяйственных животных, так как вода, контаминированная патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, может стать причиной возникновения инфекционных болезней с преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта [3].

Vidon P. и соавт. [4] установили, что в случае доступа коров к воде рек резко снижается качество воды ниже по тече-

нию. По сравнению с водой выше по течению от места доступа животных, в отобранных местах резко увеличивается количество общего азота (в 4 раза), общего фосфора (в 5 раз), общего взвешенного осадка (в 11 раз), кишечной палочки (в 36 раз). Авторы считают, что приведенные данные необходимо учитывать при разработке природоохранных законодательных актов, а также при использовании в качестве источников воды для поения животных природных водоемов.

Wheelhouse N. и соавт. [5] во время проведения анализа абортоспособности у коров, обратили внимание на наличие в плаценте и тканях плода отдельных видов паразитов. С помощью ДНК-анализа в питьевой воде были выявлены микроорганизмы, принадлежащие к виду *Parachlamydiae*, а именно родов *Parachlamydia* и *Neochlamydia*. Авторы считают, что питьевая вода может быть источником паразитов, которые вызывают аборты у коров.

Результаты анализа литературных данных свидетельствуют о том, что в современных условиях ведения животноводства важное значение имеет обеспечение животных доброкачественной водой. Следует отметить, что среди факторов, влияющих на уровень заболеваемости животных, особенно молодняка, важное место занимает обсемененность питьевой воды микроорганизмами.

Вместе с тем, качеству питьевой воды для животных, как правило, недостаточно уделяется должного внимания ветеринарными специалистами.

Поэтому целью нашей работы было изучение микробиологических и паразитологических показателей воды, которую используют для поения животных в одном из хозяйств северо-восточной биогеохимической зоны Украины.

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Исследования питьевой воды проводили в течение одного года в одном из

хозяйств Житомирской области.

Пробы воды для исследования отбирали по общепринятой методике из двух точек – непосредственно из скважины и автопоилки. Микробиологические исследования качества воды [6] проводили в лаборатории кафедры лабораторной диагностики Института последипломного обучения руководителей и специалистов ветеринарной медицины Белоцерковского НАУ.

Гельминтологические исследования воды проводили в лаборатории паразитологии кафедры паразитологии и фармакологии Белоцерковского НАУ по методике З.Г. Васильковой.

Качество воды оценивали по государственным санитарным нормам и правилам «Гигиенические требования к воде питьевой, предназначенной для использования человеком» (ДСаН ПиН 2.2.4.–171–10) [7].

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Для водоснабжения животноводческой фермы в хозяйстве используют воду из подземных водоисточников. В летний период животные пьют воду из открытых водоемов, так как они находятся на пастбище.

Следует отметить, что не все микроорганизмы опасны, но контаминация питьевой воды условно-патогенной микрофлорой – это всегда показатель ее низкого качества. Такая вода потенциально опасна, особенно для молодых животных.

Бактериологический анализ воды показал ее несоответствие нормативным требованиям по исследуемым показателям. Результаты микробиологического исследования представлены в таблице 1.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что в динамике пространственной (на выходе из скважин и поилках) и часовой (пробы отобраны в разные сезоны года) есть некоторые закономерности.

Так, вода на выходе из скважин чище

Таблица 1

Показатели санитарно-бактериологического исследования воды в хозяйстве

Сезоны года	Результаты исследования воды на:			
	БГКП		МАФАМ, КОЕ/ дм <sup>3</sup>	
	Коли-индекс			
	скважина	поилка	скважина	поилка
Весна	<3	<3	114,6±15,1	436,6±74,3
Лето	<7	-	1024,0±517	-
Осень	<11	-	1031,0±128,9	-
Зима	<3	<7	117,0±17,2	350,2±30,2
Норма	<3		<100	

в плане бактериологического загрязнения, коли-индекс не меньше трех, МАФАМ несколько превышает допустимые концентрации в весенний и зимний периоды.

Особо опасным показателем микробной загрязненности в этом хозяйстве является наличие в воде бактерий группы кишечной палочки. С мая по октябрь в хозяйстве коровы находятся в летнем лагере, т.е. они находятся на выпасе. Водопой животных происходит за счет открытых природных водоемов. Пробы воды, взятые из этих источников, характеризуются низким качеством (коли-индекс <7–11), показатель МАФАМ в десять раз превышает нормативные показатели. Причиной резкой загрязненности воды в водоемах могут быть стоки с полей, селений и животноводческих ферм. Ухудшает ситуацию отсутствие зон санитарной охраны водисточников, мест, специально оборудованных для поения животных, фекальная загрязненность питьевой воды. Необходимо также отметить, что довольно часто в открытые водоемы попадают стоковые воды без очистки и обеззараживания, и тем самым происходит загрязнение водисточников.

При бактериологическом исследовании воды из мест поения животных нами выделено *E. coli* серовар O157 из воды, которую пьют животные летом и осенью. Количество микроорганизмов в воде уве-

личивалось с повышением температуры окружающей среды а также в случаях стойкого помутнения воды, а также наличием большого количества мух в местах размещения животных. Такая вода может быть источником кишечных токсикоинфекций как для самих коров, так и для продуктов питания для людей.

В хозяйстве регистрируется большой удельный вес заболеваемости коров маститом (35,9 % субклинической и 3,3 % клинической форм), чаще они проявляются в виде серозного и гнойно-катарального воспаления. При бактериологическом исследовании секрета из пораженных долей вымени выделены культуры *E. coli*.

Мы отмечаем заболеваемость молодняка в органах пищеварения. При этом пик заболеваний приходится на весну и лето (32,3 и 24,2 %). Исследованиями была установлена большая загрязненность поилок, которые используются для поения телят в хозяйстве. Чаще всего они загрязняются остатками корма, грязи, что способствует быстрому размножению микроорганизмов и контаминации системы водоснабжения.

При проведении исследований воды из открытых источников (лето, осень) были выявлены адолескарии трематод (фасциол и парамфистом), а также яйца тений, которые паразитируют в тонком кишечнике плотоядных (собак, лисиц).

Поэтому при использовании открытых водоемов для поения животных возникает угроза заражения скота не только трематодозами, а и личинками цестодоз (эхинококкоз, цистицеркоз).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

- При организации водоснабжения на животноводческих фермах нужно учитывать качество и биологическую безопасность воды.
- Санитарно-микробиологические показатели МАФМ воды из открытых водоемов летом и осенью в десять раз превышают допустимые нормативы.
- Среди выделенных бактерий из исследованных проб воды наибольшую опасность представляет *E. coli* серовар O157. Такая вода может быть источником инфекций для животных и обсеменения продукции.
- Среди крупного рогатого скота наблюдалось повышение заболеваемости коров маститом в осенний период и телят с болезнями органов пищеварения весной и осенью.
- Гельминтологическим исследованием в воде открытых водоемов установлено наличие яиц и личинок гельминтов, что представляет опасность для здоровья животных.

Перспективы дальнейших исследований: изучение влияния качества воды на состояние здоровья, продуктивность и качество молока коров, заболеваемость молодняка.

**The indexes of drinking water biological safety and morbidity in animals.**

**V. Sokoluk.**

### **ABSTRACT**

The main purpose of the work was to study microbiological and parasitological indexes of water used by animals. The study of drinking water was conducted on one of the farm of the Zhitomir region. The water samples were taken using usual methods in two points – directly from the wells and from the water trough. There was established the

importance of the use of water quality indexes on modern dairy farms. Sanitary and microbiological indexes of water have to be taken into account especially during the warm seasons. At this time microbial contamination exceeds the allowable level in ten and more times. Among the isolated microbes, the *E. coli*, O157 is the most dangerous as soon as it may lead to contamination of the produce and may increase the animals' morbidity. Helminthological study of open water surfaces reveals the presence of the eggs of the dangerous species of the parasites. The periods of water quality deterioration coincided with the increased morbidity of cows with mastitis and calves with the diseases of digestive tract. That is why while providing the water for the dairy farms it is important to take into account its quality and biological safety.

**Key words:** water, safety, seasons, mortality, animals.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Государственные нормы и правила «Гигиенические требования к воде питьевой, предназначенной для потребления человеком» ДСанПиН 2.2.4.–171–10.
2. Брылин А. П. Гигиена снабжения питьевой водой / А.П. Брылин, Н. А. Листкова // Ветеринария. – 2006. – № 11. – С. 11–12.
3. Ивченко В.М., Козак М.В. Справочник санитарно-микробиологических методов исследования пищевых продуктов и объектов окружающей среды. – Белая Церковь. – 2012. – 242 с.
4. Ястребов К. Ю. Еще раз о воде: инновационное решение очистки систем поения // Эффективное птицеводство. – 2013. – № 4 (100). – С. 23–25.
5. Kolacz R. Higiena i dobrostan zwierzat gospodarskich // Wvolow. – 2006. – 537 с.
6. Vidon P. Unvestvicted cattle access to steams and water quality in till long scape of the Midwest // Agricultural water management, 2008. – Vol. 95 (3). – P. 322–330.
7. Wheelhouse Molecular detection of Chla-



## БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 619:612.015.3:636.4

### СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА И ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПОРОСЯТ ПЕРВОГО МЕСЯЦА ЖИЗНИ

Паникар И.И. - доцент, факультет ветеринарной медицины,  
Полтавская государственная аграрная академия, Украина



#### РЕФЕРАТ

Материалы исследований, представленные в статье, характеризуют обмен белков в организме поросят к 29-дневному возрасту, дают сравнительный анализ возрастной динамики гематологических показателей, а также результаты исследования фракционного состава белка сыворотки крови, полученной от молодняка свиней и динамики показателей иммунного статуса организма животных. Отбор крови на исследования проводили на одной свиноферме, в одном гнезде по 10 поросят, которые находились в одинаковых условиях содержания и кормления, в производственных опытах использовали молодняк свиней в возрасте до 29 дней. Отобранную кровь исследовали на базе иммунологического отдела клинико-диагностической лаборатории «Медицинские исследования», где изучали динамику показателей иммунного статуса молодняка свиней при помощи тест-системы для проведения конкурентного иммуноферментного анализа. Полученные результаты были обработаны статистически при помощи компьютерной программы Sstatistica-1.1c.14c. Проведенными исследованиями было установлено изменение динамики количества иммуноглобулинов разных классов. Постепенный рост количества IgM с 0,36 до 0,5 мг/см<sup>3</sup> обеспечивается за счет его синтеза собственными плазмócитами. Иммуноглобулины класса G поступают с молозивом (3,11 мг/см<sup>3</sup>), обеспечивая иммунную защиту в первые дни жизни к моменту появления собственных антител (2,5 мг/см<sup>3</sup>). Уровень IgA на протяжении первого месяца поддерживается за счет сначала белков молозива (0,91 мг/см<sup>3</sup>), а дальше – белков молока (0,46 мг/см<sup>3</sup>). Было установлено, что концентрация глюкозы в «домолозивном» периоде почти 2,5 раза ниже, чем у поросят других возрастных групп, что вероятно связано с физиологической гипогликемией новорожденных. При этом уровень мочевины у поросят возрастом одни сутки и старше находится в пределах физиологического уровня 3,2 – 5,96 ммоль/л. Высокая концентрация мочевины у поросят первых часов 8,7±0,22 ммоль/л жизнь является продукционной и имеет относительный характер.

**Ключевые слова:** белковый обмен, резистентность животных, иммуноглобулины, стресс, молозиво, новорожденные.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Большая концентрация животных, шум работающих механизмов, по большей части концентратный тип кормления, содержание на привязи и нарушения параметров микроклимата, приводят к физиологичному ответу организма животного – стрессу, который снижает резистентность, производительность и повышает восприимчивость организма к определенным болезням [3].

Одна из наиболее уязвимых систем в организме – иммунная система. У новорожденных поросят компенсация иммунной недостаточности происходит за счет клеточных и гуморальных факторов молозива. Однако нередко возрастная иммунная патология поросят связана с иммунологической неполноценностью колостральных факторов защиты, недостаточностью в молозиве иммуноглобулинов и лейкоцитов, повышенной затратой защитных факторов, незрелостью собственной иммунной системы [5].

Известно, что белковый состав сыворотки крови зависит от функционального состояния организма и его эндокринной системы, и характеризует уровень белкового обмена, что тесно связано с физиологичными функциями, которые определяют уровень производительности животного. По данным некоторых авторов, уровень общих протеинов у молодняка первых месяцев жизни является величиной непостоянной и достигает максимальных показателей у животных возрастом 73 суток [1].

Кроме содержимого общего белка, для диагностики разных патологических процессов, значение имеет определение альбуминов, поскольку они выполняют важные функции относительно поддержания коллоидно-осмотического давления крови, регуляции водного обмена, между кровью и межклеточным пространством, связывание и транспортировка углеводов, липидов, гормонов, витаминов, пигмен-

тов, минеральных веществ. Альбумины составляют около половины белков крови. Они регулируют не только водный, но и минеральный, обмен, поскольку половина всего кальция находится в связанном с альбумином состоянии. Образовывая комплексные соединения с билирубином и гормонами, альбумины принимают не прямое участие в пигментном, гормональном и некоторых других видах обмена, регулируя содержимое свободных не связанных с белком фракций биологически активных веществ, которые имеют еще высшую биологическую активность [6].

Образуются альбумины в печени, период полураспада альбуминов составляет 10-15 дней. Альбумины на 80% обеспечивают осмотическое давление крови. Это влияет на распределение воды между плазмой и межклеточной жидкостью. Глобулины – это группа белков, которых электрофоретически разделяют на  $\alpha_1$  (альфа1),  $\alpha_2$  (альфа2),  $\beta$  (бета) и  $\gamma$  (гама). Образуются глобулины в печени, костном мозге, селезенке, лимфатических узлах. За сутки синтезируется почти 5г глобулинов. Период их полураспада – 5 дней [7].

Молекула антитела выполняет два типа функций: связывание антигена на основе специфического распознавания эпитопа антигена паратопом антитела и эффекторные функции. Распознавание и связывание антигенных эпитопов является функцией переменных областей иммуноглобулина, а эффекторные функции определяются константной областью. Связывание антигена приводит к конформационным изменениям в константной области, которые отражаются на эффекторных функциях антител: в связывании комплемента, взаимодействия из FCR, экспрессии аллоантигенов.

IgM поступают во внесосудистые пространства. Они первыми синтезируются в ответ на первичную антигенную стимуляцию. Секретируются В-лимфоцитами

сразу после стимуляции антигеном.

Антитела класса IgG при иммунном ответе появляются в сыворотке вслед за IgM. IgG синтезируются плазмочитами в результате специфического адаптивного иммунного ответа и связываются в крови через 14-16 дней с момента антигенной стимуляции и достигают максимума на 21-24 день.

IgA – основные антитела, которые содержатся в секрете, в легких, кишечнике, моче. Имеют дополнительную структуру – секреторный компонент, который оберегает молекулу антитела от расщепления. Основная функция IgA – предотвращать проникновение антигенов из внешних поверхностей слизистых оболочек в тканевое пространство [8].

В последнее время значительное внимание уделяется иммунологическим исследованиям сельскохозяйственных животных разных видов. Однако значительное количество возрастных показателей формирования иммунобиологической системы свиней остаётся не достаточно изученным.

Целью наших исследований было проведение сравнительного анализа возрастной динамики гематологических показателей, которые характеризуют обмен белков в организме поросят к 29-дневному возрасту (период отъёма). Так же нами проведены исследования фракционного состава белка сыворотки крови, полученной от молодняка свиней. Кроме того целью наших исследований было установление динамики показателей иммунного статуса молодняка свиней для своевременной диагностики иммунодефицита и профилактики желудочно-кишечных и респираторных заболеваний.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В производственных опытах использовали молодняк свиней в возрасте до 29 дней. В хозяйстве после опороса были сформированы две группы поросят, за которыми вели наблюдение от рождения.

Для проведения иммунологических и биохимических исследований у поросят отбирали кровь сразу после рождения, далее в 1 сутки, 6, 14 и 29 сутки. Животные находились территориально на одной свиноферме, в одном гнезде, по 10 поросят в каждом, и соответственно в одинаковых условиях содержания и кормления.

Исследования проводились на базе иммунологического отдела клинико-диагностической лаборатории «Медицинские исследования», Свидетельство о аттестации лаборатории № 040-09 от 23.03.2009 года. Динамику показателей иммунного статуса молодняка свиней изучали при помощи тест-системы для проведения конкурентного иммуноферментного анализа. Тест основан на конкуренции конъюгата и иммуноглобулинов классов Ig A, M, G за связывание с антигеном на поверхности лунки. После отмывания планшета с материалом в фосфатно-солевом буфере измеряют оптическую плотность при помощи фотометра с длиной волны 450 нм. Концентрацию иммуноглобулинов определяли по формуле, приведенной в «Инструкции по использованию тест-системы для определения иммуноглобулинов A, M, G в сыворотке крови». Исследования фракционного состава белка сыворотки крови проводили по В.И. Левченко (2002). Полученные результаты были обработаны статистически при помощи компьютерной программы Snatistica-1.1с.14с.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

У молодняка свиней химический состав плазмы крови не является постоянным. Значительные колебания можно наблюдать у новорожденных поросят. По мере их взросления в белковом составе крови происходит целый ряд изменений.

У поросят первых часов жизни наблюдается гипопроотеинемия, в основном, за счет иммуноглобулинов. До 6-ти дневного возраста белоксинтезирующая функ-

ция печени постепенно усиливается, и происходят значительные изменения в белковом обмене сыворотки крови, а именно уровень общего белка крови растет в 2 раза, содержимое глобулинов растет в 5 раз. В результате происходит снижение альбумин-глобулинового коэффициента в 4,5 раза. До 29-ти дневного возраста выше отмеченные показатели остаются почти без изменений.

Кроме общего белка, для диагностики разных патологических процессов, в т.ч. и болезней печени большое значение имеет определение альбуминов, поскольку они выполняют важные функции относительно поддержания коллоидно-осмотического давления крови, регуляции водного обмена, между кровью и межклеточным пространством, связывания и транспортировки углеводов, липидов, гормонов, витаминов, пигментов, минеральных веществ.

Анализ общего количества иммуноглобулинов указывает, что наибольшим этот показатель 4,38 мг/мл был у поросят первых часов жизни, в дальнейшем наблюдалось уменьшение до конца первой недели жизни: 3,56 мг/мл у однодневных поросят и 2,41 мг/мл у животных в возрасте 6 суток. В дальнейшем у месячных поросят этот показатель вырос до 3,46 мг/мл. По литературным данным, уровень иммуноглобулинов класса G у новорожденных животных отвечает материнскому, поэтому плоду с помощью IgG передается надежная защита от большинства известных токсинов, вирусов и бактерий. В дальнейшем иммуноглобулины класса G и A передаются поросятам с молозивом и молоком, и это обеспечивает молодняк дополнительной иммунной защитой. Вышеуказанные виды глобулинов поступают непосредственно на слизистые оболочки желудочно-кишечного и респираторного трактов, соответственно, защищая эти слизистые животных от инфекции. Благодаря наличию специальных

рецепторов на слизистой оболочке в течение первых 3 суток жизни иммуноглобулины G проникают из желудочно-кишечного тракта поросенка в его кровяное русло, где пополняют запас материнских антител, которые ранее поступили через плаценту. Максимальным является содержимое пренатального IgG –  $3,11 \pm 0,01$  мг/мл. Концентрация IgG у животных к месячному возрасту составляла в среднем 2,5 мг/мл. Однако следует обратить внимание на так называемый «провал» в конце первой недели жизни, а именно уменьшение количества данного вида глобулинов почти в 2,6 раза (с  $3,11 \pm 0,01$  до  $1,19 \pm 0,02$  мг/мл). Вероятно, именно в этот период запасы материнских иммуноглобулинов G в организме поросят уменьшаются, а сам новорожденный организм еще не в состоянии производить достаточное количество данного вида иммуноглобулина. По литературным данным, молозивные иммуноглобулины, выполнив функцию экстренной защиты, уже с 6 – 8 дня постепенно разрушаются и выводятся из организма собственной иммунной системой, что начинает функционировать [5].

Секреторный IgA, что поступает с молоком, улучшает местную защиту слизистых желудочно-кишечного, респираторного и даже мочеполового тракта поросят.

Постепенно иммуноглобулины, полученные от матери, разрушаются, их количество к месячному возрасту снижается в 2 раза (с  $0,91 \pm 0,03$  до  $0,46 \pm 0,05$  мг/мл). Результаты исследований приведены в таблице 1.

Мы изучали соотношение разных классов иммуноглобулинов на протяжении первого месяца жизни поросят. Результаты исследований приведены в таблице 2. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что у новорожденных животных IgM в крови оказывается в низкой концентрации, но на протяже-

Таблица № 1

Состояние обмена белков и природной резистентности поросят первого месяца жизни

Возраст, дней	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Глобулины, г/л	А/Г коэффициент	Иммуноглобулины, мг/мл		
					G	M	A
0	34,6±0,9	27,3±1,7	6,6±0,5	4,2±0,1	3,1±0,0	0,4±0,0	0,9±0,0
1	55,0±0,9	27,4±0,2	27,4±1,0	1,0±0,0	2,6±0,0	0,5±0,0	0,5±0,2
7	63,0±2,2	30,2±1,1	34,0±2,7	0,9±0,1	1,2±0,0	0,5±0,0	0,7±0,0
14	61,0±4,0	30,5±0,5	30,5±1,2	1,0±0,3	2,5±0,1	0,5±0,0	0,4±0,0
29	58,2±2,4	32,0±1,7	26,2±1,0	1,2±0,1	2,5±0,1	0,5±0,0	0,5±0,1

Таблица № 2

Динамика показателей доли иммуноглобулинов в возрастном аспекте

Возраст животных, дней	Иммуноглобулины, %		
	Ig G %	Ig M %	Ig A %
0	71	8	21
1	71,6	15,1	13,2
7	49,3	20,0	30,7
14	72,5	15,4	12,1
29	72,2	14,5	13,3

Таблица № 3

Показатели обмена белков в возрастном аспекте

Возраст, дней	Глюкоза, ммоль/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
0	2,67±0,12	8,7±0,22	123,57±4,3
1	6,01±0,19	5,96±0,13	81,7±2,16
6	6,82±0,19	3,2±0,3	88,8±5,6
14	6,5±0,97	5,05±0,43	82,0±3,8
29	6,86±0,81	4,3±0,35	75,0±4,39

нии первых суток жизни доля IgM растет от 8% до 15,4% и приобретает максимальное значение у животных до конца первой недели, а именно – 20%. Вероятно, объяснением этому есть влияние патогенных факторов окружающей среды на новорожденный организм и антигенная стимуляция последнего.

К месячному возрасту, концентрация данного вида иммуноглобулина уменьшается до 14,5%. Изменение части IgG, а именно снижение с 71,0% до 49,3% и следующее повышение до 72,2%, может быть связано с циркуляцией в крови по-

росят первых дней жизни материнских антител, которые постепенно разрушаются. В течение второй недели накапливаются уже собственные антитела, синтезированные на антигены, которые попадают с едой и воздухом. В период резкого снижения количества IgG (возраст 7 суток) защитную роль перебирают на себя IgA, количество которых в этот период наивысшее.

Непрямым показателем белкового обмена является уровень мочевины и креатинина в сыворотке крови, которые являются продуктами остаточного азота.

Мочевина сыворотки крови – конечный продукт обмена белков и является важным диагностическим тестом как функции печени, где она синтезируется, так и почек, через которые она выводится.

Проведенными исследованиями было установлено, что, уровень мочевины у поросят возрастом одни сутки и старше находился в пределах 3,2-5,96 ммоль/л, что по значению совпадает с показателями физиологического уровня (3,3-6,0 ммоль/л). Возможно, высокая концентрация мочевины у поросят первых часов 8,7±0,22 ммоль/л жизнь является продукционной и имеет относительный характер. Содержание креатинина в сыворотке крови является достаточно информативным показателем фильтрационной функции клубочков почек (он фильтруется клубочками и не реабсорбируется в канальцах). Концентрация креатинина во всех группах не отличалась от показателя нормы у свиней (100-200 мкмоль/л), (норма 70-140 мкмоль/л) и составляла в среднем 90,21 мкмоль/л.

Это свидетельствует, что механизм образования креатинина, как конечного метаболита обмена креатина, у новорожденных поросят уже сформированный и фильтрация его в почках не нарушена.

По нашим данным, концентрация глюкозы в «домолозивном» периоде оказалась почти 2,5 раза ниже, чем у поросят других возрастных групп, что вероятно связано с физиологической гипогликемией новорожденных.

Концентрация глюкозы в крови опытных поросят других возрастных групп находилась в пределах референтного уровня (между физиологических значений 4,5 – 10,0 ммоль/л), и была достаточно стабильной 6,01 – 6,81 ммоль/л. Результаты исследований приведены в таблице 3.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

У поросят, которые не стали еще употреблять молозиво, наблюдается гипопро-теинемия, в основном, за счет иммуногло-

булинов. Общее количество иммуноглобулинов к месячному возрасту снижается в 2 раза. Нашими исследованиями было установлено изменение динамики количества иммуноглобулинов разных классов. Постепенный рост количества IgM с 0,36 до 0,5 мг/см<sup>3</sup> обеспечивается за счет его синтеза собственными плазмочитами. Иммуноглобулины класса G поступают с молозивом (3,11 мг/см<sup>3</sup>), обеспечивая иммунную защиту в первые дни жизни к моменту появления собственных антител (2,5 мг/см<sup>3</sup>). Уровень IgA на протяжении первого месяца поддерживается за счет сначала белков молозива (0,91 мг/см<sup>3</sup>), а дальше – белков молока (0,46 мг/см<sup>3</sup>).

Было установлено, что концентрация глюкозы в «домолозивном» периоде почти 2,5 раза ниже, чем у поросят других возрастных групп, что вероятно связано с физиологической гипогликемией новорожденных. При этом уровень мочевины у поросят возрастом одни сутки и старше находится в пределах физиологического уровня 3,2 – 5,96 ммоль/л. Высокая концентрация мочевины у поросят первых часов 8,7±0,22 ммоль/л жизнь является продукционной и имеет относительный характер. Уменьшение содержания мочевины и роста концентрации глюкозы в сыворотке крови поросят во время их роста вероятно предопределенно более выраженным анаболическим статусом животных. Наиболее интенсивными эти процессы являются у животных возрастом 6 суток.

Также можно сделать вывод, что незрелость некоторых звеньев противои-нфекционной защиты новорожденного организма компенсируется пассивной передачей иммуноглобулинов через плаценту (IgG) и молоко (IgA).

**State of proteometabolism and natural rezistentnosti of piglings of the first month of life.**

**I. Panikar.**

**ABSTRACT**

Materials research, presented in the article characterize protein metabolism in the body of pigs by 29 days of age, give a comparative analysis of age dynamics of hematological parameters, as well as results of the study of fractional composition of serum protein obtained from young pigs and dynamics of the immune status of the animal organism. Blood sampling for the study was conducted on one pig farm in one nest 10 piglets that were in the same conditions and feeding experiments used in the production young pigs aged up to 29 days. The collected blood was examined on the basis of immunological diagnostic laboratory "Medical research", where he studied the dynamics of the immune status of young pigs with a test system for competitive enzyme immunoassay. The results were statistically processed by a computer program. The study found the amount of change in the dynamics of different classes of immunoglobulins. The gradual increase in the number of IgM from 0.36 to 0.5 mg/cm<sup>3</sup> is provided by its own synthesis of plasma cells. Immunoglobulin G class received colostrum (3.11 mg/cm<sup>3</sup>), providing immune protection in the first days of life with the appearance of its own antibodies (2.5 mg/cm<sup>3</sup>). IgA levels during the first month is supported by first colostrum proteins (0.91 mg/cm<sup>3</sup>), and then - milk protein (0.46 mg/cm<sup>3</sup>). It was found that the concentration of glucose in the "domolozivnom" period almost 2.5 times lower than that of other age groups of pigs, which is probably due to the physiological neonatal hypoglycemia. The level of urea in piglets aged one day and over the physiological ranges of 3.2 - 5.96 mmol / l. High concentrations of urea in the first hours of pigs  $8,7 \pm 0,22$  mmol / l is of Production and life is relative.

**Keywords:** proteometabolism, rezistentnost' of zoons, immunoproteins, stress, colostrum, new-born.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Антонов В.С. Состояние белкового обмена и естественной резистентности

поросят первого месяца жизни // Ветеринарная медицина. -2005.- Том 1. – С. 63 – 66.

2. Воронин Е.С., Петров А.М., Серых М. М., Девришев Д.А. Иммунология. М.: Колос. – Пресс. -2002. – 408 с.

3. Максимов Г., Максимов А. Воспроизводительные качества стрессустойчивых и стрессчувствительных хряков и маток // Свиноводство. -2008. – № 2. – С. 27–30.

4. Меклер Н.Н. Постнатальная незрелость поросят (особенности общей и специфической резистентности организма. Способы профилактики и коррекции): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. -Троицк. -2001. – 22 с.

5. Сидоров М.А. Иммунный статус и инфекционные болезни новорожденных телят и поросят // Ветеринария. -2006. – №11. – С. 3 – 6.

6. Шарандак В.И., Силян О. Л., Кузьмина Ю.В., Добровольска А.О. Определение оптимального режима использования иммуномодуляторов для свиней на откорме. // Сборник научных трудов Луганского национального аграрного университета. – Луганск. -2007. – С. 691 – 694.

7. [medcollege.te.ua/sayt1/Lecturs/Lekc...](http://medcollege.te.ua/sayt1/Lecturs/Lekc...)

## ГИСТОТОПОГРАФИЯ И ПЛОТНОСТЬ РАСПОЛОЖЕНИЯ ЭНДОКРИНОЦИТОВ В ЭПИТЕЛИИ КИШЕЧНИКА ВЗРОСЛЫХ ГУСЕЙ

Куш Н. Н. – к.в.н., доцент, заведующий кафедрой анатомии и гистологии имени Т.Г. Цымбала, Харьковская государственная зооветеринарная академия



### РЕФЕРАТ

Целью исследований было установление расположения и количества эндокринных клеток кишечника взрослых гусей. Исследования выполнены на домашних гусях (*Anser anser*) крупной серой породы 1,5-летнего возраста. Материал для гистохимических исследований отбирали от 5 особей по 3 кусочка с середины проксимальной, средней и дистальной трети двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепых и прямой кишок. Парафиновые гистосрезы для выявления аргирофильных апудоцитов окрашивали по Гримелиусу, аргентафинных – по Массону-Гамперлю. Количество эндокриноцитов определяли с помощью окулярной морфометрической сетки с последующим пересчетом на 1 мм<sup>2</sup> площади поперечного среза слизистой оболочки кишки. Эндокринный аппарат кишечника представлен апудоцитами, одиночно расположенные среди энтероцитов эпителиального слоя слизистой оболочки. Апудоциты четко выделялись благодаря секреторным гранулам, расположенным у базального полюса. В двенадцатиперстной кишке эндокриноциты локализованы только в нижней трети крипт, в тощей, подвздошной – на всей их глубине, в слепых и прямой кишке – также и в эпителии ворсинок. Количество аргирофильных и аргентафинных эндокринных клеток постепенно увеличивается в направлении от двенадцатиперстной кишки до прямой, с максимальным содержанием в средней части подвздошной кишки (56,25±2,91 и 25,45±2,60) и проксимальной части прямой кишки (128,5±5,62 и 79,19±3,18). Относительное содержание видимых аргентафинных клеток среди всей популяции эндокриноцитов было наибольшим в проксимальной трети тощей и средней трети прямой кишки, соответственно 81,93 и 82,99 % и наименьшим в начальном отделе двенадцатиперстной кишки – 40,89 %, а также в подвздошной и слепых кишках 40,24 – 52,00 %. Максимальные и минимальные значения количества апудоцитов не всегда соответствуют анатомическим границам кишок.

**Ключевые слова:** гуси, кишечник, эндокриноциты, АПУД-система, аргирофильные и аргентафинные клетки.

### ВВЕДЕНИЕ

Создание концепции APUD-системы существенно расширило представления о гуморальной регуляции функций организма [1, 5]. Установлено происхождение апудоцитов – клеток этой системы, их функции, роли в патогенезе различных заболеваний. Значительное количество работ посвящено структурной организа-

ции важнейшего её звена – гастроэнтеропанкреатической системы (ГЭП-системы), в состав которой входят эндокриноциты желудка, кишечника и поджелудочной железы [4, 5].

Основными гистохимическими методами исследования эндокриноцитов APUD-системы являются реакции по Гримелиусу и Массону-Гамперлю, выявляю-

шие соответственно аргирофильные и аргентафинные клетки [3]. Аргирофильные эндокриноциты соответствуют общей популяции апудоцитов, за исключением D-клеток. Аргентафинную реакцию дают энтерохромоаффинные (Ес) клетки, которые составляют большинство среди всей эндокринно-клеточной популяции. Ес-клетки синтезируют почти 90 % всего серотонина и являются основным источником образования экстрапинеального мелатонина организма [4].

Материалы опубликованных работ не дают ясной картины распределения апудоцитов по отделам кишечника. Имеющиеся данные по отдельным кишкам позволяют судить лишь о приблизительном распределении апудоцитов в стенке кишечника [2]. Для более точной гистотопографии апудоцитов необходима детальная информация о количестве эндокринных клеток в отделах каждой кишки. Цель работы – установление гистотопографии эндокриноцитов в участках кишок тонкого и толстого отдела кишечника взрослых гусей.

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Исследования выполнены на домашних гусях (*Anser anser*) крупной серой породы 1,5-летнего возраста, которых содержали в птичнике Харьковской государственной зооветеринарной академии. Содержание гусей и манипуляции с ними выполняли в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей (Страсбург, 1986). Для исследований от каждой особи отбирали по 3 кусочка с середины проксимальной, средней и дистальной трети двенадцатиперстной, тощей, подвздошной, слепых и прямой кишок, которые фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. Всего материал отобран от 5 особей.

Для изготовления обзорных препара-

тов парафиновые гистосрезы окрашивали гематоксилином и эозином, для выявления аргирофильных апудоцитов – по Гримелиусу, аргентафинных – по Массону-Гамперлю [3]. Количество эндокриноцитов определяли с помощью окулярной морфометрической сетки с последующим пересчетом на 1 мм<sup>2</sup> площади поперечного среза слизистой оболочки кишки. Среднее количество эндокринных клеток в каждой кишке определяли как среднее от их количества в начальной, средней и последней трети. Оценку статистической достоверности количественных показателей осуществляли по критерию Стьюдента с использованием программы Microsoft Excel.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Эндокринный аппарат кишечника гусей 1,5-летнего возраста представлен апудоцитами, одиночно расположенные среди энтероцитов эпителиального слоя слизистой оболочки. При окраске по Гримелиусу аргирофильные клетки хорошо заметны на светло-желтом фоне структур стенки органа. Апудоциты расположены преимущественно одиночно на базальной мембране, имеют овальную, округлую, иногда удлинённую форму, более широкий базальный полюс. Большие светлые ядра занимают центральную часть клетки. При импрегнации азотнокислым серебром базальный полюс эндокринных клеток выявляется отчетливо, так как в нём сосредоточено наибольшее количество гранул; апикальный полюс просматривается не у всех клеток.

Распределение эндокриноцитов по участкам кишок тонкого и толстого отделов кишечника гусей неравномерно. У различных особей наблюдали существенные индивидуальные колебания их количества. В составе двенадцатиперстной кишки эндокриноциты локализованы только в нижней трети крипт, в тощей, подвздошной – на всей их глубине, в слепых и прямой кишке – еще и в эпителии

ворсинок. Общей закономерностью было постепенное увеличение количества апудоцитов в направлении от двенадцатиперстной к прямой кишке.

Среднее количество аргирофильных клеток в двенадцатиперстной и тощей кишке было примерно одинаково и составило  $24,95 \pm 4,27$  и  $25,52 \pm 5,07$  шт./мм<sup>2</sup>. В сравнении с предыдущей в ободочной кишке их количество увеличилось на 56,47 % – до  $39,93 \pm 9,99$ , в слепых кишках

на 30,75 % – до  $52,21 \pm 8,77$  и в прямой – в 2,06 раза ( $p \leq 0,01$ ) до  $107,65 \pm 4,27$  шт./мм<sup>2</sup> соответственно.

Среднее количество выявленных аргентафиновых апудоцитов также наименьшим было в двенадцатиперстной кишке –  $12,58 \pm 1,18$ , больше в тощей, подвздошной и слепых кишках –  $18,52 \pm 2,65$ ;  $19,80 \pm 2,83$  и  $23,30 \pm 5,92$  соответственно. В сравнении со слепыми, в прямой кишке их количество увеличилось в 3,28 раза –



Рис. 1. График содержания аргирофильных и аргентафиновых апудоцитов в кишечнике. Обозначения: кишки и их отделы - 1 – двенадцатиперстная, 2 – тощая, 3 – подвздошная, 4 – слепые, 5 – прямая; П – проксимальный, С – средний, Д – дистальный.



Рис. 2. График относительного содержания аргентафиновых апудоцитов в кишечнике. Обозначения: кишки и их отделы - 1 – двенадцатиперстная, 2 – тощая, 3 – подвздошная, 4 – слепые, 5 – прямая; П – проксимальный, С – средний, Д – дистальный.

до  $76,26 \pm 7,27$  ( $p \leq 0,01$ ).

Содержание аргентафинных клеток относительно всей эндокринноклеточной популяции наименьшим было в слепых кишках –  $43,88 \pm 4,85$  %, наибольшим в тощей и прямой кишках –  $74,07 \pm 4,56$  % и  $68,72 \pm 7,13$  %, в двенадцатиперстной и подвздошной имело средние показатели –  $52,22 \pm 5,72$  % и  $54,73 \pm 12,07$  %.

При более детальном исследовании установлено, что наименьшее количество аргирофильных и аргентафинных клеток содержится в средней части двенадцатиперстной кишки, соответственно  $17,41 \pm 4,04$  и  $10,31 \pm 5,24$  шт./мм<sup>2</sup>, наибольшее количество в проксимальном отделе прямой кишки –  $128,5 \pm 5,62$  и  $79,19 \pm 3,18$  соответственно (рис. 1).

Из графика видно, что кривая количества аргирофильных клеток, отражающих всю популяцию эндокриноцитов кишечника, имеет два пика максимальных значений – в среднем отделе подвздошной и проксимальном отделе прямой кишки, где их количество составило  $56,25 \pm 2,91$  и  $128,5 \pm 5,62$  соответственно. При этом количество апудоцитов несколько снижается от начального отдела двенадцатиперстной кишки и до середины тощей кишки имеет наименьшие значения – от  $17,41 \pm 4,04$  до  $32,18 \pm 4,62$  клеток. От середины тощей кишки до середины подвздошной кишки их количество постепенно увеличивается, а затем снова уменьшается к середине слепых кишок до  $37,13 \pm 1,76$ . Второй подъём количества эндокринных клеток начинается от середины слепых кишок, с наибольшими показателями в начальном отделе прямой кишки, после чего их количество несколько снижается до  $101,5 \pm 14,06$  в дистальном отделе.

Кривая графика количества выявленных аргентафинных клеток в целом повторяет кривую аргирофильных апудоцитов со слабо выраженным первым и чётко выраженным вторым пиком наибольших

значений, где их количество составило  $25,45 \pm 2,60$  и  $79,19 \pm 3,18$  соответственно.

График содержания аргентафинных апудоцитов относительного общей популяции эндокриноцитов кишечника описывается плавной синусоидой с двумя чётко выраженных пиками максимальных значений в проксимальном отделе тощей и среднем отделе прямой кишки, где их показатели составили соответственно  $81,93$  % и  $82,99$  % (рис. 2).

Минимальное относительное содержание выявляемых аргентафинных клеток отмечено в двенадцатиперстной кишке и от проксимального участка подвздошной до проксимального участка слепых кишок.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, исследование материала из нескольких отделов каждой кишки слизистой оболочки кишечника гусей позволило установить особенности гистографии эндокринноклеточной популяции. На всём протяжении от двенадцатиперстной до прямой кишки количество аргирофильных и аргентафинных эндокриноцитов плавно изменяется, обнаруживая две вершины с максимальными значениями и две – с минимальными. Максимальные и минимальные значения содержания апудоцитов не всегда соответствуют анатомическим границам кишок.

#### **Histotopography and density of distribution of the endocrine cells in gut epithelium of adult geese.**

**N. Kushch.**

#### **ABSTRACT**

The aim of the investigation was the ascertainment of the location and the content of the endocrine cells in the intestine of the adult geese. The 1,5 year old domestic geese (*Anser anser*) of Large Grey breed were used for the experiment. The material for histochemical investigations was taken from 5 geese, 3 pieces from the middle of proximal, medial and distal third of the duodenum,

jejunum, ileum, caecum and rectum. Paraffin histological sections were stained to detect argiophilic apud cells – by Grimelius, argentaffin ones – by Masson-Hamperl. The amount of endocrine cells were counted with the subsequent calculation per 1mm<sup>2</sup> of the square of the cross – cut of the mucous membrane of the gut. The endocrine apparatus of the gut is represented by apud cells located among enterocytes of the mucous membrane. The endocrine cells in the duodenum are only localized in the lower third of the crypt, in jejunum and ileum – along all their depth, in the caecum and rectum – also in the epithelium of the villus. The amount of argiophilic and argentaffin endocrine cells constantly increases in the direction from the duodenum to rectum with the maximum amount in the middle part of the ileum. The relative content of the visible argentaffin cells among the whole population of endocrine cells was the largest in the proximal third of the jejunum and in the middle third of the rectum 81,93 and 82,99 %, respectively and the least amount was in the initial compartment of the duodenum – 40,89 % as well as in the ileum and caecum 40,24 – 52,00 %. Maximum and minimal values of the content of the apud cells do not always correspond to the anatomical borders of the

intestine.

**Key words:** geese, gut, endocrine cells, APUD-system, argiophilic and argentaffin cells.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дисперсная эндокринная система и концепция APUD / И. В. Мильто, И. В. Суходоло, Е. А. Геренг, Л. А. Шамардина // Морфология. – 2011. – Т. 139. – № 2. – С. 80-88.
2. Костюкевич С. В. Гистотопография эндокринных клеток эпителия слизистой оболочки толстой кишки у млекопитающих животных и человека / С. В. Костюкевич // Цитология. – 2004. – Т. 46. – № 8. – С. 714–718.
3. Микроскопическая техника : Руководство / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
4. Яглов В. В. Нерешённые проблемы нормальной и патологической морфологии диффузной эндокринной системы / В. В. Яглов, Н. В. Яглова // Архив патологии. – 2011. – № 5. – С. 58-62.
5. Castaldo L. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic duck / L. Castaldo, C. Luchini // Eur. J. Bas. Appl. Histochem. – 1991. – Vol. 35. – P. 131-143.

УДК 616.091:579.842.14:636.4

## ПАТОМОРФОЛОГИЯ ПНЕВМОНИИ У ПОРОСЯТ ПРИ САЛЬМОНЕЛЛЁЗЕ, ВЫЗВАННОМ *SALMONELLA TYPHI SUIIS* И *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

Лаковников Е.А. – профессор кафедры патологической анатомии,  
Жданова Ю.А. – аспирант кафедры патологической анатомии  
Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины

#### РЕФЕРАТ

При патологоанатомическом вскрытии трупов павших от сальмонеллёза у поросят обнаруживают пневмонии острого катарального или катарально-гнойного характера. У животных, погибших от сальмонеллёза, вызванного *Salmonella typhi suis*, в отличие от сальмонеллёза, вызванного *Salmonella typhimurium*, поражения лёгких характеризуются глубокими деструктивными изменениями в результате прогрессирующей гнойной пневмонии с некротизацией значительных участков легкого. В отдельных случаях при гибе-

ли от заражения *Salmonella typhi suis* наблюдали сочетание различных экссудативных вариантов воспаления лёгких. По нашему мнению такие изменения возникают из-за более затяжного течения болезни, нежели в случаях сальмонеллёза, вызванного *Salmonella typhimurium*. Патологоанатомическая картина сальмонеллёза, вызванного *S. typhimurium*, несколько отличалась. В лёгких отмечали катаральную острую двустороннюю бронхопневмонию передних и средних долей. У большинства поросят воспаление лёгких сочеталось с воспалительным отёком. Плеврит был обнаружен только у одного животного. Бронхиальные и краниальные средостенные лимфоузлы гиперплазированы, серо-розового цвета, на разрезе влажные и блестящие.

**Ключевые слова:** сальмонеллёз, лёгкие, поросята, бронхопневмония.

### **ВВЕДЕНИЕ**

При патологоанатомическом вскрытии трупов павших от сальмонеллёза (паратифа) поросят обращает на себя внимание наличие пневмоний острого катарального или катарально-гнойного характера, хотя сальмонеллёз является кишечной токсикоинфекцией [1].

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Для анализа патологических изменений в лёгких при сальмонеллёзе нами были отобраны образцы органов 10 поросят 2-3 месячного возраста из различных хозяйств Ленинградской области с типичной патологоанатомической картиной сальмонеллёза.

Кусочки внутренних органов (лёгкие с бронхиальными лимфоузлами, селезёнка, кишечник с лимфоузлами, печень) фиксировали в 10% нейтральном формалине и жидкости Карнуа. Одновременно отбирали материал от этих органов для бактериологического исследования с целью выделения и идентификации сальмонелл. Для гистологического исследования кусочки исследуемых органов заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4-6 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином, азур II-эозином, тионином по Николаю, по Мак-Манусу. Бактериологическое исследование проводилось в лаборатории по изучению сальмонеллёза в НИИ им. Л. Пастера: из лёгких, печени, селезёнки, лимфоузлов были выделены культуры *S. typhi suis* (6 поросят 3-4 месячного возраста) и *S. typhimurium* (4 по-

росята 2 месячного возраста).

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Макроскопическая картина сальмонеллёза, вызванного *S. typhi suis*, была довольно характерна. У животных отмечали двустороннюю лобарную или сливную катаральную, катарально-гнойную бронхопневмонию передних и средних долей, иногда с очагами гепатизации и фибринозного плеврита, серозный лимфаденит бронхиальных узлов. Патология лёгких выглядела следующим образом. Наблюдалась ярко выраженная двусторонняя пневмония или плевропневмония с лобарным или даже тотальным распространением патологического процесса, при этом чаще поражались краниальные и средние доли лёгких. Наиболее характерно сочетание нескольких типов экссудативного воспаления. Наблюдалась повышенную плотность поражения лёгких, в некоторых случаях бугристость поверхности серо-белого цвета, на разрезе встречались участки неправильной формы и различных размеров серовато-белого цвета с неразличимой структурой легочной ткани. Можно было обнаружить полости средних и малых бронхов с жидким серовато-зеленым содержимым, а также неоформленные участки ткани лёгкого грязно-серого цвета, напоминающие детрит, в некоторых случаях отмечали даже наличие каверн с рыхлым, серо-грязно-белого цвета содержимым. Если очаг поражения лёгкого примыкал к плевре, то воспаление переходило и на костальную плевру,

в результате чего в большинстве таких случаев обнаруживали в плевральной полости обильный экссудат с серо-белыми хлопьями, трудно снимающимися плотными наложениями на рёберной и костальной плевре, а также тотальное прирастание обоих лёгких к рёберным стенкам. При лобарной катарально-гнойной бронхопневмонии также встречались некротические очаги. Патологическому процессу в легких обязательно сопутствовало воспаление краниальных средостенных и бронхиальных лимфатических узлов. Узлы были резко гиперплазированы, серо-белого цвета, на разрезе в глубине обнаруживались очаги жёлто-белого цвета, плотноватые, диаметром до 5 мм.

Патологоанатомическая картина сальмонеллёза, вызванного *S. typhimurium*, несколько отличалась. Так, в легких отмечали катаральную острую двустороннюю бронхопневмонию передних и средних долей. В некоторых случаях обнаруживали бледно-серые, плотные и влажные очаги поражения с участками нагноения абсцедирующего характера. У большинства поросят воспаление лёгких сочеталось с отёком. Плеврит был обнаружен только у одного животного. Бронхиальные и краниальные средостенные лимфоузлы гиперплазированы, серо-розового цвета, на разрезе влажные и блестящие.

Гистологические изменения в долях лёгких были различными. Так, рядом с пневмоническими очагами располагались дольки с признаками ателектатического характера. Такие дольки соседствовали с участками легочной ткани в состоянии острой альвеолярной эмфиземы. При исследовании ткани пневмонических участков долек отмечены яркие инфильтративные процессы. Отчетливо выявлялись признаки гиперемии и отёка. Контуры альвеол были плохо различимы, так как они практически безвоздушны и заполнены лейкоцитами (нейтрофилами, макро-

фагами, моноцитами) и эритроцитами. В цитоплазме макрофагов, особенно крупных, находились фагоцитированные микроорганизмы. Признаки воспаления отмечались в бронхиолах, эпителий которых был набухший, десквамирующийся, между эпителиоцитами располагались нейтрофилы, лимфоциты, макрофаги, которые находились также и в отёчном субэпителиальном слое. В субэпителиальном слое среди названных клеток заметны палочки и кокки (некоторые палочки в виде запятой).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Данные патогистологические изменения в различных долях лёгкого являются свидетельством прогрессирующей катарально-гнойной бронхопневмонии. У поросят, погибших от сальмонеллёза, вызванного *S. typhi suis*, в отличие от сальмонеллёза, вызванного *S. typhimurium*, поражения лёгких характеризуются глубокими деструктивными изменениями в результате прогрессирующей гнойной пневмонии с некротизацией значительных участков легкого. Такие изменения, по нашему мнению, возникают из-за более затяжного течения болезни, нежели в случаях сальмонеллёза, вызванного *S. typhimurium*.

**Pathomorphology pneumonia of piglets in salmonellosis caused by *Salmonella typhi suis* and *Salmonella typhimurium*.**

**E. Lakovnikov, Y. Zhdanova.**

### **ABSTRACT**

At postmortem autopsy corpses died of Salmonella in pigs discover pneumonia acute catarrhal or catarrhal - purulent nature. The animals that died from Salmonella infection caused by Salmonella typhi suis, unlike salmonellosis caused by Salmonella typhimurium, lung lesions are characterized with deep destructive changes as a result of progressive purulent pneumonia with necrosis great parts of the lung. In some cases death from infection with Salmonella typhi suis observed a combination of different

ekssoudativen options pneumonia. In our opinion, such changes are due to a more protracted course of the disease than in cases of salmonellosis caused by *Salmonella typhimurium*. pathologic picture of salmonellosis caused by *S. typhimurium*, is somewhat different. In light noted catharral acute bilateral bronchopneumonia front and average shares. The majority of pigs pneumonia was associated with inflammatory edema. Pleurisy was detected in only one animal. Bronchial and

cranial mediastinal lymph nodes hyperplasia, gray-pink color, the cut wet and shiny.

**Key words:** salmonellosis, lungs, piglets, bronchopneumonia.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Лаковников Е.А., Жданова Ю.А. Патоморфология пневмонии у поросят при сальмонеллезе, вызванном *Salmonella typhi suis* и *Salmonella typhimurium*. // Ветеринарная практика. -2013. -№4 (63). – С. 35-36.

УДК:[616-005.1- 08:616.12- 008.331.1]:615.22

## **АНТИАГРЕГАЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ НАД ТРОМБОЦИТАМИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ**

Медведев И. Н. - д.м.н., профессор, зав.кафедрой адаптивной физической культуры и медико-биологических наук, Нагорная О.В. – к.б.н., соискатель кафедры адаптивной физической культуры и медико-биологических наук, Завалишина С. Ю. – к.б.н., доцент, доцент кафедры адаптивной физической культуры и медико-биологических наук, Курский институт социального образования



#### **РЕФЕРАТ**

Изучение особенностей антиагрегационного сосудистого контроля над тромбоцитами у телят в фазу новорожденности представляет интерес не только для фундаментальной науки, но и для практики, дав в ее распоряжение нормы, необходимые для мониторинга состояния антиагрегационных свойств сосудов у новорожденных телят при отдельных заболеваниях и при оценке эффективности различных подходов к их коррекции. Цель работы – выявить выраженность антиагрегационных свойств сосудов в отношении тромбоцитов у телят в фазу новорожденности. Исследование выполнено на 32 телятах черно-пестрой породы, взятых под наблюдение на 1-2 сутки жизни. Анализы у животных проводились в течение фазы новорожденности пятикратно – на 1-2, 5-6 и 9-10 сутки жизни. Применены биохимические, гематологические и статистические методы исследования. У наблюдаемых животных найдена невысокая активность перекисного окисления липидов плазмы, имеющая тенденцию к снижению в течение срока наблюдения. У всех телят в течение новорожденности отмечена тенденция к усилению агрегации тромбоцитов и тенденция к ее замедлению в пробе с временной венозной окклюзией. В течение фазы новорожденности у телят отмечается легкая тенденция к повышению агрегации тромбоцитов при небольшом повышении антиагрегационных свойств сосудистой стенки. У животных выявлена тенденция к повышению с возрастом индексов антиагрегационной активности сосудистой стенки со всеми индукторами и их сочетаниями. Оптимальность соотношения про- и

антиагрегационных явлений в крови новорожденных телят во многом является залогом нормального дебюта их онтогенеза.

**Ключевые слова:** телята, фаза новорожденности, тромбоциты, сосуды, антиагрегация.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Непрерывная циркуляция крови по сосудам является физиологической основой обеспечения газообмена доставки тканям питательных и биологически активных веществ и удаление из них токсинов и шлаков [2]. В основе гемоциркуляции лежит баланс про- и антиагрегационных явлений в первичном гемостазе, особенно в сосудах наименьшего калибра, что во многом связано с агрегацией тромбоцитов, выраженность которой находится под постоянным контролем со стороны сосудистой стенки [1]. Известно, что избыточная агрегация тромбоцитов может нарушать метаболические процессы и задерживать развитие животных [8]. Изучение особенностей антиагрегационного сосудистого контроля над тромбоцитами у телят в фазу новорожденности представляет интерес не только для фундаментальной науки, но и для практики, дав в ее распоряжение нормы, необходимые для мониторинга состояния антиагрегационных свойств сосудов у новорожденных телят при отдельных заболеваниях [5] и при оценке эффективности различных подходов к их коррекции.

В работе поставлена цель – выявить выраженность антиагрегационных свойств сосудов в отношении тромбоцитов у телят в фазу новорожденности.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Статья выполнена на материалах обследования 32 телят черно-пестрой породы, взятых под наблюдение на 1-2 сутки жизни. Анализы у животных проводились в течение фазы новорожденности пятикратно – на 1-2, 5-6 и 9-10 сутки жизни.

Выраженность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме оценивалась по содержанию тиобарбиту-

ровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором „Агат-Мед” и ацилгидроперекисей (АГП) [4]. Антиокислительный потенциал жидкой части крови определялся по ее антиокислительной активности (АОА) [3].

Агрегацию тромбоцитов (АТ) оценивали с помощью визуального микрометода [9] до и после венозной окклюзии [1] с применением АДФ ( $0,5 \times 10^{-4}$  М), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина (0,125ед/мл), ристомидина (0,8 мг/мл), адреналина ( $5,0 \times 10^{-6}$  М) и перекиси водорода ( $7,3 \times 10^{-3}$  М) и богатой тромбоцитами плазмы со стандартизированным количеством тромбоцитов  $200 \times 10^9$  тр. Индекс антиагрегационной активности сосудистой стенки (ИААСС) рассчитывали при делении времени развития АТ после временной венозной окклюзии на время без нее [1].

Статистическая обработка полученных результатов велась t-критерием Стьюдента.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Из данных таблицы 1 у наблюдаемых животных найдена невысокая активность ПОЛ плазмы, имеющая тенденцию к снижению в течение срока наблюдения – содержание в ней АГП уменьшилось с  $1,53 \pm 0,26$  Д<sub>233</sub>/1 мл до  $1,42 \pm 0,31$  Д<sub>233</sub>/1 мл, ТБК-активных продуктов с  $3,62 \pm 0,12$  мкмоль/л до  $3,48 \pm 0,24$  мкмоль/л при увеличении АОА на 4,2% (с  $32,0 \pm 0,42\%$  до  $33,4 \pm 0,28\%$ ).

У всех телят в течение новорожденности отмечена тенденция к усилению агрегации тромбоцитов и тенденция к ее замедлению в пробе с временной венозной окклюзией. Это указывало у наблюдаемых телят на постепенное усиление у них контроля стенки сосуда над тромбоцитарной агрегацией, о чем можно было

Таблица 1

Антиагрегационная активность сосудов в отношении тромбоцитов у новорожденных телят

Определяемые показатели	Фаза новорожденности, n=32, M±m		
	1-2 сут. жизни	5-6 сут. жизни	9-10 сут. жизни
ИААСС с АДФ	1,6±0,0	1,6±0,0	1,7±0,0
ИААСС с коллагеном	1,6±0,0	1,6±0,0	1,6±0,0
ИААСС с тромбином	1,5±0,0	1,5±0,0	1,5±0,0
ИААСС с ристомицином	1,5±0,0	1,5±0,0	1,5±0,0
ИААСС с адреналином	1,6±0,0	1,6±0,0	1,6±0,0
ИААСС с АДФ+адреналином	1,4±0,0	1,4±0,0	1,4±0,0
ИААСС с АДФ и коллагеном	1,3±0,0	1,3±0,0	1,3±0,0
ИААСС с адреналином и коллагеном	1,5±0,0	1,5±0,0	1,5±0,0

судить по найденной тенденции к увеличению ИААСС, достигших у животных к 9-10 суткам жизни: для адреналина 1,64±0,008, для АДФ 1,65±0,004, для коллагена 1,62±0,008, для тромбина 1,53±0,006, для ристомицина 1,52±0,004. При сочетанном применении индукторов индексы антиагрегационной активности сосудистой стенки также имели склонность к увеличению (табл.).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Важную роль в обеспечении гемостатических и реологических свойств крови у телят в течение новорожденности принадлежит агрегации тромбоцитов [5,6]. Имеющая стабильно высокий уровень АОО плазмы обеспечивает невысокую в ней активность ПОЛ [3,7]. Низкая интенсивность свободнорадикальных процессов в плазме незначительно влияет на мембраны тромбоцитов, которые в данных условиях проявляют невысокую агрегабельность, а также на эндотелиоциты, что обеспечивает высокую их функциональную активность.

Выраженное торможение АТ и тенденция к повышению чувствительности тромбоцитов, в т.ч. к дезагрегирующим воздействиям со стороны сосудистой стенки у телят в течение первых 10 суток жизни имеет во многом в своей основе

оптимальность выработки в сосудах простаглицлина и NO за счет невыраженности ПОЛ плазмы. Невысокая АТ в ответ на ристомицин у телят было обусловлено невыраженной выработкой эндотелии сосудов фактора Виллебранда [9]. Стабильная длительность АТ с сочетаниями индукторов и количества агрегатов тромбоцитов в крови телят до и после венозной окклюзии указывала на постоянство нормальных сосудисто-тромбоцитарных взаимодействий у животных в течение первых 10 суток жизни в условиях близких к реальным.

Для новорожденных телят свойственна слабая тенденция к усилению агрегации тромбоцитов.

В течение новорожденности у телят она эффективно ограничивается усиливающимся дезагрегационным контролем со стороны сосудистой стенки над тромбоцитами.

### **Antiaggregation controls vascular wall on platelet in neonatal calves.**

**I. Medvedev, O. Nagornaya, S. Zavalishina.**

### **ABSTRACT**

Study of the peculiarities of antiaggregation vascular control of platelets in calves in phase neonatal is of interest not only for fundamental science, but for the practice of

giving it the necessary norms for monitoring the state of antiaggregation properties vessels in newborn calves in the individual diseases and in assessing the effectiveness of various approaches to their correction. The aim of this study was to identify the severity of antiaggregation properties of the vessels on the platelets of calves in the phase after birth. The research was made on 32 calves black-motley breed, taken under observation for a 1-2 day life. Tests in animals were conducted during phase neonatal fivefold - 1-2, 5-6 and 9-10 day life. Applied biochemical, hematological and statistical methods of research. Applied biochemical, hematological and statistical methods of research. In the observed animals found low activity of peroxide oxidation of lipids, plasma, which tends to decrease during the period of observation. All the calves during the neonatal period is marked by the tendency to increase platelet aggregation and a tendency to slow down in the sample with temporary venous occlusion. During the phase of neonatal calves observed easy tendency to increase platelet aggregation with a small increase antiaggregation properties of the vascular wall. In animals there is a tendency to increase with age indexes antiaggregation activity of the vascular wall with all inducers and combinations of them. Optimal balance of pro-and antiaggregation phenomena in blood of newborn calves in many ways is key to the smooth debut of their ontogeny.

**Key words:** calves, a phase of gait, platelets, blood vessels, antiaggregation.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Балуда В.П., Соколов Е.И., Балуда М.В. Манжеточная проба в диагностике функционального состояния сосудистого звена системы гемостаза // Гематология и трансфузиология. –1987. – № 9. – 51–53.
2. Ватников Ю.А., Курнявко Н.Ю., Порфирьев И.А. Проблемы интенсификации воспроизводства крупного рогатого скота // Ветеринария сельскохозяйственных животных. –2009. –№10. –С.4-12.
3. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск. –2000. –167с.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. – 1983. – №3. – С. 33-36.
5. Завалишина С.Ю., Глаголева Т.И. Контроль сосудистой стенки над индуцированной агрегацией тромбоцитов у новорожденных телят в условиях дефицита железа // Ветеринарная практика. –2013. – №2(61). –С. 40-42.
6. Завалишина С.Ю., Глаголева Т.И., Медведев И.Н. Антиагрегационные возможности сосудов у новорожденных телят с дефицитом железа на фоне ферроглюкина и гамавита // Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса. –2013. –№2(15). –С. 3-5.
7. Завалишина С.Ю., Глаголева Т.И., Медведев И.Н. Гемостатическая активность сосудов у новорожденных телят с дефицитом железа на фоне применения ферроглюкина и крезацина // Ветеринария. –2013. –№6. –С. 47-49.
8. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях // Российский кардиологический журнал. – 2009. –№ 5. – С. 42-45.
9. Шитикова А.С. Визуальный микрометод исследования агрегации тромбоцитов. В кн. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний; под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. –СПб. –1999. –С. 49-53.

## ПОЗВОНОЧНАЯ АРТЕРИЯ КАК ОДИН ИЗ ПУТЕЙ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА У ТАКСЫ

Прусаков А.В. - к.в.н., доцент кафедры анатомии животных, Вирунен С. В. - к.в.н., ассистент кафедры анатомии животных

Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



### РЕФЕРАТ

Для изучения хода и ветвления позвоночной артерии у таксы проводили инъекцию сосудистого русла рентгеноконтрастной массой через грудную аорту. В качестве инъекционной массы использовали модифицированную массу Кульчицкого К.И. (взвесь свинцового сурика в скипидаре с добавлением спирта этилового и глицерина). После инъекции материал фиксировали в 10 % растворе формалина в течение 5 суток. После окончания фиксации производили рентгенографию полученных препаратов на установке Dехowin DX-3000 при напряжении на трубке 60 кВт, силе тока – 1 мА, фокусном расстоянии 0,8 мм и экспозиции 0,5-1 секунд. Было установлено, что позвоночная артерия у таксы является первым сосудом, отходящим от подключичной артерии. Выйдя из грудной полости, она направляется в поперечный канал, образованный поперечными отверстиями шейных позвонков. В составе этого канала в каждом сегменте она отдает дорсальную, вентральную и спинномозговую ветви и достигает атланта, где анастомозирует с затылочной артерией и получает название спинномозговой артерии. Правая и левая спинномозговые артерии проникают внутрь позвоночного канала через межпозвоночные отверстия атланта. На основании продолговатого мозга они сливаются друг с другом, образуя основную артерию мозга. До слияния каждая спинномозговая артерия отдает каудальную ветвь. Эти ветви сливаются, образуя вентральную спинномозговую артерию. Таким образом, на вентральной поверхности продолговатого мозга у таксы образуется кольцо ромбовидной формы («артериальный круг Захарченко»). Наличие этого кольца обеспечивает равномерное распределение кровотока, как в шейном отделе спинного мозга, так и в ромбовидном мозге. От дорсальной стенки каждой позвоночной артерии берет начало дорсальная спинномозговая артерия. В одном из случаев мы наблюдали отхождение этих сосудов от каудальных артерий мозжечка.

Ключевые слова: позвоночная артерия, спинной и головной мозг, такса.

### ВВЕДЕНИЕ

Головной и спинной мозг в совокупности составляют центральную нервную систему, которая координирует работу всех органов и систем организма, обеспечивая тем самым его целостность и гармоничное взаимодействие с окружающей средой [1,2]. Проблема детального кровоснабжения нервной системы многие годы вызывала интерес у большого числа ис-

следователей [1,2,3,4,5,6]. Точные знания об видовых особенностях ее кровоснабжения имеют не только теоретическое, но и важное практическое значение. Это напрямую связано с тем, что в большинстве стран ближнего и дальнего зарубежья в общей статике заболеваний и падежа животных болезни сосудов центральной нервной системы занимают одно из первых мест. Помимо этого анатомические

исследования сосудистой системы центральной нервной системы помогают в проведении физиологических исследований, касающихся ее гемодинамики и терморегуляции.

Проанализировав доступные нам источники литературы, мы нашли всего лишь краткие данные о морфологических особенностях сосудистого русла этих органов у некоторых видов животных. При этом мы не встретили ни одного сообщения о морфологии артериальных источников кровоснабжения центральной нервной системы у таксы.

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Данное исследование проводили на трупах шести такс в возрасте от 10 до 12 лет, доставленных на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВПО СПбГАВМ. Для изучения хода и ветвления позвоночной артерии проводили инъекцию сосудистого русла рентгеноконтрастной массой через грудную аорту.

Рентгеноконтрастную инъекционную массу готовили по прописи Кульчицкого К.И. и др. (1983) в нашей модификации. Данная масса представляет собой взвесь свинцового сурика в скипидаре со спиртом этиловым ректифицированным и глицерином, добавленными для предотвращения расслаивания инъецируемой массы.

Для получения на рентгеновском снимке наиболее точной и полной картины кровеносное русло заполняли дважды, при этом первую порцию массы готовили более жидкой консистенции для заполнения наиболее мелких сосудов, а вторую более густой консистенции. Вторую порцию вводили в сосудистое русло под большим давлением, чем первую, чтобы первая порция контрастной массы полностью заполнила все мелкие сосуды.

После инъекции материал фиксировали в 10 % растворе формалина в течение 5 суток для лучшего заполнения мелких сосудов. По истечении пятидневной фик-

сации производили рентгенографию полученных препаратов на установке Dexowin DX-3000 при напряжении на трубке 60 кВт, силе тока – 1 мА, фокусном расстоянии 50 см и экспозиции 0,5-1 секунд. Для снимков использовали пленку Kodak, которую подвергали обработке общепринятыми методами.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Установили, что позвоночная артерия – *a. vertebralis* ( $1,69 \pm 0,24$  – здесь и далее измерение диаметра приводятся в миллиметрах) у таксы является первым сосудом, отходящим от подключичной артерии. Она покидает грудную полость на уровне шейки первого ребра и проходит по медиальной поверхности лестничной мышцы. Достигнув шестого шейного позвонка, она погружается вместе с одноименной веной в поперечный канал, образованный поперечными отверстиями шейных позвонков.

В составе поперечного канала позвоночная артерия у таксы достигает атланта. На этом отрезке в каждом сегменте она отдает три ветви. Дорсальные ( $0,54 \pm 0,13$ ) и вентральные ( $0,49 \pm 0,11$ ) мышечные ветви – *rr. musculares dorsalis et ventralis* снабжают кровью соответствующие группы мышц позвоночного столба. Спинномозговые ветви – *г. spinalis* ( $0,26 \pm 0,07$ ) проникают в позвоночный канал через межпозвоночные отверстия. В позвоночном канале спинномозговые ветви анастомозируют с вентральной спинномозговой артерией, участвуя тем самым в кровоснабжении шейной части спинного мозга и его оболочек. Помимо этого спинномозговые ветви позвоночной артерии у таксы отдают ряд мелких ветвей, которые снабжают кровью позвонки и связки позвоночного столба. Дорсальная мышечная ветвь, расположенная между вторым и третьим шейными сегментами, имеет наибольший диаметр. Под названием краниальной шейной ветви – *г. cervicalis cranialis* ( $0,98 \pm 0,17$ ) она подни-

мается дорсально и разветвляется в мышцах затылочно-атлантного и атлантоосевого суставов. Своими конечными ветвями краниальная шейная ветвь анастомозирует с глубокой шейной артерией, замыкая тем самым кольцо коллатерального кровообращения в области шеи.

Достигнув первого шейного позвонка, позвоночная артерия анастомозирует с затылочной артерией и получает название спинномозговой артерии – *a. cerebros spinalis* ( $1,01 \pm 0,19$ ). Правая и левая спинномозговые артерии, прободая твердую мозговую оболочку, проникают внутрь позвоночного канала через соответствующие межпозвоночные отверстия атланта. В дальнейшем правая и левая спинномозговые артерии на основании продолговатого мозга сливаются друг с другом. В результате образуется основная артерия мозга – *a. basilaris cerebri* ( $1,19 \pm 0,27$ ). До слияния каждая спинномозговая артерия отдает каудальную ветвь – *r. caudalis* ( $0,56 \pm 0,15$ ) в сторону срединной борозды продолговатого мозга. В результате слияния этих ветвей образуется вентральная спинномозговая артерия – *a. spinalis ventralis* ( $0,45 \pm 0,12$ ). Таким образом, на вентральной поверхности продолговатого мозга у таксы образуется кольцо ромбовидной формы. При этом передний угол этого ромба представлен началом основной артерии мозга, а задний – вентральной спинномозговой артерией. В медицинской литературе данное артериальное кольцо носит название «артериального круга Захарченко». Наличие этого кольца обеспечивает равномерное распределение кровотока, как в шейном отделе спинного мозга, так и в ромбовидном мозге.

Основная артерия мозга у таксы направляется в заднюю черепную ямку в составе вентральной борозды продолговатого мозга и мозгового моста. Она сообщается с внутренними сонными артериями посредством системы анастомозов, образующих артериальный круг основа-

ния головного мозга. Таким образом, позвоночные артерии не только обеспечивают приток артериальной крови в заднюю черепную ямку, мозжечок и ствол головного мозга, но и участвуют в васкуляризации переднего отдела мозга, обеспечивая компенсацию в случае снижения артериального притока от внутренних сонных артерий.

Вентральная спинномозговая артерия проходит вместе с одноименной веной в составе вентральной продольной щели спинного мозга. На своем пути она анастомозирует со спинномозговыми ветвями сегментальных сосудов туловища и является у таксы одним из источников кровоснабжения спинного мозга.

В позвоночном канале от дорсальной стенки каждой позвоночной артерии берет начало дорсальная спинномозговая артерия – *a. spinalis dorsalis* ( $0,35 \pm 0,09$ ). В одном из случаев мы наблюдали отхождение этих сосудов от каудальных артерий мозжечка. Дорсальные спинномозговые артерии проходят по дорсальной поверхности спинного мозга в составе его дорсальных боковых борозд. В каждом нейросегменте правая и левая дорсальные спинномозговые артерии анастомозируют с вентральной спинномозговой артерией. В результате этого вокруг тканей спинного мозга образуется сосудистый венец – *vasa corona*.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

- В кровоснабжении шейной части спинного мозга таксы принимают участие спинномозговые ветви позвоночной артерии.
- Вентральная спинномозговая артерия у таксы образуется путем слияния каудальных ветвей правой и левой спинномозговых артерий.
- В результате ветвления спинномозговой артерии в составе позвоночного канала у таксы на основании продолговатого мозга образуется артериальное кольцо, необходимое для равномерного распре-

деления кровотока.

- Основная артерия мозга у таксы сообщается с внутренними сонными артериями посредством системы анастомозов, образующих артериальный круг основания головного мозга. В результате этого данная артерия может компенсировать кровоснабжение конечного мозга в случае снижения артериального притока от внутренних сонных артерий.

#### **ABSTRACT**

To investigate the course and branching of the vertebral artery of taxes ordinary conducted an injection of a vascular channel radiopaque mass through the thoracic aorta. As the injected mass used a modified lot Kulchytsky K.I. (suspended lead minium in turpentine with the addition of ethyl alcohol and glycerin). After the injection, the material was fixed in 10 % formalin for 5 days. After fixing produced x-rays obtained at the facility Dexowin DX-3000 when the voltage on the tube, 60 kW, the strength of current of 1 mA, the focal distance of 0.8 mm and exposure of 0.5-1 seconds. It was found that vertebral artery of fees is the first vessel, extending from the subclavian artery. Coming out of the chest cavity, it is directed to the transverse channel, formed by lateral holes of the cervical vertebrae. Part of this channel in each segment, it gives the dorsal, ventral and spinal branches and reaches Atlanta, where анастомозирует with occipital artery and receives the name of a spinal artery. Right and left spinal artery penetrate into the spinal canal through the spinal holes Atlanta. On the basis of the medulla oblongata they melt into each other, forming the main artery of the brain. Before the merger, each spinal artery gives the election branch. These branches are merged, forming the ventral spinal artery. Thus, on the ventral surface of the medulla oblongata of the fees ring, diamond-shaped form (the«arterial circle Zakharchenko»). The presence of this ring provides uniform distribution of blood flow, as in the cervical Department of a spi-

nal cord, and rhombic brain. From dorsal walls of each of the vertebral artery originates dorsal spinal artery. In one of the cases we observed the discharge of these vessels from caudalis cerebella arteries.

**Key words:** vertebral artery, spinal cord and brain, dachshund.

**Vertebral artery, an alternative way of blood supply of the brain and spinal cord dachshund.**

**A. Prusakov., S. Verunen.**

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Зеленецкий Н.В., Стекольников А.А. Практикум по ветеринарной анатомии. – СПб «Логос». -2006. – 160с.
2. Зеленецкий Н.В., Хонин Г.А. Анатомия собаки и кошки. – СПб «Логос». - 2004. – 344с.
3. Зеленецкий Н.В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура. Пятая редакция. СПб «Лань». -2013.
4. Хрусталева И.В., Михайлов Н.В., Шнейберг Я.И. Анатомия домашних животных. М.: Колос. -1994. – 704с.
5. Немировская Т.А. и др. Удвоенная среднемозговая артерия: анализ литературы и описание клинических наблюдений // Российский нейрохирургический журнал им. Проф. А.Л. Поленова. -2013. – Т.5. - №2. -46с.
6. Горбунов А.В. Морфогенез и варианты развития артерий головного мозга человека. -Астрахань-Тамбов: Центр-Пресс. - 2008.
7. Kimura T. Treatment of unruptured aneurism of duplication of middle cerebral artery. — 2010. — № 50. — P. 124 - 126.

## ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У КОРОВ

Зоткин Г. В. - к.в.н., ведущий научный сотрудник, Косорлукова З.Я. - к.в.н., заместитель директора по научной работе, Яшин И. В. - к.б.н., старший научный сотрудник, Блохин П.И. - к.б.н., старший научный сотрудник  
НИВИ НЗ Россельхозакадемии



### РЕФЕРАТ

Целью исследований являлось изучение влияния композиции органических кислот в отдельности и в сочетании с биологически активными веществами на ряд показателей неспецифической резистентности коров в сухостойном и послеродовом периодах. Эксперименты выполнены

в ГНУ НИВИ НЗ Россельхозакадемии и в условиях базового хозяйства Нижегородской области на четырёх группах коров чёрно-пестрой породы (две опытные группы и две контрольные). В соответствии с разработанными схемами коровам первой опытной группы применялось композиционное средство из органических кислот Био-ЛЯС, животным второй опытной группы – Био-ЛЯС в сочетании с поливитаминным препаратом тетрагидровит, сбалансированным комплексом седимин, биогенным стимулятором АСД ф-2 и тканевым препаратом ПДЭ; коровам первой контрольной группы применялись средства, аналогично второй опытной группе, за исключением Био-ЛЯС, животные второй контрольной группы были интактными. Контроль за состоянием показателей неспецифической резистентности животных осуществлялся лабораторными исследованиями крови за 61-63, 20-23 дня до отёла и спустя 12-15 дней после отёла. Установлено, что применение в критические периоды в цикле воспроизводительной функции коров (запуск, предродовой период) композиционного средства Био-ЛЯС в отдельности или в сочетании с тетрагидровитом, седимином, ПДЭ и АСД ф-2 способствует повышению уровня неспецифической резистентности животных. Это выражалось повышением после отёла коров опытных групп бактерицидной активности сыворотки крови на 38,4-38,9%, лизоцимной активности сыворотки крови – на 70-84,5%, фагоцитарной активности нейтрофилов – на 39,6-39,9%, фагоцитарного индекса – в 2,4-2,5 раза, фагоцитарного числа – в 1,75-2,0 раза и фагоцитарной ёмкости – в 1,7-1,9 раза по сравнению с интактными животными.

**Ключевые слова:** коровы, органические кислоты, биологически активные вещества, неспецифическая резистентность, сухостойный и послеродовой периоды.

### ВВЕДЕНИЕ

Восприимчивость животных к заболеваниям зависит от состояния естественной резистентности организма, выработанной в процессе эволюции [4]. Изуче-

ние влияния биологически активных веществ на её показатели является важным аспектом при разработке средств и способов профилактики болезней. В этой связи, целью настоящих исследований было

изучение влияния композиции органических кислот в отдельности и в сочетании с биологически активными веществами на ряд показателей неспецифической резистентности коров в сухостойном и послеродовом периодах.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Работа выполнена в лаборатории физиологии и патологии размножения и болезней молодняка крупного рогатого скота ГНУ НИВИ НЗ Россельхозакадемии и в условиях базового хозяйства Нижегородской области на коровах чёрнопестрой породы с годовым удоем 4200 кг. Для проведения исследований по принципу аналогов формировались две опытные и две контрольные группы коров перед запуском (за 61-63 дня до отёла) по 14 голов в каждой. Запуск коров осуществлялся постепенно в течение 10 дней.

Коровам первой опытной группы в течение 10 дневного периода запуска и в течение 10 дней перед отёлом скармливалось композиционное средство Био-ЛЯС в дозе 20 мг/кг живой массы один раз в сутки. Животным второй опытной группы также скармливалось композиционное средство Био-ЛЯС и, кроме того, за 1-3 суток до запуска внутримышечно вводились по 10 мл/гол. седимин и 10% взвесь АСД ф-2 на тетрагидроците. За 30 дней до отёла повторялось внутримышечное введение 10% взвеси АСД ф-2 на тетрагидроците. В день отёла подкожно однократно вводился препарат ПДЭ в дозе 20 мл/гол и внутримышечно седимин в дозе 10 мл/гол., на третий и пятый дни послеродового периода повторялось введение препарата ПДЭ.

Коровам первой контрольной группы применялись препараты аналогично второй опытной группе, за исключением Био-ЛЯС, животные второй контрольной группы были интактными.

Контроль за состоянием показателей неспецифической резистентности животных осуществлялся лабораторными исследованиями крови за 61-63, 20-23 дня до

отёла и спустя 12-15 дней после отёла по следующим показателям: бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) – по О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой [5], лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК) – по В.Г. Дорофейчук [1], фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) – по В.С. Гостеву [3], фагоцитарный индекс (ФИ) – средним числом фагоцитированных микробов одним активным лейкоцитом [2], фагоцитарное число (ФЧ) – путем деления числа фагоцитированных бактерий на общее число подсчитанных лейкоцитов (100) [2], фагоцитарная емкость (ФЁ) – умножением фагоцитарного числа на количество лейкоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови [2].

При статистической обработке данных производился расчёт среднего арифметического и его стандартной ошибки. Для оценки достоверности полученных результатов использовался t-критерий Стьюдента.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Результаты исследований показателей неспецифической резистентности организма подопытных коров представлены в таблице.

Как видно из данных таблицы, показатели бактерицидной активности сыворотки крови коров всех групп при первом исследовании (перед запуском) были очень высокими в сравнении с приводимыми в литературе данными [4]. Это свидетельствует о напряжении гуморальных факторов неспецифической резистентности организма. При втором исследовании крови за 20-23 дня до отёла, у животных первой и второй опытных групп отмечено снижение уровня БАСК в пределах 11,0 ( $p \leq 0,001$ ) и 10,6% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно относительно исходного показателя, что расценивается как снятие в определенной степени напряжения, в то время в контрольных группах статистически значимого снижения не произошло и напряжение гуморальных факторов сохраня-

Таблица 1

Показатели неспецифической резистентности  
у подопытных коров

Показатели	Группы коров			
	1-я опытная	2-я опытная	1-я контр.	2-я контр.
БАСК, %	92,8±1,9	91,5±2,0	93,2±2,1	91,5±1,9
	82,6±2,0***	81,8±2,4***	91,5±2,9	90,5±2,4
	82,9±1,9*	83,2±2,7*	74,8±4,5**	60,0±2,6
ЛАСК, %	4,1±0,2	4,1±0,5	4,2±0,8	4,2±0,4
	4,2±0,2*	4,2±0,6***	2,7±0,5	2,6±0,4
	5,5±0,5*	5,9±0,5*	5,0±0,4*	3,2±0,1
ФАН, %	83,0±1,5	83,7±1,1	85,6±1,7	83,4±1,5
	81,6±1,6	82,5±1,7***	79,8±2,5	77,5±1,4
	78,9±1,7*	79,1±1,5*	79,3±3,4*	56,5±3,0
ФИ, ф.м.к.	8,1±0,9	8,8±1,0	8,2±0,8	8,3±0,8
	7,9±1,1***	8,7±1,0*	5,5±0,6	4,7±0,5
	7,9±0,6*	8,1±1,0*	4,3±0,6	3,3±0,4
ФЧ, ф.м.к.	5,0±0,6	5,2±0,5	5,5±0,6	5,3±0,5
	5,0±0,6	5,2±0,5	4,5±0,5	4,0±0,4
	5,0±0,7***	5,7±0,6*	4,2±0,3**	2,8±0,4
ФЁ, тыс./мм <sup>3</sup>	49,0±1,5***	54,9±1,5	55,6±1,2	53,3±1,4
	47,2±1,4*	51,4±1,5*	39,0±1,4	36,0±1,1
	43,2±1,6*	47,9±1,3*	35,2±1,2*	25,4±1,2

Примечание: первая строка – показатели за 61-63 дня до отела, вторая – за 20-23 дня до отела, третья – 12-15 дни послеродового периода; \* $p \leq 0,001$ , \*\* $p \leq 0,01$ , \*\*\* $p \leq 0,05$  по сравнению со второй контрольной группой; ф.м.к. – фагоцитированные микробные клетки

лось.

На 12-15 дни после отёла у коров опытных групп показатели БАСК в сравнении с дородовым периодом практически не изменялись, оставаясь высокими, а у коров контрольных групп они снижались на 18,3-33,8%, что указывает на истощение гуморальных механизмов неспецифической защиты.

Лизоцимная активность сыворотки крови у подопытных коров всех групп перед запуском была на оптимальном физиологическом уровне, за 20-23 дня до отела у животных первой и второй контрольных групп отмечено её снижение на 35,1 ( $p > 0,05$ ) и 39,1% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно, в то время как в опытных группах она практически не изменялась. Через 12-15 дней после отела установлено повышение ЛАСК у коров всех групп, однако у

опытных животных ее уровень был выше в сравнении с первой контрольной группой на 9,8-19,0% ( $p > 0,05$ ), а со второй – на 70,2-84,5% ( $p \leq 0,001$ ), при этом показатель ЛАСК у коров во второй контрольной группе не достигал оптимального физиологического уровня.

Фагоцитарная активность нейтрофилов у всех подопытных коров перед запуском была на высоком физиологическом уровне, за 20-23 дня до отела и на 12-15 дни послеродового периода отмечено незначительное снижение ФАН у опытных и первой контрольной групп животных, в то время как у коров второй контрольной группы произошло более заметное её понижение – на 7,1% ( $p \leq 0,01$ ) в предродовом периоде и на 32,3% ( $p \leq 0,001$ ) в послеродовом периоде в сравнении с первоначальным уровнем, что

указывает на истощение клеточных факторов их защиты.

Индекс фагоцитоза перед запуском не имел статистически значимых различий на межгрупповом уровне, у коров опытных групп он и в последующем не претерпевал существенных изменений, в то время как у контрольных животных отмечено его значительное снижение – в первой контрольной группе на 32,6% ( $p \leq 0,05$ ) в предродовом периоде и на 47,3% ( $p \leq 0,001$ ) после родов, во второй контрольной группе – соответственно на 43,4 ( $p \leq 0,001$ ) и 61,0% ( $p \leq 0,001$ ) в сравнении с первоначальным уровнем, что указывает на угнетение поглотительной способности нейтрофилов (интенсивности фагоцитоза).

Фагоцитарное число у коров всех групп перед запуском было также на высоком физиологическом уровне. У животных опытных групп оно в последующем статистически значимо не изменялось; у коров первой контрольной группы в предродовом периоде ФЧ снижалось на 18,2% ( $p > 0,05$ ), а в послеродовом периоде – на 24,0% ( $p > 0,05$ ) по сравнению с первоначальным уровнем, у второй контрольной группы – соответственно на 25,7% ( $p > 0,05$ ) и 47,1% ( $p \leq 0,001$ ), что говорит о снижении активности (агрессивности) нейтрофилов.

Фагоцитарная ёмкость, характеризующая общую фагоцитарную активность крови, у коров всех групп перед запуском была на высоком уровне, что может свидетельствовать о мобилизации клеточных механизмов саногенеза; за 20-23 дня до отела и на 12-15 дни послеродового периода отмечено её снижение в первой и второй опытных группах на 3,7 ( $p > 0,05$ ) и 6,3% ( $p > 0,05$ ), 11,9 ( $p \leq 0,05$ ) и 12,9% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно, в первой и второй контрольных – на 29,8 ( $p \leq 0,001$ ) и 32,4% ( $p \leq 0,001$ ), 36,7 ( $p \leq 0,001$ ) и 52,4% ( $p \leq 0,001$ ) соответственно от первоначальных значений. Это свидетельствует о дос-

товерном снижении у животных контрольных групп уровня клеточного иммунитета в предродовом и послеродовом периодах.

Таким образом, установлено, что применение композиции органических кислот, как в отдельности, так и в сочетании с витаминно-минеральными средствами, биогенным стимулятором и тканевым препаратом способствует повышению неспецифического гуморального и клеточного иммунитета у коров в предродовом и послеродовом периодах, являющегося мощным механизмом защиты от воздействия неблагоприятных факторов.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Применение коровам в критические периоды цикла воспроизводительной функции (запуск, предродовой период) композиционного средства Био-ЛЯС, состоящего из лимонной, янтарной и аскорбиновой кислот в оптимальных соотношениях, в дозе 20 мг/кг живой массы один раз в сутки в течение 10 дней периода запуска и 10 дней перед родами, как в отдельности, так и в сочетании с биологически активными веществами, включающими седимин, тетрагидровит, АСД ф-2 и ПДЭ, способствует повышению уровня неспецифической резистентности. Это выражалось повышением после отёла у коров опытных групп БАСК на 38,4-38,9%, ЛАСК – на 70-84,5%, ФАН – на 39,6-39,9%, ФИ – в 2,4-2,5 раза, ФЧ – в 1,75-2,0 раза и ФЁ – в 1,7-1,9 раза по сравнению с интактными животными.

**The effect of biologically active substances on indices of nonspecific resistance of cows.**

**G. Zotkin, Z. Kosorlukova, I. Yashin, P. Blokhin.**

### **ABSTRACT**

Goal of investigations was to assess the effect of organic acid composition separately and in the combination with biologically active substances on some indices of the natural resistance of cows in the dry and

puerperal periods. The investigations were carried out in the Veterinary Research Institute (Nizhny Novgorod) and in a basic dairy cattle farm of the Nizhny Novgorod region on four groups of cows of black white breed (two experimental groups and two control groups). In accordance with schemes proposed following remedies were used: the organic acid composition Bio-LYAS (the first experimental group), Bio-LYAS in the combination with multivitamin Tetrahydrovit balanced with sedimin complex, the biogenic stimulator ACD (fraction 2) and the tissue preparation PDE (the second experimental group). The cows of the first control group the remedies of the second experimental group except of Bio-LYAS were administered to, the cows of the second control group were intact. To control the indices of natural resistance blood samples taken from cows twice 61-63 and 20-23 days before and 12-15 days after parturition were analyzed. It was established that the application of Bio-LYAS separately and in the combination with Tetrahydrovit, Sedamin, PDE and ADC (fraction 2) in critical periods of the reproductive cycle (steaming up, precalving period) contributes to the enhancement of the natural resistance level in the cows of experimental groups after parturition manifesting in the enhancement of the bactericidal serum activity by 38,4-38,9%, of the lysozyme serum activity by 70-84,5%, the phagocytic activity of neutrophils by 39,6-39,9%, of the phagocytic index in 2,4-2,5 times, of the phagocytic number in 1,75-2,0 times and the phagocytic capacity in 1,7-1,9 times compared with intact animals.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Дорофейчук В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом /В.Г. Дорофейчук //Лабораторное дело. – 1968. – №1. – С. 28-30.
2. Плященко, С.И. Естественная резистентность организма животных. – Л.: «Колос». -1979. – С. 24-27.
3. Решетникова О.В. Неспецифические

факторы резистентности животных /О.В. Решетникова, А.Я. Спящий // Ветеринарный врач. – 2013. – №4. – С. 40-43.

4. Смирнова О.В. Определение БАСК методом фотонейфелометрии // ЖМЭИ. – 1966. – №4. – С. 8-11.

5. Шахов А.Г. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных. – Воронеж. -2005.– 62 с.



## ОБЗОР СИСТЕМ ИНДИВИДУАЛЬНО ВЕНТИЛИРУЕМЫХ КЛЕТОК, ПРОИЗВОДСТВА КОМПАНИИ ALLENTOWN, США

Тращенко Д, Ковалева М.  
Инновационные лабораторные технологии, Москва

### **ВВЕДЕНИЕ**

На сегодняшний день основной целью современной науки является получение достоверных и воспроизводимых результатов исследований. При исследованиях *in vivo*, это возможно только в случае использования здоровых животных и поддержания стабильной среды для их содержания. Для реализации данной задачи современные испытательные центры для оснащения вивариев все чаще выбирают ИВК – системы (системы индивидуально вентилируемых клеток). Использование ИВК позволяет обеспечить безопасность и комфортные условия для технического персонала, научных сотрудников, имеющих постоянный контакт с животными.

Не смотря на относительно высокие первоначальные затраты ИВК – система окупает себя в течение 1-2 лет.

Содержание животных в ИВК – системах способствует снижению затрат на расходные материалы. Так, например, система, обеспечивая, максимальную защиту персонала, позволяет использовать средства индивидуальной защиты более низких классов, чем при работе со стандартными клетками открытого типа. При содержании животных в индивидуально вентилируемых клетках, при правильном выборе вентиляционного стеллажа, подстилка может меняться один раз в 7-14 дней. В условиях содержания животных в клетках открытого типа подстилка подде-

жит замене один раз в 2-5 дней. ИВК – системы также позволяют значительно снизить трудозатраты, освобождая драгоценное время высококвалифицированного персонала для решения более важных исследовательских задач.

Сегодня на российском рынке появились индивидуально вентилируемых клеток производства компании Allentown (США), являющейся одним из мировых лидеров в этой области на протяжении уже более 43 лет. Следует отметить, что линейка ИВК – систем компании Allentown (США) покрывает все нужды содержания различных видов лабораторных животных любого современного вивария. Сегодня компания предлагает 4 ИВК системы.

Абсолютным лидером линейки ИВК, является система NexGen (рис. 1). Система выпускается для содержания мышей, вскоре планируется выпуск системы, для содержания крыс.

Одним из преимуществ данной системы является вес, NexGen легче на 20-25%, чем предыдущие модели, что обеспечивает улучшенную мобильность и эргономичность вашего вивария. Инновационные конструктивные решения позволили сделать легче как корпус системы, так и автоклавируемые клетки из прозрачного полисульфона. Изменено расположение клеток, что позволяет обеспечить лучший обзор животных.

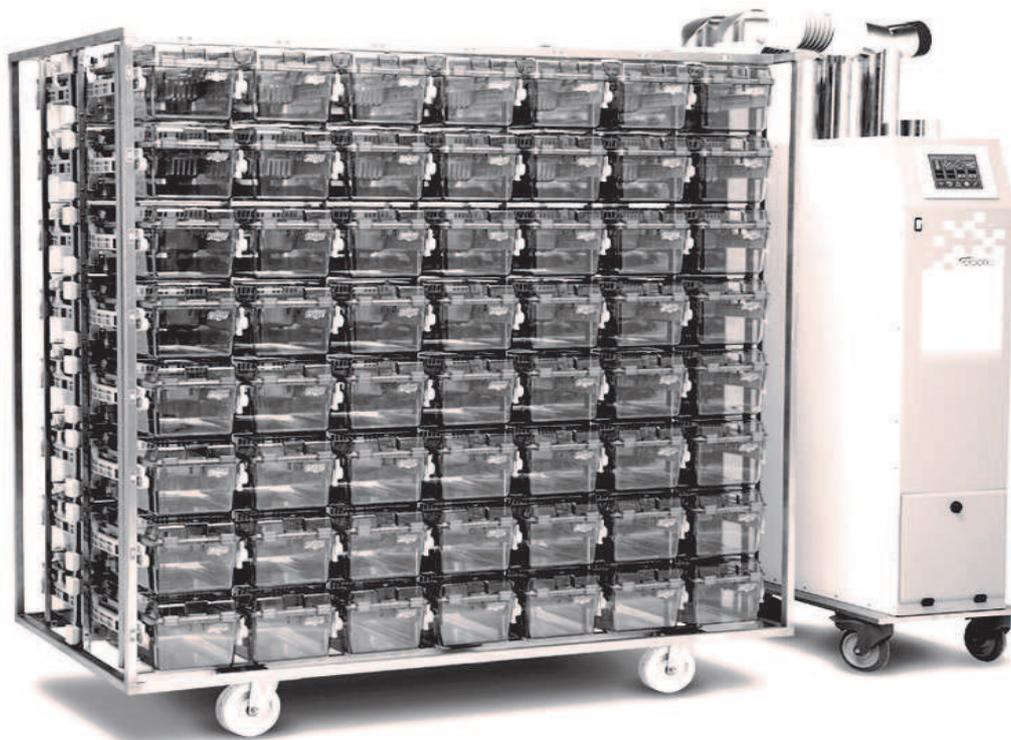


Рис. 1. ИБК Система NexGen  
(Allentown Inc., США)

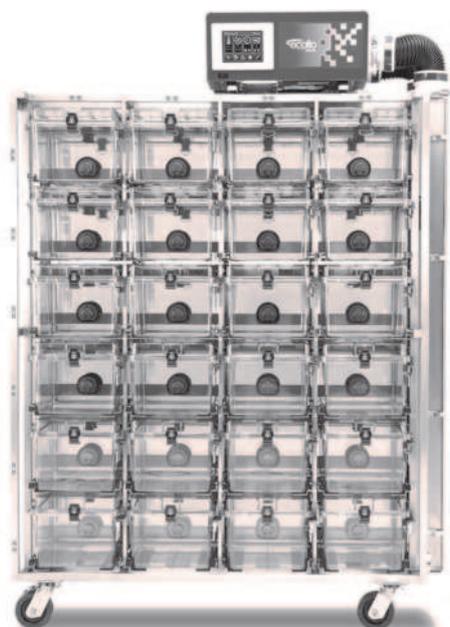


Рис. 2. ИБК система Positive/Negativ Systems  
(Allentown Inc., США).

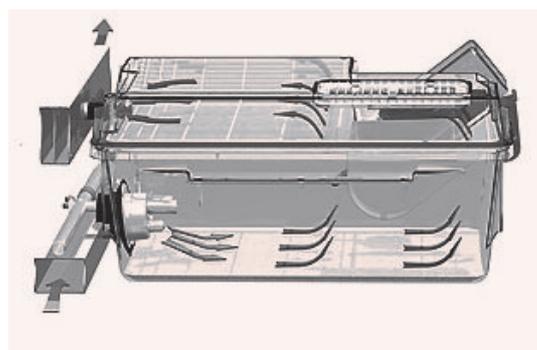


Рис. 3. Схема конвекции воздуха в клетке к  
системе Positive/Negativ Systems  
(Allentown Inc., США).

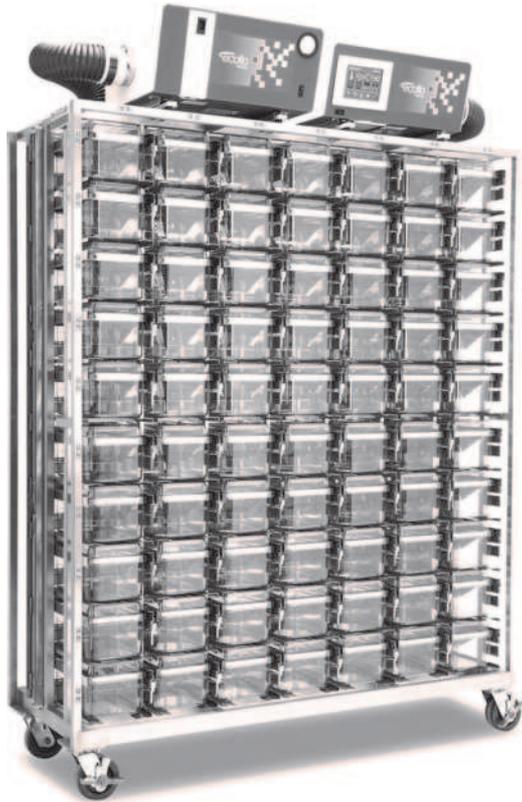


Рис. 4. ИВК система MicroVent (Allentown Inc., США).

Также к явным преимуществам системы можно отнести улучшенную модификацию герметизирующих прокладок встроенных в крышку клеток. В отличие от клеток к ИВК системам других производителей прокладка не выпадает как при снятии крышки клетки, так и при мойке и автоклавировании клеток.

Прозрачные клетки и откидные фиксируемые в верхнем положении ярлыки обеспечивают хорошую обзорность внутреннего пространства последних, что позволяет выявлять, в ходе исследования, отклонения поведения животных. Система подходит для содержания и разведения лабораторных животных.

Система NexGen может вмещать в себя от 48 до 162 клеток.

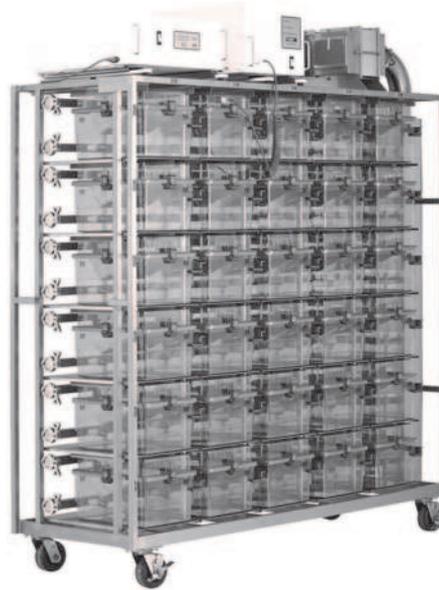


Рис. 5. ИВК система Bio Containment (Allentown Inc., США).

Еще одним представителем ИВК систем от AllenTown является Positive/Negative Systems (рис. 2). В ней следуя законам конвекции, инженеры компании смогли совместить максимально комфортные условия проживания лабораторных животных с безопасностью персонала и окружающей среды. Оптимальный воздушный поток в клетке способствует быстрой сушке подстилки (рис. 3), концентрация аммиака в клетке проживания не увеличивается в течении 14 дней.

Чистый HEPA отфильтрованный воздух подается в клетку проживания, в то время как естественно нагретый воздух поднимается и удаляется в части клетки.

Сегодня любая лаборатория стремится снизить энергозатраты, теперь это стало возможным, благодаря системам подачи и отведения воздуха семейства EcoFlo. Энергопотребление на клетку составляет не более 0,15 Вт. Компания AllenTown предлагает множество совместимых конфигураций, которые могут быть установ-

лены на стеллаже или отдельно стоящие. EcoFlo - это эффективность, простота использования, удобство управления и надежность, которые Вы так долго искали. EcoFlo позволяет контролировать температуру и влажность подаваемого и отводимого воздуха, полярность по давлению клеток и стеллажей. Сертифицированная HEPA-фильтрация входящего и выходящего воздуха и тихая работа. Возможность подачи избыточного количества воздуха. EcoFlo изготовлен в соответствии с UL и CSA, сертифицирован по CE и C-tick.

Система Positive/Negative Systems может вмещать в себя от 64 до 160 клеток.

Система MicroVent, компании Allen-Town на протяжении последних 20 лет является золотым стандартом индустрии производства индивидуально вентилируе-

мых клеток на международном рынке. MicroVent – оптимальное решение для вивария, это не только долговечность и надежность, простота использования – это высокая степень защиты технического и научного персонала от высоких концентраций аммиака и углекислого газа.

MicroVent представляет собой экологическую систему полной вентиляции клеток проживания грызунов. Система предназначена для обеспечения высокой эффективности аэрации при низких скоростях воздушного потока и отведения отработанного воздуха, выходящего из клетки проживания грызунов.

Система идеально подходит как для содержания животных, так и для их разведения.

Система MicroVent может вмещать в себя от 30 до 160 клеток для содержания

Таблица 1

Модификации клеток для содержания лабораторных грызунов

Клетки для содержания мышей	Клетки для содержания крыс
Арт.: PC75JHT Размер: 186мм*298мм*128* Площадь пола: 484 см <sup>2</sup>	PC10198HT 259 мм*476 мм*209 мм Площадь пола: 141 см <sup>2</sup>
Арт.: PC1296HT Размер: 312 мм*235 мм*152 мм Площадь пола: 523 см <sup>2</sup>	Арт.: PC10147HT 393 мм*285 мм*194 мм Площадь пола: 143 см <sup>2</sup>
Арт.: PC7115HT Размер: 189 мм*297 мм*128 мм Площадь пола: 432 см <sup>2</sup>	Арт.: PCT4SHT 500 мм* 381 мм*215 мм Площадь пола: 210 см <sup>2</sup>
Арт.: PC10196HT Размер: 257мм* 483мм*152мм Площадь пола: 987 см <sup>2</sup>	Арт.: PCT3HHT Размер: 266 мм*425 мм*185 мм Площадь пола:124 см <sup>2</sup>
Арт.: PCT2L12SHT Размер: 364мм*206мм*131мм Площадь пола: 535 см <sup>2</sup>	-
Арт.: PCT2L13SHT Размер: 364мм* 206мм* 141мм Площадь пола: 523 см <sup>2</sup>	-
Арт.: PCT1LHT Размер: 156мм* 369мм *132мм Площадь пола: 445 см <sup>2</sup>	-
Арт.: PCT3 Размер: 266мм*425мм*155мм Площадь пола: 820 см <sup>2</sup>	-

мышей, либо 30 – 80 клеток для содержания крыс.

Следует отметить, что вышеописанные системы могут быть укомплектованы 3 типами клеток NexGen Cage, XJ Cage, Edge Cage. Также Allentown Inc., США позволяет выбрать различные варианты крышек, в зависимости от предпочтения специалистов. Например, крышки со встроенным «гнездом» под бутылку и различные системы кормушек. Allentown Inc., США на сегодняшний день предлагает 7 видов клеток для содержания, с площадью пола от 432 см<sup>2</sup> до 987 см<sup>2</sup> и 4 вида клеток для содержания крыс с площадью пола от 800 см<sup>2</sup> до 1355 см<sup>2</sup>.

Система Bio Containment является наиболее надежной, выпускается модификации для содержания мышей и крыс. Система позволяет создать максимально стабильные условия исследования. Система предназначена для содержания и размножения, как крыс, так и мышей. Bio

Containment является уникальным, запатентованным продуктом, не имеющим аналогов в мире. При отсоединении клетки от стеллажа происходит закрытие входных портов, что позволяет сохранить не измененность окружающих условий.

Стеллаж Bio Containment снабжен дополнительной батареей питания, что позволяет данной системе, в случае аварийного отключения электроснабжения, автономно работать 10 – 20 часов (в зависимости от количества животных внутри каждой клетки проживания). Обеспечивая стабильные условия окружающей среды для лабораторных животных и безопасность оператора, позволяет предпринять меры для обеспечения полного благополучия животных в аварийной ситуации. Система чаще используется при проведении токсикологических исследований.

Система позволяет размещать до 450 мышей, до 120 крыс.

**БОЛЕЕ ПОДРОБНУЮ ИНФОРМАЦИЮ,  
ВКЛЮЧАЮЩУЮ ПРОСТРАНСТВЕННУЮ И  
ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИВК СИСТЕМ ВЫ  
МОЖЕТЕ ПОЛУЧИТЬ НА НАШЕМ САЙТЕ  
«ИННОВАЦИОННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ»  
[WWW.INLABTECH.RU](http://WWW.INLABTECH.RU)**

## ВЛИЯНИЕ ТИПА КЛЕТОК ДЛЯ СОДЕРЖАНИЯ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС С ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ БОЛЬЮ

Белозерцева И.В.<sup>1</sup> – к.б.н., зав. лабораторией экспериментальных доклинических исследований с  
виварием отдела психофармакологии, Шекунова Е.В.<sup>1,2</sup> – к.б.н., старший научный сотрудник

<sup>1</sup> - Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана, СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова

<sup>2</sup> – Санкт-Петербургский Институт Фармации



### РЕФЕРАТ

Установлено, что обогащение среды обитания лабораторных животных оказывают значительное влияние на их поведение и физиологические процессы. При планировании экспериментов на лабораторных грызунах важно учитывать различные аспекты содержания животных, поскольку даже незначительные отличия условий содержания могут существенно повлиять на результаты эксперимента.

Установлено, что обогащение среды обитания лабораторных животных оказывают значительное влияние на их поведение и физиологические процессы. При планировании экспериментов на лабораторных грызунах важно учитывать различные аспекты содержания животных, поскольку даже незначительные отличия условий содержания могут существенно повлиять на результаты эксперимента.

Целью данной работы был поиск оптимальных экспериментальных условий для моделирования депрессивноподобного поведения, вызванного хронической нейропатической болью у крыс. Эксперименты выполняли на самцах крыс стока Вистар, которых содержали в прозрачных или непрозрачных индивидуальных ТШ клетках. Было показано, что после перевязки седалищного нерва признаки депрессивноподобного поведения (уменьшение вертикальной двигательной активности и общительности) были более выражены у животных, содержащихся в непрозрачных клетках, тогда как болевое поведение крыс из разных экспериментальных групп не различалось.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о важности выбора типа клеток для содержания крыс при моделировании депрессивноподобного поведения, вызванного хронической болью, а прозрачные клетки можно рассматривать как один из способов обогащения среды.

**Ключевые слова:** условия содержания, прозрачные клетки, непрозрачные клетки, депрессивноподобное состояние, крысы стока Вистар.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы накоплено большое количество данных, позволяющих утверждать, что условия содержания оказывают значительное влияние на поведение и физиологию лабораторных животных. Показано, что уровень освещенности, наличие в клетке убежищ и разнообразных материалов, способствующих исследовательской активности и гнездостроительной деятельности, а также социаль-

ное окружение являются необходимыми составляющими, поддерживающими нормальный уровень физиологических процессов и поведения животных, содержащихся в лабораторных условиях [1].

Обогащение среды имеет большое влияние на поведение животных. Так, содержание крыс в клетках, в которых есть дополнительные объекты, позволяющие животным проявлять ориентировочно-исследовательскую и двигательную

активность (деревянные бруски, шары, убежища, лесенки, веревки), ведет к снижению агрессии и тревожности в группе [2]. При необходимости изолированного содержания животных обогащение среды их обитания приобретает особое значение. Отсутствие социального контакта является стрессовым фактором для лабораторных грызунов. Размещение в клетках с изолянтами различных объектов ведет к увеличению их ориентировочно-исследовательской активности, снижению уровня тревожности, нормализации динамики веса и пищевого поведения по сравнению с животными, которые содержатся индивидуально в «стандартных» условиях [3].

Даже, на первый взгляд, незначительные изменения условий содержания лабораторных грызунов могут существенным образом повлиять на исход эксперимента. Например, размер и структура пространства клетки значимо влияют на предпочтение раствора этанола в тесте свободного выбора у крыс, снижая его потребление у животных, содержащихся в клетках большего размера и оснащенных перегородкой [4].

При моделировании той или иной патологии учет факторов, которые могут повлиять на результаты исследования является очень важным этапом планирования эксперимента. Целью данной работы являлось установление оптимальных экспериментальных условий для моделирования депрессивноподобного состояния у крыс на фоне хронической нейропатической боли, вызванной перевязкой седалищного нерва.

В клинических исследованиях выявлено, что хронические болевые синдромы часто сопровождаются развитием депрессии у больных [5-7]. Коморбидность хронической боли и депрессии влечет за собой целый ряд негативных последствий как для пациента, так и для общества в целом. Большое значение имеет понима-

ние механизмов развития заболеваний, а так же выбор оптимальных средств терапии. В этом смысле актуальной задачей экспериментальной фармакологии является поиск и разработка экспериментальных подходов, моделирующих наблюдаемую в клинике картину. Нами было сделано предположение, что использование этологического подхода к оценке поведения крыс в тесте парного (социального) взаимодействия позволит оценить как элементы депрессивноподобного поведения животных на фоне хронического болевого синдрома, так и оценить проявления спонтанной боли.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Экспериментальные животные и условия их содержания

Эксперименты выполнены на самцах крыс стока Вистар (питомник «Рапполово», Санкт-Петербург, Россия) массой 250-350 г. Животных содержали в условиях 24-х часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, включение света в 9:00), контролируемой температуры (20-22°C) и влажности (50±20 %) воздуха при свободном доступе к очищенной (фильтр Аквафор-1000, Санкт-Петербург, Россия) водопроводной воде и гранулированному полнорационному комбикорму (Лабораторснаб, Москва, Россия). В качестве подстилки использовали сухую (<20% влажности) обеспыленную древесную стружку мягких пород древесины, обработанную шоковой температурой (500°С) для устранения эмиссии смол (Tierwohl, JRS GMBH+Co, Германия).

Для индивидуального содержания крыс использовали ТП клетку с прозрачными (Tecniplast, Италия) или матовыми (Velaz, Чешская Республика) стенками (рис. 1).

#### **Модель нейропатической боли**

Нейропатическую боль моделировали по методу Bennett and Xie (1988) [8]: у крысы, находящейся под фторотановым наркозом, на левой лапе выделяли седа-

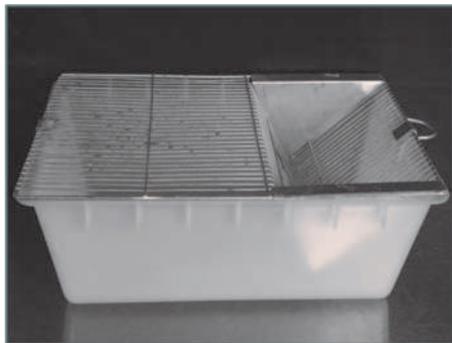
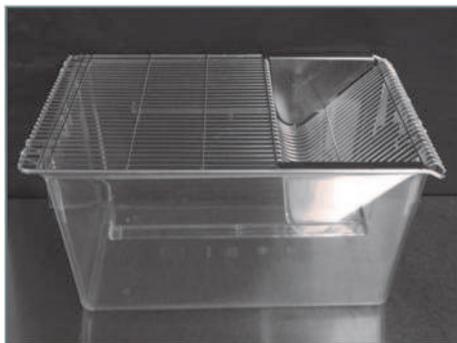


Рис. 1. ТПН клетка с прозрачными стенками (Tecniplast, Италия) и ТП клетка с непрозрачными стенками (Velaz, Чешская Республика)

лищный нерв и накладывали четыре слабо затягиваемые шелковые (4-0) лигатуры на расстоянии 1 мм друг от друга. У животных контрольных групп выполняли «ложную» операцию, проводя те же хирургические манипуляции, за исключением наложения лигатур.

#### **Тест парного взаимодействия**

Социальное поведение крыс оценивали в экспериментальном боксе (25см x 35.5см x 34см) с чистым подстилочным материалом, содержащим три гранулы комбикорма (условия нейтральной территории). В качестве «стандартного оппонента» использовали незнакомого, неагрессивного самца, содержащегося в группе сородичей. Первым в бокс помещали тестируемое животное, а через минуту подсаживали оппонента. Далее в течение 8 минут с помощью программы «Ethograph» (версия 2.07, RITEC, Санкт-Петербург, Россия) регистрировали последовательность и длительность 40 элементов поведения: индивидуального (локомоция, сидение, груминг, грызение корма и др.) и социального (обнюхивания партнера, груминг тела партнера и др.), а также проявления спонтанной боли - приподнимание задней лапы (рис. 2) и чесание тела с ее помощью, включая вибрирующие движения без касания поверхности тела.

Дизайн эксперимента

Перед началом эксперимента в течение



Рис. 2. Проявление спонтанной боли - поднимание лапы с поврежденным нервом

2-х недель животных содержали изолированно в клетках соответствующего вида (прозрачные или непрозрачные стенки). Далее проводили тест парного взаимодействия для определения базового уровня индивидуального и социального поведения крыс. По результатам тестирования крыс распределяли по группам, балансируя их по уровню общительности и ориентировочно-исследовательского поведения. Через 2 дня после тестирования выполняли хирургическую операцию по перевязке седалищного нерва (у контрольных животных - «ложная» операция). После этого еженедельно в течение трех недель регистрировали поведение животных в тесте парного взаимодействия. Для оценки влияния многократных эпизодов социального взаимодействия на

поведение животных отдельные группы тестировали только спустя 3 недели после перевязки седалищного нерва. Всего в эксперименте использовали 8 групп по 7-14 животных.

В статистическую обработку были взяты показатели общей продолжительности отдельных элементов и функциональных групп элементов: вертикальная двигательная активность (подъемы на задние лапы); общительность (обнюхивание и груминг тела партнера), проявления спонтанной боли (подъемы больной лапы, чесания по типу «вибраций»). Полученные данные обрабатывали параметрическими и непараметрическими методами (программа SPSS v.16).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исходно общительность и исследовательская активность крыс, содержащихся в прозрачных клетках, была несколько больше, чем у животных из непрозрачных

клеток (рис. 3 и 4). После операции по перевязке седалищного нерва у крыс, содержащихся в непрозрачных клетках, уже спустя неделю и далее на протяжении 3-х недель происходило снижение уровня общительности и исследовательского поведения (рис. 3). У животных, содержащихся в прозрачных клетках, изменения в поведении были менее очевидны: через неделю после операции у них несколько снизилась ориентировочно-исследовательская активность, а через две недели - наблюдалось незначительное уменьшение общительности (рис. 3). Проявления спонтанной боли (поднятие лапы) были соразмеримы у животных, содержащихся в прозрачных и непрозрачных клетках, при этом максимальную выраженность реакции наблюдали через неделю после проведения операции (таблицы 1, 2).

Фактор повторности тестирования (еженедельно после операции или одно-

Таблица 1

Болевое поведение (продолжительность поднятия лап) в тесте парного взаимодействия

Недели	Непрозрачные клетки		Прозрачные клетки	
	Прооперированная лапа	Неоперированная лапа	Прооперированная лапа	Неоперированная лапа
1 неделя	70,4±23,7*	1,2±1,2	48,5±17,1*	0,1±0,1
2 неделя	35,7±14,6*	0	18,1±3,2*	0
3 неделя	19,1±9,6*	0	7,9±2,5*	0

Примечание: \*-  $p < 0,05$  –тест Вилкоксона, отличия от неоперированной лапы. Данные представлены как средняя продолжительность (в секундах) данного вида поведения за 8 минут теста ( $M \pm m$ ).

Таблица 2

Болевое поведение (продолжительность чесания, включая чесание по типу «вибраций») в тесте парного взаимодействия

Недели	Непрозрачные клетки		Прозрачные клетки	
	Прооперированная лапа	Неоперированная лапа	Прооперированная лапа	Неоперированная лапа
1 неделя	7,9±3,1*	2,3±0,9	10,5±5,6	3,7±1,4
2 неделя	8,6±3,1	3,9±1,8	10,1±5,5	6,6±3,1
3 неделя	6,8±2,3*	1,3±0,5	10,9±3,6*	1,7±0,9

Примечание: \*-  $p < 0,05$  –тест Манна-Уитни, отличия от неоперированной лапы. Данные представлены как средняя продолжительность (в секундах) данного вида поведения за 8 минут теста ( $M \pm m$ )

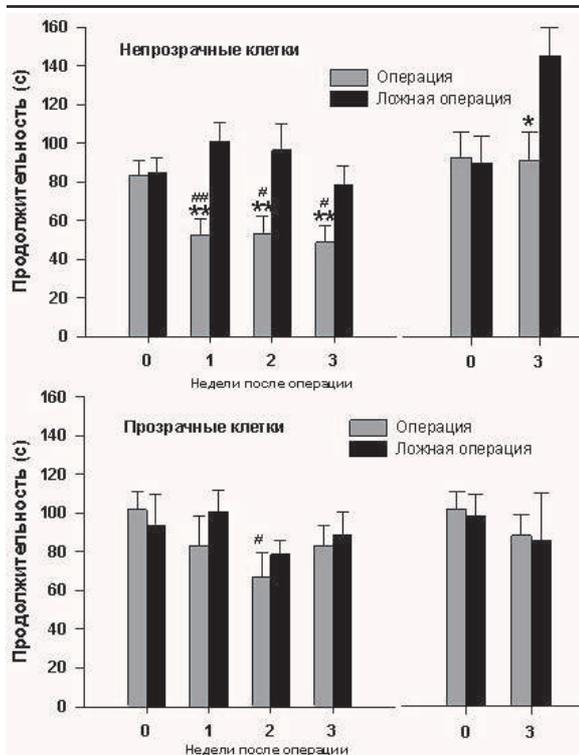
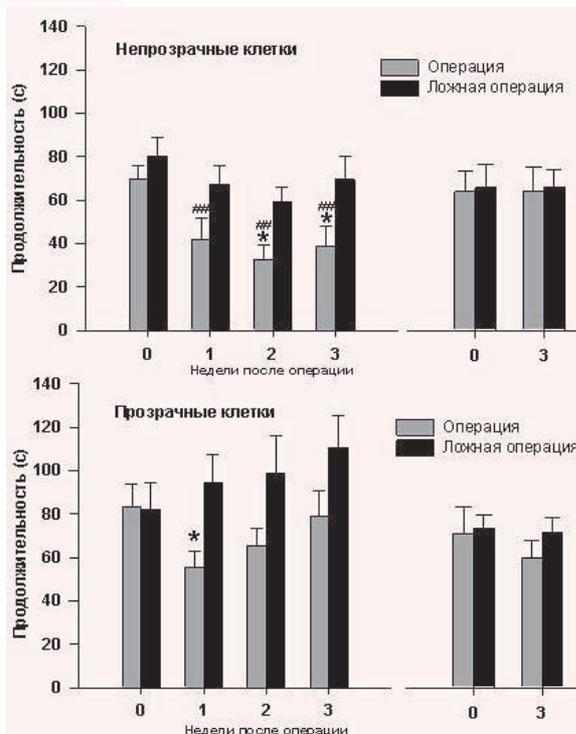


Рис. 3. Общительность (обнюхивание тела партнера + груминг тела партнера) в тесте парного взаимодействия. Слева – еженедельное тестирование, справа – группы животных, которые были протестированы спустя 3 недели после операции. Данные представлены как средняя продолжительность (в секундах) данного вида поведения за 8 минут теста ( $M \pm m$ ). Значимые отличия (двусторонний t-тест): \*\* - от группы «Ложная операция» ( $p < 0,01$ ); # - от исходного уровня (до операции - точка «0»,  $p < 0,05$ )

Рис. 4. Исследовательская (вертикальная) активность в тесте парного взаимодействия. Слева – еженедельное тестирование, справа – группы животных, которые были протестированы спустя 3 недели после операции. Данные представлены как средняя продолжительность (в секундах) данного вида поведения за 8 минут теста ( $M \pm m$ ). Значимые отличия (двусторонний t-тест): \* - от группы «Ложная операция» ( $p < 0,05$ ); ## - от исходного уровня (до операции - точка «0»,  $p < 0,01$ )



кратное, спустя 3 недели) оказал влияние на исход эксперимента в группе животных, содержащихся в прозрачных клетках: спустя 3 недели после операции никаких изменений в поведении оперированных животных по сравнению «ложнооперированными» выявлено не было (рис. 3). У крыс, которых содержали в непрозрачных клетках, при однократном тестировании спустя 3 недели после операции наблюдали значительное снижение общительности (рис. 3).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Как показали результаты данного эксперимента, хроническая боль ведет к развитию депрессивноподобного поведения у крыс, что может быть выявлено в тесте парного взаимодействия. Одновременно с регистрацией поведенческих проявлений развития депрессивноподобного поведения (снижение общительности и поведенческая оценка проявлений спонтанной боли. Условия содержания животных (прозрачные или непрозрачные клетки) играли критическую роль в моделировании наблюдаемой патологии. Стабильное снижение ориентировочно-исследовательской активности, а также значительное снижение общительности наблюдались на протяжении трех недель после индукции патологии (перевязки седалищного нерва) только у крыс, которых содержали в непрозрачных клетках. В то же время признаки болевого поведения практически в равной мере наблюдали у животных, содержащихся как в прозрачных, так и в непрозрачных клетках.

Изолированное содержание крыс, впрочем, как и «скученное» их содержание являются стрессующим фактором [9], снижающим адаптивные способности организма. Однако иногда, как в случае моделирования синдрома хронической нейропатической боли, условия эксперимента требуют именно индивидуального содержания лабораторных грызунов. В

этой ситуации одним из способов снижения стрессующего влияния социальной депривации является обогащение среды. Показано, что обогащение среды ведет к снижению уровня «гормонов стресса» у изолированно содержащихся животных [10], снижению уровня тревожности и выраженности депрессивноподобного поведения [11]. Обогащение среды влияет в том числе и на зрительную систему, модулируя функциональную активность серотонинергической и дофаминергической нейромедиаторных систем зрительной коры [12]. Как известно, свет определяет циркадианные ритмы физиологических и биохимических процессов у лабораторных животных. В эксперименте, где крыс содержали в клетках, стенки которых были изготовлены из прозрачного пластика различных цветов, было показано, что в зависимости от спектральных особенностей света, проходящего через стенки клеток, менялись циркадианные ритмы синтеза мелатонина, инсулина, липидов, кортикостерона и ряда других веществ [13]. Поэтому ограничение в зрительной стимуляции, которое присутствует у животных при их содержании в непрозрачных клетках, а также, возможное изменение спектрального состава света, могут являться теми факторами, которые усиливают негативное воздействие социальной депривации на поведение крыс. В условиях данного эксперимента максимальное ограничение стимулов при изолированном содержании животных привело к максимальной выраженности признаков депрессивноподобного поведения и, в конечном итоге, позволило выявить те изменения в социальном и ориентировочно-исследовательском поведении, которые были обусловлены хроническим болевым воздействием.

Индивидуальное содержание крыс с хронической нейропатической болью в прозрачных клетках отрицательно влияет

на успех моделирования у них депрессивноподобного поведения. Они остаются эмоционально позитивнее животных, содержащихся в клетках с непрозрачными стенками. Прозрачные стенки клеток могут рассматриваться как один из способов обогащения среды обитания и уменьшения «сенсорного голода» у социально депривированных животных.

**Effect of laboratory cage type on behavior of rats with neuropathic pain.**

**I. Belozertseva, E. Shekunova.**

**ABSTRACTS**

It is well established that enrichment has significant effect on the behavior and physiological process in rodents. When planning an experiment one should keep in mind the different aspects of experimental conditions. Even minor changes in the environmental factors may contribute to the outcome of an experiment. The aim of the present study was to investigate the environmental influences on the development of depressive-like behavior induced by chronic neuropathic pain. Singly housed male Wistar rats were kept in different TIII cages (with transparent or opaque walls). It has been shown that animals maintained in opaque cages developed more severe signs of depressive-like behavior in comparison with rats maintained in transparent cages (decreased sociability and decreased exploratory activity). However there were no differences in spontaneous pain behavior of rats kept in opaque or transparent cages. Transparent cage walls may consider as a form of enrichments that leads to decreased level of depressive-like behavior. The results confirmed the importance of cage type used for housing for successful modeling of depressive-like behavior in neuropathic rats.

**Key words:** housing conditions, transparent cages, opaque cages Wistar rats

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Balcombe J.P.: Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. // *Lab Anim.* -2006. -Vol. 40. -P. 217-235.

2. Abou-Ismaïl U.A., Burman O.H. and all.: The effects of enhancing cage complexity on the behaviour and welfare of laboratory rats. // *Behav Processes.* 2010. -Vol. 85. -P. 172-180.

3. Abou-Ismaïl U.A., Mahboub H.D.: The effects of enriching laboratory cages using various physical structures on multiple measures of welfare in singly-housed rats. // *Lab Anim.* -2011. -Vol. 45. -P. 145-153.

4. Adams N., Hannah J.A., Henry W.: Environmental influences on the failure to drink in inbred rats with an ethanol preference. // *Physiol Behav.* -2000. -Vol. 69. -P. 563-570.

5. Garcia-Cebrian A., Gandhi P. and all.: The association of depression and painful physical symptoms--a review of the European literature. // *Eur. Psychiatry.* -2006. -Vol. 21. -P. 379-388.

6. Ohayon M.M.: Specific characteristics of the pain/depression association in the general population. // *J. Clin. Psychiatry.* -2004. -Vol. -65. -P.5-9.

7. Rijavec N., Grubic V.N.: Depression and pain: often together but still a clinical challenge: a review. // *Psychiatr Danub.* -2012. -Vol. 24. -P. 346-352.

8. Bennett G.J., Xie Y.K.: A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. // *Pain.* -1988. -Vol. 33. -P. 87-107.

9. Gamallo A., Villanua A. and all.: Stress adaptation and adrenal activity in isolated and crowded rats. // *Physiol Behav.* -1986. -Vol. 36. -P. 217-221.

10. Belz E.E., Kennell J.S. and all.: Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. // *Pharmacol Biochem Behav.* -2003. -Vol. 76. -P. 481-486.

11. Brenes J.C., Rodriguez O., Fornaguera J.: Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. // *Pharmacol Biochem Behav.* -2008. -Vol. 89. -P.85-93.

12. Bessinis D.P., Dalla C. and all.: Sex-dependent neurochemical effects of environmental enrichment in the visual system. // Neuroscience. -2013. -Vol. 254. -P.130-140.  
13. Dauchy R.T. and all.: Effects of spectral

transmittance through standard laboratory cages on circadian metabolism and physiology in nude rats. // J. Am. Assoc Lab Anim Sci. -2013. -Vol. 52. -P. 146-156.

УДК:614

## МЕТОДЫ РАНДОМИЗАЦИИ ЖИВОТНЫХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Селезнева А.И.– к.м.н., научный сотрудник, Макарова М.Н - д.м.н., профессор, зам. ген. директора по науке, Рыбакова А.В. - к.в.н. рук. группы ветеринарии Санкт-Петербургский институт фармации



### РЕФЕРАТ

Планирование экспериментальных исследований включает ряд ключевых этапов формирования выборки, определения количества животных в группе, исследуемых параметров, разработки дизайна исследования и выбора методов обработки результатов. Грамотное и внимательное планирование позволяет получить достоверные результаты, которые могут быть с успехом перенесены на генеральную совокупность. Одним из наиболее важных начальных этапов исследования является рандомизация. Применение рандомизации обеспечивает репрезентативность выборки, а также устранение вероятности систематической ошибки исследования. Для рандомизации экспериментальных животных могут быть использованы различные методы, однако способы рандомизации в экспериментальных исследованиях на животных отличаются от таковых в клинических исследованиях. Наиболее предпочтительным способом распределения экспериментальных животных является метод блочной рандомизации с применением компьютерного генератора случайных чисел. Этот метод позволяет максимально учесть все факторы, способные привести к смещению результатов исследования, а также минимизировать человеческий фактор.

**Ключевые слова:** животные, эксперимент, лабораторная практика, рандомизация.

### ВВЕДЕНИЕ

Грамотное планирование экспериментального исследования необходимо не только для оптимизации работы, что подразумевает под собой выбор наиболее подходящих условий, методов, экономии сил, времени, средств, соблюдение этических принципов, но и прежде всего для получения достоверных результатов. По этой причине необходимо полное отсутствие влияния исследователя на формирование выборки, что достигается рациональным выбором метода рандомизации.

Рандомизация является ключевым понятием анализа биологических и медицинских данных. Говоря, что группа данного размера является простой случайной выборкой из большей группы, мы подразумеваем, что все возможные выборки этого размера извлекаются с равными вероятностями. Говоря, что различные способы лечения назначаются объектам случайно, мы подразумеваем, что вероятность назначения каждого вида лечения одинакова для всех объектов [1].

На необходимость рандомизации впервые в 1935 году указал Р.Фишер [2].

Рандомизация – это процесс случайного распределения объектов в группы с целью исключить всякую необъективность и связанное с ней вероятное смещение оценки. Применение рандомизации обеспечивает репрезентативность выборки, а также устранение вероятности систематической ошибки исследования.

Репрезентативная выборка соответствует характеристикам популяции или генеральной совокупности. Репрезентативность выборки определяет, насколько возможно экстраполировать результаты исследования на всю генеральную совокупность. Обеспечить репрезентативность выборки может только соблюдение принципа «случайности» отбора, что может быть достигнуто с помощью применения различных методов рандомизации. Благодаря рандомизации мы уверены в том, что группы различаются только исследуемым признаком, тем самым преодолевается основной недостаток обсервационных исследований [3].

Применение рандомизации также предотвращает возможность возникновения систематической ошибки. Систематическая ошибка отбора - статистическое понятие, показывающее, что выводы, сделанные применительно к какой-либо группе, могут оказаться неточными вследствие неправильного отбора в эту группу. Систематическая ошибка (смещение) бывает разных видов. Например, это может быть ошибка, связанная с нарушением правил отбора единиц из генеральной совокупности, то есть, главным образом, принципа беспристрастного, непреднамеренного отбора. Наличие такого типа ошибки может привести к полной непригодности результатов наблюдения. Основными методами устранения систематической ошибки при проведении экспериментальных исследований являются следующие: наличие группы сравнения, маскирование метода лечения для исследователей, использование ран-

домизации.

В случае экспериментальных исследований на животных маскирование метода лечения можно представить как простое слепое исследование, когда ни исследователь, ни биостатистик не знают о методе лечения (исследуемом средстве).

При помощи рандомизации исследователь стремится обеспечить беспристрастность при формировании групп. Рандомизация гарантирует, что наши склонности и предпочтения не повлияют на формирование групп с различными методами лечения; будет устранена опасность «перестараться» при учете личных предпочтений. По поводу рандомизации в своей известной книге «Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций» Дж. Флейс приводит цитату Хилла (Hill, 1962) [4,5]: «Рандомизация обеспечивает три вещи: она гарантирует, что наши склонности и предпочтения не повлияют на формирование групп с различными способами лечения; она предотвращает опасность, связанную с выбором на основе личных суждений, – считая, что наши суждения могут быть пристрастными, мы стараемся учесть и устранить пристрастность и при этом можем перестараться, ударяясь в другую крайность и приходя к противоположным смещениям; наконец, при случайном распределении способов лечения самый строгий критик не сможет сказать, что группы рассматривались по-разному вследствие наших предпочтений или нашей глупости». В основе рандомизации лежит случайность. В качестве примеров генерирования случайных событий можно привести следующие: бросание игральной кости или монеты, лотерейный розыгрыш, таблица случайных чисел, генерирование случайных чисел на компьютере и т.д.

Для рандомизации экспериментальных животных могут быть использованы различные методы, однако способы рандомизации в экспериментальных исследо-

ваниях на животных отличаются от таковых в клинических исследованиях. Рассмотрим возможные способы рандомизации экспериментальных животных на примере исследования влияния применения различных Диет на свертывающую систему у кроликов.

Предположим, у нас есть 4 различных диеты, действие которых мы хотим сравнить на кроликах - диета А, диета В, С и D. Мы заинтересованы в том, как диеты влияют на коагуляцию у кроликов. У нас есть 16 кроликов, доступных для эксперимента, поэтому мы будем использовать 4 для каждой диеты. Все кролики помещаются в общее пространство и прибывают там до начала исследования. После того как принято решение начать исследование могут быть использованы следующие варианты рандомизации:

Способ 1: Мы предполагаем, что кролики будут пойманы «случайно». Для этого из комнаты случайным образом отлавливают 4 кролика и помещают их в группу диеты А, отлавливают других 4 кролика и назначают им диету В и также для диеты С и D. Так как кроликов "поймали наугад", это распределение в группы можно считать рандомизированным, однако Способ 1 имеет существенные недостатки. Первые пойманные кролики, скорее всего, оказались наиболее слабыми и малоподвижными. Такое смещение может в дальнейшем исказить результаты исследования.

А	А	А	А	1	5	9	13
В	В	В	В	2	6	10	14
С	С	С	С	3	7	11	15
D	D	D	D	4	8	12	16

Рис. 1. Расположение клеток, в которые будут помещаться рандомизируемые животные при выборе способа 3 (слева) и способа 4 (справа)

Способ 2: Поймать наугад первых 4 кроликов (как мы выяснили по прошлому методу, это будут самые медленные кролики). Напечатать на отдельных листках буквы А, В, С и D и поместить их в корзину. Поймать одного кролика, извлечь наугад из корзины листок с буквенным обозначением диеты, поймать второго кролика и извлечь другой листок из оставшихся трех. Продолжать до тех пор, пока первые четыре кролика не получат свои буквенные обозначения диет. Повторить процедуру еще 3 раза (по 4 кролика). Однако этот метод также не может отражать полностью рандомизированный дизайн. Условно такой метод можно охарактеризовать как блочный, так как мы разбиваем животных на блоки для дальнейшего отбора в группы. Однако в этом случае разбиение на блоки ведется также по определенному признаку – в блоки животные отбираются по подвижности, самые подвижные попадают в последний блок.

Способ 3: Поймать всех кроликов и маркировать их 1-16. Поместить в одну корзину 16 листков - по четыре с буквами А, В, С и D, в другую корзину еще 16 листков с номерами 1-16. Извлечь листок из каждой корзины. Кролику с выбранным номером дается выбранная Диета (рис. 1).

Способ 3 также имеет некоторые недостатки. Выбор диет полностью рандомизирован. Однако расположение клеток для удобства создает перекося в результатах. Например, расположение кроликов, получающих диету А, ближе ко входу в бокс, чем кролики из групп, получающих диету В, может повлиять на динамику массы тела или другие параметры, так как поток воздуха от открываемой двери будет сильнее для животных, находящихся ближе к двери. Любая наблюдаемая разница не может быть отнесена к влиянию диеты, но может так же легко быть результатом размещения боксе. Полностью рандомизированное исследование подра-

1	C	5	A	9	B	13	D
2	D	6	B	10	D	14	C
3	C	7	B	11	A	15	D
4	A	8	A	12	C	16	B

Рис. 2. Блочная рандомизация кроликов

зумеает, что каждый кролик должен иметь одинаковый шанс получить любую диету, находясь в любой клетке.

Способ 4. Маркировать клетки 1-16 (рис. 1). В корзину положить 16 листков пронумерованных 1 - 16. Во вторую корзину положить 16 листков, помеченных А, В, С, и D. Поймать кролика. Извлечь по одному листку из каждой корзины. Поместить кролика в клетку под номером, указанном на листке из первой корзины, и далее кормить его Диетой, указанной на листке, полученном из второй корзины. Продолжать до тех пор, пока все кролики не будут рандомизированы (рис. 2).

Способ 4 представляет собой полностью рандомизированный дизайн, где по максимуму учтены все возможные факторы, способные привести к смещениям результатов. Однако недостатком такого метода является необходимость содержать каждого кролика в отдельной клетке, что, как правило, труднодостижимо в условиях исследования на 20 и более кроликах. При этом числа и буквы пишутся и извлекаются из корзины человеком, таким образом, влияние человеческого фактора при выборе этого способа также не исключено.

Описанные выше примеры свидетельствуют о том, что наиболее предпочтительным для экспериментальных исследований является блочный дизайн рандомизации, представленный в Способе 4. При этом следует заменить ручную методику написания и выбора чисел компьютерным методом генерации случайных



Рис. 3. Таблица для данных генератора случайных чисел

чисел.

Методы рандомизации, приведенные выше, могут быть адаптированы и под другие виды животных (мыши, крысы и др). Однако процедура распределения животных в группы весьма затруднительна при выполнении исследований с участием большого количества животных (50, 100 и более голов) и исключена сквозная маркировка животных. Для грамотного распределения в группы в условиях большого количества животных эффективно применяется метод модифицированной блочной рандомизации [6,7]. Назовем его Способ 5. Этот способ подразумевает распределение животных в ячейки блока рандомизации, из которых случайным образом животные отбираются в группы. Животные в этом случае не помечаются, для распределения используют генератор случайных чисел.

Например, необходимо сформировать 8 групп по 10 животных в каждой группе (всего – 80 животных в эксперименте). Для равномерного распределения животных в блоке за каждое заполнение оптимально будет взять 16 или 20 ячеек ( $80 \div 16 = 5$  заполнений,  $80 \div 20 = 4$  заполнения).

Допустим, будет удобнее взять 16 ячеек. Рассадить животных в ячейки по 1 животному в каждую, всего 16 животных. Закрывать ячейки. Запустить генератор случайных чисел (рис. 3).

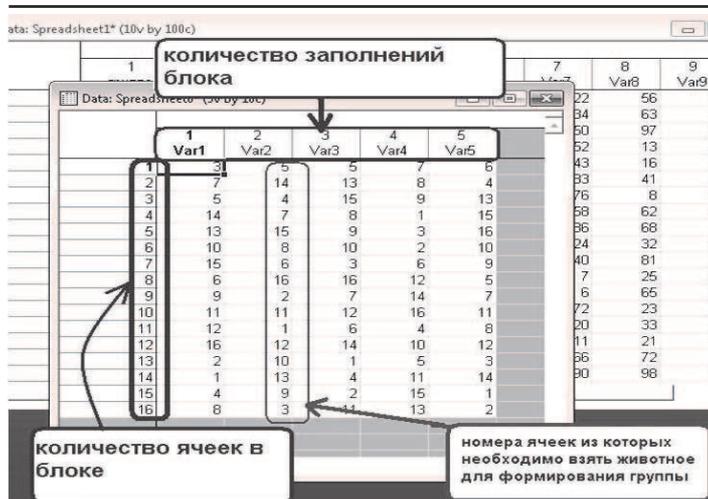


Рис. 4. Представление данных для рандомизации



Рис. 5. Деление данных на группы

Программа автоматически выдает перечень данных, содержащий номера ячеек с животными и соответствующие им номера заполнений для дальнейшего размещения животных (рис. 4).

Делим таблицу на строки. Каждая 2 строчки таблицы соответствуют 1 группе (рис. 5).

При формировании групп с небольшим количеством животных (например, 5 групп по 5 животных), 1 группе будет соответствовать 1 строка таблицы (в таблице будет заполнено 5 столбцов по 5

строк).

Таким образом, наиболее предпочтительными методами распределения животных в группы, способными обеспечить репрезентативность выборки и ограничить вероятность получения системной ошибки являются способы 4 и 5, представляющие собой варианты блочной рандомизации. Эти способы являются целесообразными для экспериментальных исследований с участием разных видов и разного количества животных, характеризуются удобством и способностью обеспечить репрезентативность выборки.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основе возможности распространения результатов на всю генеральную совокупность лежит теория статистического вывода. Статистический вывод – это перенос заключений, сделанных в результате статистического анализа выборочных данных, на целевую генеральную совокупность. Однако, планируя распространить результаты исследований на всю генеральную совокупность, также следует учитывать вероятность ошибки. В свое время премьер-министр Англии Б. Дизраэли сказал следующую фразу: «Имеются следующие виды лжи – ложь, наглая ложь, предвыборные обещания и статистика». Одним из наиболее ярких примеров фиаско в истории применения статистики является заключение, сделанное специалистами, обрабатывающими результаты проведен-

ного в 1936 г. журналом «Литерари Дайджест» (Literary Digest) опроса. Редакцией этого журнала было разослано 10 млн. опросных листов, в которых респондентам было предложено ответить на вопрос, за кого они будут голосовать на предстоящих президентских выборах – за республиканца А. Лэндона или демократа Ф. Рузвельта. Было возвращено более 2 млн. заполненных опросных листов. На основании их был сделан вывод, что выборы выиграет республиканец Альфред М. Лэндон. Однако на выборах с большим отрывом, взяв 60% голосов избирателей, победил Франклин Делано Рузвельт. Причиной такого ложного статистического прогноза было то, что полученная таким образом выборка потенциальных избирателей была не репрезентативной, так как опросные листы были разосланы людям, адреса которых были взяты из телефонных книг, а также владельцам автомобилей (так как сведения о них были в полиции). Поэтому в выборке практически не были представлены менее состоятельные люди, которые в своей массе как раз и собирались голосовать за Рузвельта.

Таким образом, правильно проведенная рандомизация экспериментальных животных обеспечивает репрезентативность выборки и позволяет с уверенностью распространять результаты конкретного исследования на генеральную совокупность [8].

#### **Randomization of experimental animals.**

**A. Selezneva, M. Makarova, A. Rybakova.**

#### **ABSTRACTS**

Planning of experimental research includes several key stages of sampling, determine the number of animals per group, the study parameters, study design and selection of methods of processing the results. Competent and careful planning allows to obtain reliable results that can be successfully transferred to the general population. One of the

most important initial stages of this study is to randomization. Application randomization ensures representativeness of the sample as well as eliminating the probability of bias research. Randomization of experimental animals can be used a variety of methods, but methods of randomization in experimental animal studies differ from those in clinical trials. The most preferred method of distribution of the experimental animal is a block randomization method using a computer random number generator. This method allows to take into account all factors that can lead to a shift of research results, as well as to minimize the human factor.

**Key words:** animals, experiment, laboratory practice, randomization.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Бабич П.Н., Чубенко А.В., Лапач С.Н. Принципы применения статистических методов при проведении клинических испытаний лекарственных средств // Украинский медицинский журнал. - 2004. - №2.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. — М., Практика. -1998. - 459 с.
3. Флейс Дж. Статистические методы для изучения таблиц долей и пропорций / Под ред. Ю. Н. Благовещенского. — М.: Финансы и статистика. -1989. 319 с.
4. <http://www.statistica.ru/local-portals/>
5. Altman D.G. Bland J.M. How to randomize // BMJ. -1999. —Vol. 11. —P. 319(7211).
6. Bland M. An Introduction to Medical Statistics. // Ox. Medical Publications. -2000.
7. José E. A. Fundamental steps in experimental design for animal studies // Acta Cirúr. Brasileira. -Vol. 20 (1). -2005. -P. 2-8.
8. Fisher R.A. The Design of Experiments. // Edinburgh: Oliver and Boyd. -1935.

## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ: ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Воронцова О.Н.<sup>1</sup> — к.б.н., руководитель отдела развития, Воронцов Д.Д.<sup>2</sup> - к.б.н., старший научный сотрудник, Бондаренко Н.А.<sup>3</sup> — к.б.н., ведущий научный сотрудник

<sup>1</sup>ООО «НПК Открытая Наука», Россия, Москва

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.Н. Кольцова РАН

<sup>3</sup>Некоммерческая организация Фонд «Развитие фармакологии эмоционального стресса», Россия, Москва

### РЕФЕРАТ

Изучение острой токсичности — самый первый и важнейший этап в разработке любого лекарственного средства. Данные исследования необходимы для определения переносимых, токсических, летальных доз потенциального лекарственного средства, а также причин наступления гибели животных после его применения. Информацию, получаемую в ходе изучения острой токсичности соединения, невозможно переоценить. Однако у большинства российских лабораторий отсутствует качественное оборудование для проведения токсикологических исследований. Зачастую, сами исследования проводят сотрудники с малым опытом работы, получая, в итоге, субъективный материал низкого качества. Результаты подобных экспериментов плохо воспроизводимы, что ведет к перерасходу животных, времени, препарата. Для поддержки отечественных исследований в области токсикологии ООО «НПК Открытая Наука» начала производство оборудования, направленного на оптимизацию экспериментов и получение максимальной информации от каждого животного.

**Ключевые слова:** нервная система, острая токсичность, экспериментальные животные.

Любое потенциальное лекарственное средство должно быть исследовано на предмет наличия и выраженности токсического влияния на нервную систему экспериментальных животных (крыс и мышей). Полноценно зафиксировать *in vivo* и оценить психопатологию, вызванную острым или хроническим введением потенциального лекарственного средства, возможно с помощью комбинации двух типов тестов.

Первый тип — длительное тестирование. Наблюдение за экспериментальными животными в знакомых им условиях дает возможность оценить патологический процесс в динамике и без стрессорной составляющей. Длительное наблюдение

за животными необходимо в самом начале токсикологических исследований, направленных на определение летальных и переносимых доз лекарственного средства.

Второй тип — быстрые «диагностические» тесты, которые проводят однократно. Данные тесты предназначены для выявления грубой психопатологии и неврологического дефицита у подопытных животных посредством помещения их в новые не комфортные (стрессорные) условия. Если необходимо оценить сохранность процесса привыкания к новым условиям или способность к обучению, тестирование животных можно проводить многократно. Обычно дан-

ные тесты проводят при изучении влияния переносимых доз лекарственного средства на состояние нервной системы во время острого или хроническом введении.

### 1. Длительное тестирование

Согласно Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (раздел «Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ») общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности должна составлять не менее двух недель, причем в первый день после введения животные должны находиться под непрерывным наблюдением [1]. Наравне с другими симптомами интоксикации, необходимо фиксировать общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности (включая стереотипию), судороги, тремор и иные симптомы неврологического дефицита.

Общеизвестно, что после введения лекарственного средства животных необходимо рассадить в индивидуальные камеры и тщательно наблюдать за каждым животным, особенно в первые часы развития интоксикации. В тех же условиях должны находиться и контрольные животные. И самая первая проблема, с которой сталкивается экспериментатор — куда посадить животных? Стандартные жилые клетки мало подходят для этой задачи, поскольку закрыты сверху решеткой, затрудняющей экспериментатору обзор. Кроме того, животных бывает много (контроль, несколько доз препарата, несколько способов введения и т. д.), и большое число клеток нередко занимает все рабочее пространство лаборатории, также затрудняя наблюдение.

Проблема индивидуальной рассадки животных для проведения острых токсикологических исследований была решена:

на фото 1 представлен комплект оборудования для рассадки 24 крыс. В случае необходимости, в камеры можно посадить мышей как индивидуально, так и по несколько штук в один отсек (фото 2). Камеры позволяют животным свободно двигаться и не препятствуют проявлениям психопатологии и неврологического



Фото 1. Комплект оборудования для индивидуальной рассадки 24 крыс

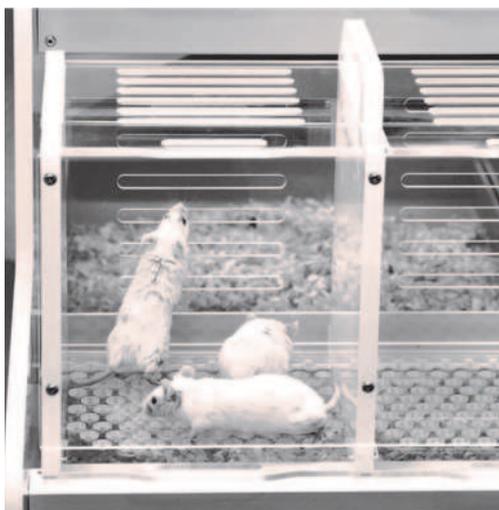


Фото 2. Камера для индивидуальной рассадки крыс (6 отсеков помещены мыши)

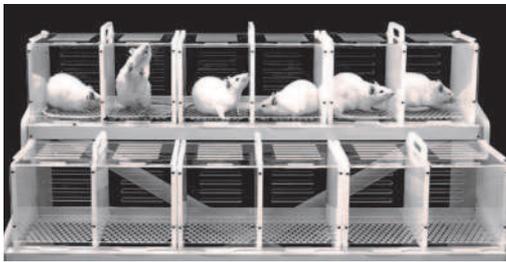


Фото 3. Комплект для рассадки 24 крыс  
(масса крыс на фото 400 гр)



Фото 4. Камера для индивидуального  
содержания крыс

дефицита (фото 3).

Для дальнейшего исследования острой токсичности, которое будет продолжаться не менее двух недель, животных потребуются отсадить в индивидуальные боксы, оснащенные кормушкой и поилкой. Если животных немного, то можно вернуть их в домашние клетки. Индивидуальная рассадка при этом должна сохраниться и у контрольных животных. Но если животных много, а места в виварии мало, то мы рекомендуем камеры для индивидуального содержания крыс (фото 4). Данные камеры подойдут и для экспериментов по

изучению хронической токсичности лекарственного средства.

## 2. Быстрые диагностические тесты

В качестве быстрых диагностических тестов чаще всего используют тесты «Открытое поле», «Темно-светлая камера» или «Темная камера с отверстиями». Данный перечень - минимальный набор тестов, позволяющий выявить грубые нарушения психических функций у подопытных животных [2]. Тест «Экстраполяционное избавление» рекомендован нами для выявления когнитивного дефицита [3]. Каждому тесту соответствует одноименная установка.

Установка "Открытое поле" (фото 5) предназначена для изучения поведения грызунов в новых (стрессогенных) условиях и позволяет оценить: выраженность и динамику отдельных поведенческих элементов, уровень эмоционально-поведенческой реактивности животного ("седацию-ажитацию"), привыкание (habituation); симптомы неврологического дефицита, локомоторную стереотипию.

Установка "Темно-светлая камера" (фото 6 и 7) предназначена для изучения поведения грызунов в условиях переменной стрессогенности (при свободном выборе комфортных условий) и позволяет оценить: предпочтение темноты и света, выраженность и динамику поведения "выглядывания", привыкание (habituation). Кроме того, оценка поведения крыс и мышей в темно-светлой камере входит в перечень исследований, доказывающих наличие анксиолитической активности у изучаемого соединения.

Установка "Темная камера с отверстиями" (фото 8) предназначена для изучения поведения грызунов в условиях свободного выбора комфортных условий и позволяет оценить: предпочтение темноты/света, выраженность и динамику поведения выглядывания, принятие решения выхода из камеры. Используется как тест-предиктор индивидуального уровня



Фото 5. Установка «Открытое поле» для крыс



Фото 8. Установка «Темная камера с отверстиями» для крыс

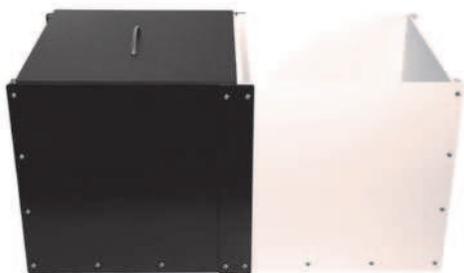


Фото 6. Установка «Темно-светлая камера» для крыс

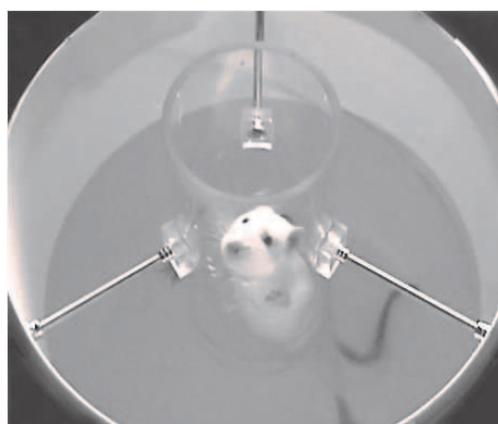


Фото 9. Установка «Тест экстраполяционное избавление» (ТЭИ) для крыс



Фото 7. Установка «Темно-светлая камера» для мышей



Фото 10. Набор цилиндров ТЭИ для крыс разной массы

эмоциональной реактивности (в сочетании с тестом "Открытое поле" и др.), а также может служить источником дополнительной информации относительно анксиогенных или анксиолитических свойств исследуемых соединений.

Установка "Экстраполяционное избавление" (фото 9, 10) предназначена для изучения когнитивных функций грызунов в условиях острого стресса и позволяет оценить: патологию когнитивных функций, индивидуальные различия когнитивного стиля решения задачи (поиска пути избавления из острой стресс-ситуации), становление когнитивных функций в онтогенезе.

### **3. Регистрация поведения**

Невозможно предсказать, каким образом повлияет изучаемое лекарственное средство на нервную систему экспериментальных животных. Предварительные исследования с применением средств «drug design» и данных, полученных на культурах тканей и беспозвоночных животных, могут дать только приблизительную информацию. Более того, наличие у наблюдателя подсознательной установки на поиск определенных симптомов может негативно повлиять на объективность исследования. Необходимо быть высококвалифицированным специалистом с большим стажем работы для того, чтобы в режиме реального эксперимента увидеть, распознать и зарегистрировать большое число параметров, особенно поведенческих. Но в условиях сложившейся на протяжении последнего десятилетия нехватки квалифицированных научных кадров, к начальным (и поэтому очень важным!) токсикологическим исследованиям привлекаются сотрудники, не имеющие достаточного опыта работы в данной области. Кроме того, намечается стойкая тенденция увеличения числа непрофильных научных групп, лабораторий и организаций, проводящих отбор, а затем и токсикологические исследования препара-

тов. Так, в экспериментах (зачастую на устаревшем оборудовании) задействованы дипломники, аспиранты, младшие научные сотрудники, а немногочисленные специалисты, призванные обсуждать полученные результаты и на их основании выбирать последующую стратегию исследований, имеют дело с экспериментальными данными (субъективными оценками поведения) весьма низкого качества.

Единственный выход из сложившейся ситуации — видеосъемка экспериментов. Это особенно важно при отсутствии специалистов с опытом регистрации картины интоксикации, неврологического дефицита и особенностей поведения крыс и мышей в быстрых тестах непосредственно во время экспериментов.

Видеосъемка позволяет:

- сохранить все нюансы поведения подопытных животных для последующего тщательного анализа (включая манипуляции экспериментатора);
- создать архив всех экспериментов и при необходимости – проанализировать записи еще раз, не проводя исследование заново (то есть избежать перерасхода животных, времени, препаратов);
- имея видеозапись эксперимента, в любой момент получить консультацию необходимого специалиста (в области токсикологии, психофармакологии, патофизиологии, высшей нервной деятельности, поведения животных и т.д.).

Ниже мы укажем несколько вариантов видеосистем, которыми можно укомплектовать оборудование для проведения длительных экспериментов и однократных тестов.

В случае использования камер для индивидуальной рассадки крыс при изучении острой токсичности лучше всего установить видеосистему для боковой видеосъемки (фото 11).

При использовании камер для индивидуального содержания крыс боковая



Фото 11. Видеосистема для боковой съемки



Фото 12. Видеосистема «Открытая арена»

съемка будет затруднена из-за кормушки с кормом. В этом случае мы рекомендуем видеосистему «Открытая арена», позволяющую вести съемку объекта сверху (фото 12). Камеры для индивидуального содержания имеют прозрачный верх, поэтому их необходимо расположить под видеокамерой компактно и в один ряд.

Единственный недостаток — небольшое число камер, которое можно расположить под видео-камерой без ущерба качеству изображения.

Видеосистему «Открытая арена», позволяющую снимать объект сверху, необходимо использовать и для съемки поведения животных в быстрых тестах: «Открытое поле», «Темно-светлая камера», «Темная камера с отверстиями», «Экстраполяционное избавление».

Многие исследователи мечтают об автоматической системе анализа поведения животных по видеозаписи. Однако, в случае токсикологических исследований, применение подобных программ мало оправдано. Только эксперт может оценить наличие и выраженность симптомов поражения нервной системы (птоз, слюнотечение, атаксию, дискинезию, тремор, миорелаксацию, ригидность, стереотипию (периоральную, моторную), гипокинезию, гиперактивность, судороги и т. д.). Поэтому мы рекомендуем потратить время и тщательно проанализировать общую видеозапись для каждого животного индивидуально с использованием бесплатной программы RealTimer.

Хорошо известно, что воспроизводимость результатов, получаемых в ходе поиска и доклинических испытаний, играет решающую роль в судьбе потенциального лекарственного средства. Использование качественного оборудования и введение обязательной видеозаписи экспериментов позволит упростить, удешевить и повысить надежность (воспроизводимость) токсикологических исследований в целом, а также облегчить разработку инновационных лекарственных средств.

**Acute toxicity: equipment to study effects on the nervous system**

**O. Vorontsova, D. Vorontsov, N. Bondarenko.**

**ABSTRACT**

The study of acute toxicity is the first and

the most important stage in the development of any drug. These studies determine tolerable, toxic and lethal doses of the drug candidate, as well as the causes of death of experimental animals. The importance of data on acute toxicity can not be overemphasized. However, most Russian laboratories do not have an appropriate equipment for toxicological studies. Quite often, the procedures are performed by inexperienced staff which produces low quality subjective data. The results of such experiments are poorly reproducible; that leads to overuse of animals, drug substance and working time. In the course of supporting of the national research in the field of toxicology, "RPC Open Science" Ltd started to produce the specific laboratory equipment which allows to optimize the experiment and to get the maximum of information from each animal.

**Key words:** nervous system, acute toxic-

ity, experimental animals.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. – 2-изд. – М.: Медицина, 2005.
2. Sestakova N., [Puzserova A.](#), [Kluknavsky M.](#) and [Bernatova I.](#) «Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide.» // *Interdiscip. Toxicol.*, 2013; 6 (3): 126–135.
3. Бондаренко Нина А. «Изучение формирования целенаправленного поведения у крыс «с одной пробы» в тесте «экстраполяционное избавление». // *Эволюционная и сравнительная психология в России: традиции и перспективы* / Под ред. А.Н. Харитоновой. – М.:Изд-во «Институт психологии РАН», 2013.

**БОЛЕЕ ПОДРОБНО ОБ ОБОРУДОВАНИИ ВЫ МОЖЕТЕ  
УЗНАТЬ НА САЙТЕ КОМПАНИИ  
ООО «НПК ОТКРЫТАЯ НАУКА»  
WWW.OPENSOURCE.RU**

## ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ АНЕСТЕЗИИ И АНАЛЬГЕЗИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Фатеева Е.И. – к.б.н., курирующий ветеринарный врач Питомника,  
Чернов А.С. - к.б.н., младший научный сотрудник,  
Телегин Г.Б. - к.б.н., руководитель Питомника, главный ветеринарный врач ФИБХ  
Филиал федерального государственного бюджетного учреждения науки института  
биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, НПП  
«Питомник лабораторных животных», Пушкино, Россия.



### РЕФЕРАТ

Доклинические исследования с использованием живых животных все более востребованы в России. Соответственно, возросло количество хирургических операций, для которых требуется адекватная анестезия и анальгезия животных. Здесь исследователи сталкиваются с двумя большими проблемами: отсутствие справочной литературы на русском языке и сложности с использованием оборудования для газовой анестезии.

Поэтому чаще всего применяется инъекционный наркоз, который имеет свои особенности введения, мониторинга и восстановления животного. Однако инъекционный наркоз не обладает анальгетическими свойствами в необходимой мере, поэтому при болезненных вмешательствах необходимо введение дополнительных лекарственных средств. В статье мы предлагаем рабочую схему введения веществ для анестезии и анальгезии лабораторных животных при различных хирургических манипуляциях. Для анестезии мы используем смешанный раствор Золетила 100 (Virbac, Франция) и Рометара (Spofa, Чехия). Сочетание этих лекарственных средств позволяет получить надежный хирургический наркоз лабораторных крыс и мышей в течение 30-50 минут. Глубину хирургического наркоза оценивают по наличию/выпадению рефлексов. Время выхода из наркоза зависит от условий, в которые помещено лабораторное животное (камера для восстановления, подогреваемая поверхность и т.п.), и составляет 30-60 минут. Адекватную послеоперационную анальгезию позволяют достичь нестероидные противовоспалительные средства – карпрофен, кетопрофен, мелоксикам. Кроме того, большое внимание уделяется немедикаментозным средствам – кислородному и температурному режиму, а также жидкостной терапии.

**Ключевые слова:** крысы, мыши, клинический осмотр, анестезия, анальгезия, боль, дистресс, хирургический инъекционный наркоз, реанимация.

Известно, что боль и дистресс являются нежелательным состоянием, которое оказывает отрицательное воздействие на различные физиологические показатели организма. Адекватный хирургический наркоз и анальгезия являются необходимым условием для проведения экспериментов с участием живых животных. В России ветеринарные врачи и исследователи часто сталкиваются с тем, что необ-

ходимые лекарственные препараты недоступны. Поэтому приходится работать с теми медикаментами, которые есть в наличии и не требуют лицензии для использования.

Инъекционный наркоз сам по себе не является лучшим выбором для анестезии животных вообще, и лабораторных в особенности. Практически невозможно контролировать уровень наркоза, сложно

устранить нежелательные побочные явления и для восстановления животного требуется довольно длительное время. Последние несколько лет в большинстве зарубежных статей упоминается газовая анестезия, более удобная и контролируемая. Тем не менее, оборудование недешево, и работа с ним требует специальных навыков. Поэтому мы хотели бы поделиться с коллегами своими данными по использованию хирургического инъекционного наркоза у лабораторных мышей и крыс.

Начнем с того, что все манипуляции следует проводить с клинически здоровыми животными, если условия эксперимента не требуют иного. Следовательно, перед началом любых процедур необходимо провести клинический осмотр животного. Работа с мышами и крысами осложняется тем, что эти животные – «жертвы», они тщательно скрывают любые признаки неблагополучия, и распознавание клинических признаков нездоровья требует определенного навыка. Нужно хорошо знать, как выглядят и как себя ведут здоровые животные, и начинать наблюдение с осмотра животных в клетке (неспровоцированное поведение).

Здоровые лабораторные грызуны активны, проворны и любознательны, пугливы в умеренной степени. Их шерстный покров чист и тщательно ухожен. Поведение, связанное с уходом за собой (груминг), и питанием, занимает большую часть времени бодрствования. Они могут издавать резкие короткие звуки (нормальная вокализация). Кожа эластична и легко втягивается, будучи оттянутой. Нормальные животные регулярно едят, пьют, выделяют кал и мочу. Попытки поймать и взять в руки здоровых животных вызывают сопротивление, но не агрессию. У них чистые открытые глаза, сухие ноздри и чистый район анального отверстия.

Обращаться с лабораторными живот-

ными нужно осторожно, мягко, но уверенно, гуманными методами. Это методы, не нарушающие благополучие животного, безопасные для человека и животного, не вызывающие или вызывающие минимальный стресс у экспериментального животного.

Первой манипуляцией с животным будет его взвешивание, которое необходимо для правильного расчета доз медикаментов. Лабораторных животных взвешивают в стакане или закрытом контейнере (вес которого учитывают). Эта манипуляция покажет психологическое состояние животного – здоровые мыши и крысы стараются убежать, но в «укрытии» быстро успокаиваются и не пытаются вырваться или укунить человека. Если наблюдаются отклонения в поведении животного (ненормальная вокализация, агрессия, гиперреакция и т.д.), такое животное лучше не использовать для процедур, связанных с наркозом. Точно также нежелательно вводить наркоз животным с клиническими признаками сердечно-сосудистой и легочной недостаточности.

Приступая к анестезии животного, следует помнить, что само слово происходит от греческого *anaesthesia*, означающего «снижение чувствительности». Другой термин для обозначения анестезии – наркоз. В отношении хирургической анестезии это обратимый процесс, и он может включать как весь организм (общая анестезия), так и его часть (местная анестезия). Анестезия может сопровождаться или нет потерей сознания. Целью анестезии является снижение боли и обездвиживание животного для проведения манипуляций. Поскольку речь идет об инъекционном наркозе, следует помнить о путях его введения (обычно это в/б или п/к), а также о допустимых объемах введения жидкостей [2].

В зависимости от протокола анестезии, введение собственно наркоза может

предваряться назначением премедикации и предоперационной анальгезии.

Премедикация позволяет снизить уровень тревоги животного, секрецию желез и усилить (а иногда и пролонгировать) действие препаратов для анестезии. Для лабораторных животных премедикация обычно не используется. В некоторых случаях, если предполагается длительное и болезненное вмешательство, за 15 мин до основной анестезии, внутривенно вводится раствор Ветранквила (Seva, Франция) в дозе 2-5 мг/кг мышам, и 1-2 мг/кг крысам. Для удобства дозирования следует разбавить раствор Ветранквила физиологическим раствором в соотношении 1:10 (к 1 мл Ветранквила добавить 9 мл физ. раствора). В 1 мл разведенного раствора содержится 1 мг ацепромазина (действующее вещество), и дозы приведены по действующему веществу.

Из-за сложности дозирования премедикация Ветранквилом используется редко. Ветранквил может увеличивать время восстановления животного.

Анальгезией называется комплекс мер, направленных на облегчение боли лабораторных животных. Этот комплекс состоит из: медикаментозного лечения, жидкостной терапии, обеспечения температурного и кислородного режима, а также из создания животному комфортных условий содержания. Анальгезия должна быть проведена для каждого животного, которое подверглось потенциально болезненной процедуре.

В российских условиях единственно доступными сильнодействующими препаратами являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Практика показывает, что из имеющегося многообразия препаратов можно выбрать достаточно эффективные, удобные и безопасные медикаменты. Поскольку эти препараты назначаются однократно, реже – 2-3 раза, они крайне редко вызывают нежелательные побочные явления. Тем не

менее, следует помнить о том, что некоторые НПВС (например, кетопрофен), может вызывать эрозии и язвы желудочно-кишечного тракта.

В качестве предоперационной анальгезии рекомендуется вводить препараты длительного (24-48 часов) действия. Следует учитывать, что после окончания времени действия введенных препаратов требуется дополнительная анальгезия. Примером такого анальгетика может быть 5%-ный раствор Норокарпа (Norbruck, Великобритания, Ирландия), действующее вещество карпрофен. При обширных полостных операциях он вводится за 30 мин до анестезии. Действие норокарпа продолжается 24 часа. Для удобства дозирования следует развести готовый раствор норокарпа водой д/и в соотношении 1:10 (1 часть раствора и 9 частей воды д/и). В полученном растворе будет содержаться 5 мг норокарпа (по действующему веществу карпрофену) в 1 мл. Доза для крыс и мышей составляет 5 мг/кг, п/к.

В качестве послеоперационной анальгезии могут быть использованы такие препараты, как:

Флекспрофен инъекционный (ВИК, Россия). Действующее вещество – кетопрофен, длительность действия 12 часов. Доза для мышей и крыс составляет 5 мг/кг, п/к.

Метакам инъекционный (BOEHRINGER INGELHEIM VET-MEDICA GmbH, Германия). Действующее вещество – мелоксикам, длительность действия до 24 часов. Доза для мышей 1-2 мг/кг, для крыс 1 мг/кг, п/к. Следует обратить внимание, что у некоторых животных мелоксикам может угнетать дыхательную функцию.

Локсиком суспензия для приема внутрь (Norbrook Laboratories Limited, Великобритания). При назначении анальгезии необходимо иметь различные формы медикаментов. Однако, следует учи-

тывать, что в угнетенном состоянии животное может отказываться от воды и корма, поэтому пероральное введение анальгетиков нужно контролировать. Если животное не пьет раствор анальгетика, или отказывается от питательного геля, содержащего лекарственную форму, то необходимо ввести препарат парентерально. Локсиком предназначен для использования в ветеринарии и представляет собой суспензию с привлекательным для животных вкусом (для крыс в большей степени, чем для мышей). В 1 капле содержится 0,1 мг мелоксикама. Для удобства дозирования можно развести водой д/и в соотношении 1:10 и поставить в отдельной чашке на дно клетки. Продолжительность действия 24 часа. Локсиком рекомендуется при проведении небольших хирургических процедур (кастрация, ампутация кончика хвоста для биопсии, внутривенные инъекции – в этих случаях можно назначать перед операцией), а также при раздражении или повреждении кожи, травмах в результате драки, повреждениях глаз.

Анальгин (Биосинтез, ОАО, Россия). Этот проверенный временем препарат некоторые источники [3] рекомендуют именно для лабораторных животных. Для удобства введения развести готовый раствор водой д/и в соотношении 1:20. Разведенный раствор будет содержать 25 мг метамизола в 1 мл. Доза для мышей 50-100 мг/кг, для крыс 30-60 мг/кг; водить п/к или в/б, продолжительность действия 8-12 часов.

Кроме медикаментозных средств анальгезии дополнительно применяются:

жидкостная терапия – комплекс мер, направленных на поддержание водно-солевого баланса организма; достигается путем введения в организм (в/в, п/к, п/о) солевых растворов натрия хлорида или Рингера;

кислородный режим – обеспечение животного воздухом с повышенным со-

держанием кислорода для увеличения обмена веществ и скорейшего восстановления после анестезии, обычно в специальной камере

температурный режим – комплекс мер по предотвращению перегрева или переохлаждения животного, обычно для этого используют подогреваемые операционные столы, подогреваемый пол в камерах для восстановления и др.

Адекватность проведенной анальгезии оценивается по внешним признакам: неспровоцированное поведение (питание, груминг, социальные взаимодействия, вокализация, внимание к болезненной области), внешний вид (состояние шерсти, глаз, видимых слизистых оболочек, тургор кожи, упитанность). В настоящее время разработаны специальные шкалы для определения боли и дистресса у грызунов [2].

И, наконец, собственно анестезия. Для хирургического наркоза в Питомнике используется смесь растворов препаратов Золетил 100 (Virbac, Франция; действующее вещество тилетамин гидрохлорид и золазепам гидрохлорид, 1:1) и Рометар (Spofa, Чехия; действующее вещество ксилазин гидрохлорид) в соотношении 1:1. Поскольку стандартная упаковка Золетила 100 содержит флакон с порошкообразным веществом, то для приготовления 5% раствора Золетила необходимо развести его 10 мл воды для инъекций. Готовый раствор можно хранить в холодильнике, не более 6 месяцев. Приготовленный таким образом раствор содержит 50 мг действующего вещества в 1 мл.

Для общей анестезии используется смесь 2%-ного раствора Рометара и 5%-ного раствора Золетила. Оба этих препарата хорошо дополняют друг друга, поэтому использование смеси представляется более удобным, чем использование отдельных компонентов. Чтобы получить раствор для наркоза, нужно смешать 1 мл стандартного раствора Золетила и 1 мл

готового раствора Рометара.

Наркоз вводится внутривенно. Расчетная доза по действующим веществам:

Золетил – мыши 40-60 мг/кг [5], крысы 20-40 мг/кг [6];

Рометар – мыши 15-25 мг/кг [5], крысы 7-15 мг/кг [6].

Следует отметить, что дозы наркоза необходимо предварительно отработать. Восприимчивость к действующим веществам зависит от возраста, пола, линии/стока животных, их состояния здоровья, и даже от условий в операционных. Мы рекомендуем начинать с нижней границы доз (то есть, например, с 40 мг/кг Золетила для мышей, и 20 мг/кг для крыс). При правильном подборе дозы животное достигает хирургической стадии наркоза в течение 5 минут, а уже через 1 минуту после введения можно начинать подготовительные процедуры (подготовка операционного поля и местную анестезию).

Глубину хирургического наркоза оценивают по следующим рефлексам (при достижении достаточной глубины анестезии эти рефлексы выпадают):

Веко – прикосновение к веку вызывает моргание. Если животное моргает, хирургический наркоз не достигнут.

Щипок пальца – щипок пальца или ступни (обычно задней конечности) вызывает болевой ответ. Если животное отдергивает лапу, оно не спит. Если не отдергивает, глубина анестезии достаточна. Следует проверять рефлекс на двух лапах.

Роговичный – прикосновение к роговице ватной палочкой вызывает моргание. Отсутствие этого рефлекса говорит о глубокой анестезии (у грызунов не опасно).

Если во время хирургической процедуры животное начинает выходить из наркоза, необходимо принять меры к адекватной анестезии/анальгезии, например:

когда операция уже заканчивается

(например, осталось положить швы на кожу), можно использовать местный анестетик (инъекционную форму лидокаина).

если осталось 1/3 времени операции, ввести местный анестетик и дополнительно ввести анальгетик для послеоперационной анальгезии. Или ввести инъекционный наркоз в/в (см. ниже).

Добавление дозы анестетика не всегда позволяет достичь нужной глубины анестезии, поэтому и рекомендуется тщательно отработать дозы введения до начала плановых операций. Тем не менее, можно ввести в/б от 1/3 до 1/2 исходной дозы, подождать 1-2 минуты. Как вариант, ввести в/в 1/10 исходной дозы (развести рабочий раствор анестетика физиологическим раствором 1/10). Животное должно войти в наркоз «на игле». Таким способом можно добавлять до 1/5 исходной дозы. При этом необходимо следить за дыханием и состоянием слизистых оболочек, особенно если не применяется ИВЛ. Если животное не входит в наркоз после повторных инъекций анестетиков, и лимит дозы исчерпан, то следует рассмотреть вопрос об эвтаназии.

В случае передозировки наркоза и развития симптомов дыхательной недостаточности (это, в частности, синюшность слизистых и брюшной тип дыхания) мы почти не можем помочь животному из-за его небольших размеров. Тем не менее, возможны следующие реанимационные действия:

- резко сдвинуть хвост в области анального отверстия;
- при помощи пинцета вытащить из ротовой полости язык и несколько раз подвигать его;
- применить вынужденную двигательную активность.

Дополнительная послеоперационная терапия включает описанные выше анальгетики и немедикаментозные методы. При асептических хирургических опера-

циях антибиотики не назначаются, если это не оговорено особо в протоколе исследования. Ткани животных более устойчивы к патогенной микрофлоре, чем ткани человека. Поэтому для животных, в большинстве случаев, достаточно наружной обработки раны одним из спреев (например, Террамицин, «Zoetis», США), 1 раз в сутки. Кроме того, при операциях, связанных с кровопотерей (катетеризация), возможно назначение дополнительной жидкостной терапии. Для этого готовый 0,9% раствор натрия хлорида набрать в шприц, подогреть до 36°C и вводить, соблюдая объемы введения, п/к или в/в.

Следует особо рассмотреть вопрос о голодании перед введением наркоза. Большинство источников, в том числе [1, 2, 3], не рекомендуют лишать крыс и мышей корма более, чем на 4 часа. Этого времени достаточно для полного опорожнения кишечника. Поскольку физиологически грызуны устроены так, что их кишечник постоянно заполнен кормовыми массами, длительное опорожнение кишечника может привести к обезвоживанию. Последнее состояние у мелких лабораторных животных очень опасно, потому что развивается молниеносно и может привести к гибели в течение нескольких часов. Перед хирургическими операциями голодание не обязательно; после выведения животного из наркоза и помещения его в клетку рекомендуется поместить на дно питательный гель, или смоченный водой корм, а иногда предлагают полужидкое пюре из измельченного корма.

Не менее важный вопрос – изоляция животных, которые восстанавливаются после операции. Для мышей желательно содержание в совместимых парах, поскольку они плохо переносят изоляцию. Если невозможно обеспечить совместную группу, следует поставить клетку так, чтобы изолированная мышь могла видеть, слышать и обонять других мы-

шей. Взрослых крыс допускается держать в изоляции после вмешательства (желательно, чтобы в соседних клетках были другие крысы).

В заключении хотелось бы сказать, что приведенная схема анестезии и анальгезии хорошо зарекомендовала себя для проведения таких хирургических операций, как катетеризация крупных сосудов, кесарево сечение, кастрация, торакотомия (операции на открытом сердце).

#### **Guidelines for laboratory animals anesthesia and analgesia**

**E. Fateeva, A. Chernov, G. Telegin.**

#### **ABSTRACTS**

Preclinical researches with use of live animals are more and more necessary in Russia. Respectively, the quantity of surgeries for which adequate anesthesia and analgesia of animals is required increased. Here researchers face two large problems: lack of reference books in Russian language and complexity with use of the equipment for gas anesthesia. Therefore the injection anesthesia which has the features of introduction, monitoring and recovery of an animal is most often applied. However the injection anesthesia doesn't possess analgesic properties in a necessary measure therefore at painful interventions introduction of additional medicines is necessary. In article we offer the working scheme of introduction of substances for anesthesia and analgesia of laboratory animals at surgical manipulations of various degree of complexity. We use for anesthesia a mixed solution of Zoletil 100 (Virbac, France) and Rometar (Spofa, Czech Republic). The combination of these drugs provides a reliable surgical anesthesia for laboratory rats and mice at about 30-50 minutes. Surgical anesthesia depth evaluates by the presence / loss of reflexes. Recovery time after anesthesia is 30-60 minutes, and it depends on environment conditions (recovery chamber, a heated surface or other equipment). Adequate postoperative analgesia may achieve by non-steroidal anti-

inflammatory drugs - carprofen, ketoprofen, meloxicam. In addition, much attention is paid to non-drug agents - oxygen and temperature conditions, as well as fluid therapy.

**Key words:** rats, mice, clinical examination, anesthesia, analgesia, pain, distress, injectable narcosis for surgery, reanimation.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Hedenqvist P., Hellebrekers L.J. Handbook of laboratory animal science. Laboratory Animal Analgesia, Anesthesia and Euthanasia // CRC Press. -2003.

2. Hankenson F.C. Critical Care Management for Laboratory Mice and Rats // CRC Press. -2013.

3. Hawk C.T., Leary S.L., Morris T.H. Formulary for laboratory animals. Third edition. -2005.

4. <http://www.rlsnet.ru/>

5. Suckow M.A., Danneman P., Brayton C. The laboratory mouse // CRC Press. -2001.

6. Sharp P.E., La Regina M.C. The laboratory rat // CRC Press. -1998.

УДК 59.089+619

## **ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Мужикян А.А. - младший научный сотрудник, Макарова М.Н. – профессор, д.м.н.,  
Гущин Я.А. - младший научный сотрудник, Санкт-Петербургский Институт Фармации



#### **РЕФЕРАТ**

Особая роль гистологической диагностики органов и тканей лабораторных животных в изучении фармакологических свойств различных препаратов требует разработки и внедрения новых способов и схем обработки исследуемого материала. Особую важность при этом представляет максимальная информативность получаемых данных, возможность проведения сравнительного гистологического анализа исследуемых тканевых и клеточных структур. Приведенные в работе стандартные подходы при извлечении органов лабораторных животных, их фиксации, вырезке и проводке позволяют получать стабильные результаты на стадии изготовления и анализа готовых гистологических препаратов. При этом существенно повышается достоверность и объем получаемых данных, позволяющих объективно судить о межгрупповых различиях в микроструктуре органов у разных животных в эксперименте и в тоже время иметь достаточно большой объем информации о гистологическом строении органов каждого животного. Предложенная схема гистологической обработки успешно применена на практике и может быть рекомендована для эффективного комплексного гистологического анализа органов и тканей лабораторных животных.

**Ключевые слова:** гистологические методы исследования, лабораторные животные.

#### **ВВЕДЕНИЕ**

В современной научно-исследовательской деятельности гистологическое исследование органов и тканей является необходимым и часто единственным возможным методом, позволяющим получить объективные данные о клеточных и

тканевых изменениях у человека и животных в норме и при патологии. Однако возможность получения достоверных сведений при гистологической обработке материала от лабораторных животных (в основном крыс и мышей) сопряжена с рядом особенностей, связанных с извле-

чением органов, их фиксацией, вырезкой и проводкой. Также, при оценке токсического действия препаратов, появляется необходимость в исследовании полного органокомплекса животных, включающего жизненно важные органы основных отделов сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, мочеполовой, эндокринной иммунной и нервной систем. Значительный объем исследуемого материала делает гистологическую обработку органокомплексов весьма длительной и трудоемкой. Вместе с тем, остается важной максимальной информативность получаемых данных, возможность проведения сравнительного гистологического анализа исследуемых тканевых и клеточных структур.

Для решения поставленных задач была применена схема гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных с использованием наиболее эффективных для рутинных исследований способов вырезки и проводки материала.

Известно, что качество готовых гистологических препаратов напрямую связано с рядом подготовительных и чрезвычайно важных процедур, включающих надлежащее извлечение органов эвтаназированного животного, фиксацию и последующую вырезку фрагментов материала для дальнейшей гистологической обработки. Если брать во внимание, что объективный сравнительный гистологический анализ органов у разных животных возможен только при исследовании одних и тех же тканевых структур, то применение стандартных подходов при извлечении органов и их вырезке приобретает в решении поставленного вопроса ключевое значение.

Оперативные доступы к органам у лабораторных животных и способы их извлечения хорошо описаны в отечественной и зарубежной литературе [1, 4]. Нужно лишь отметить, что целесообразно

извлекать и фиксировать даже сравнительно крупные органы лабораторных животных (печень, почки, сердце, легкие) целиком. Это позволяет, во-первых, зафиксировать материал, не травмируя его на стадии извлечения, когда любые грубые манипуляции, связанные с рассечением и сдавливанием органов приводят неизбежно к возникновению артефактов (рис. 1). Во-вторых, дает возможность хранить большой объем материала в виде влажного архива, что позволяет при необходимости проводить гистологическую обработку материала повторно.

Важными при извлечении органов лабораторных животных остаются два момента: использование достаточно острых инструментов, снижающих степень травмирования материала, и сокращение времени от момента гибели животного и извлечения органа до его фиксации. Так, даже не длительное нахождение без фиксации извлеченных органов лабораторных животных, в особенности мышей и крыс, приводит к появлению существенных аутолитических изменений. Особенно такие изменения проявляются в печени, почках, слизистой желудочно-кишечного тракта и часто ошибочно определяются как варианты паренхиматоз-

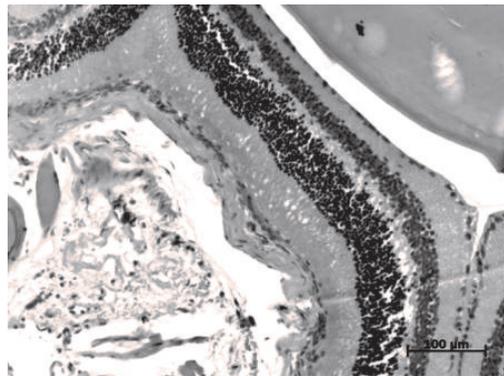


Рис. 1. Срез глаза мыши. Виден участок сдавливания тканей тупым предметом (стрелка), возникший при извлечении органа или его проводке. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 100

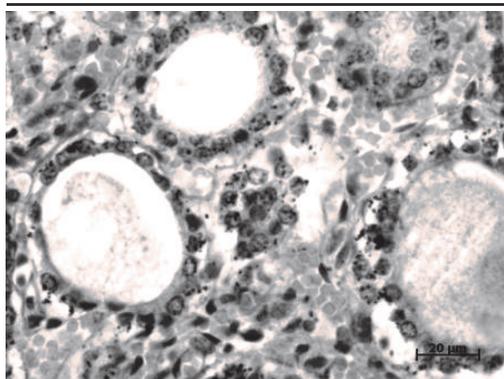


Рис. 2. Срез щитовидной железы крысы, фиксированной в кислом формалине. Обнаруживается формалиновый пигмент в виде небольших темно-коричневых частиц. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 400

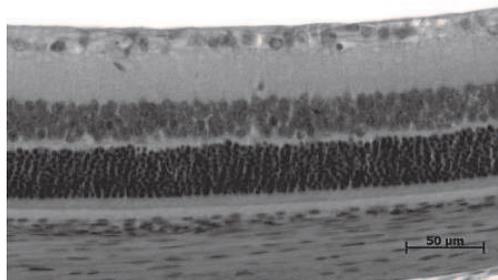


Рис. 3. Срез сетчатки глаза крысы, фиксированной в растворе Дэвидсона [6]. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 200

ных дистрофий, повреждения и десквамация эпителия и т.д. Полученный материал подвергается фиксации, предотвращающей аутолиз и сохраняющей прижизненное состояние клеток. Известно, то соотношение объема фиксируемого материала к объему фиксирующего раствора, если речь идет о 10% растворе нейтрального формалина, должно быть не менее 1:10, а время фиксации – не менее 24 часов. При фиксации материала, взятого от лабораторных животных, следует также учитывать емкость буфера и возможность смещения pH нейтрального раствора формалина в кислую сторону. Как показывает практика, фиксация кислым формалином часто приводит к возникновению артефактов – так называемого формалинового пигмента [5], проявляющегося уже на заключительных этапах изготовления гистологических препаратов (рис. 2).

Выбор фиксирующего раствора в значительной степени зависит от поставленных перед исследователем задач. Так, стандартная фиксация 10% раствором нейтрального формалина, пригодная для большей части рутинных исследований, значительно уступает раствору Дэвидсона или Буэна (рис. 3, 4) при фиксации сетчатки глаза крысы [6]. Также лучшие

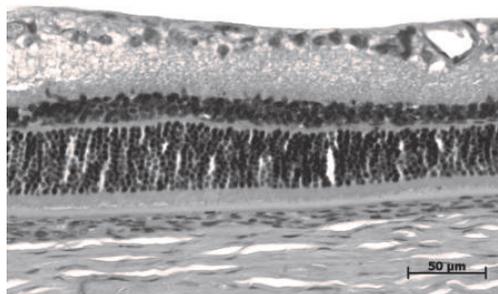


Рис. 4. Срез сетчатки глаза крысы, фиксированной в 10% растворе нейтрального формалина. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 200

результаты при проведении иммуногистохимических реакций получены от материала, фиксированного в цинк-этанол-формальдегиде [2].

На стадии вырезки материала особенно важно извлечение одних и тех же фрагментов из зафиксированных органов, а также возможность исследования максимального количества структур каждого органа. При гистологической обработке органокомплексов лабораторных животных, если предполагается дальнейшая заливка материала в парафин, наиболее эффективным и целесообразным является использование следующих способов секции органов.

Из трубчатых органов (пищевод, грудная часть аорты, кишечник, трахея) двумя поперечными разрезами выделяются фрагменты длиной 3-5 мм, которые впоследствии при заливке и изготовлении срезов располагается вертикально. Это позволяет исследовать все оболочки органа, сохраняя при этом межтканевые связи и содержимое полостей.

Головной мозг. Двумя поперечными срезами вырезается участок мозга в районе вхождения зрительных нервов, в 2-3 мм от переднего края. Толщина среза – около 3 мм. Вырезанный участок забирается для гистологического исследования, остальные два остаются в архиве. Такой способ особенно применим при исследовании головного мозга кролика, отличающегося хрупкостью и мягкой консистенцией даже после длительной фиксации. В случае если изготовление серийных срезов затруднено, но есть необходимость в исследовании максимального количества структур переднего, среднего и заднего отделов, рекомендуется брать для гистологического исследования фрагмент мозга, полученного путем секции органа в сагиттальной плоскости.

Сердце. Двумя поперечными срезами вырезается участок сердца в области желудочков. Толщина среза около 3 мм.

Легкие. Одним разрезом с дорсальной стороны разделяются правое и левое легкие, и берется левое легкое (не подразделяющееся на доли). Левое легкое разрезается в продольном направлении на две части приблизительно по месту прохождения бронха. Для гистологического исследования берется проксимальная часть левого легкого. Данный срез позволит изучить и бронхи, и альвеолярную ткань легкого.

Тимус разрезается в продольном направлении на две части, одна часть берется для гистологического исследования, другая остается в архиве.

Почка разрезается двумя разрезами

через центр в сагиттальной и поперечной плоскостях, так чтобы на срезе было как мозговое, так и корковое вещество. Для гистологического исследования берется четверть почки (у крысы и кролика), либо половина (у мыши).

Селезенка. Двумя поперечными срезами в центре органа вырезается сегмент толщиной 3 мм.

Печень. Из произвольного участка доли печени вырезается сегмент толщиной 2-3 мм. Площадь вырезанного сегмента должна примерно соответствовать площади остальных органов, взятых для гистологического исследования (20-40 мм<sup>2</sup>).

Надпочечник для гистологического исследования не разрезается и помещается в кассету целиком. Второй надпочечник остается в архиве.

Яичник для гистологического исследования не разрезается и помещается в кассету целиком. Второй яичник остается в архиве.

Семенник разрезается двумя поперечными срезами. Для гистологического исследования берется извлеченный фрагмент. Остальные части семенника остаются в архиве. Нарушение целостности белочной оболочки семенника из-за особенностей микроструктуры органа ведет к разрушению межтканевых связей, усложняющих исследование органа при гистологическом анализе уже готовых препаратов. Поэтому дополнительное деление пусть даже крупного фрагмента органа не рекомендуется.

Щитовидная железа либо извлекается вместе с прилежащим к ней участком трахеи и располагается при заливке вертикально, либо для гистологического исследования препарируется одна доля, а другая остается в архиве.

Шейные лимфатические узлы извлекаются вместе с подчелюстной слюнной железой, разрезаются в продольном направлении на две части, одна из которых

идет в проводку, а другая – в архив.

Хвостовые вены, нервы, сухожилия перед проводкой окрашиваются водно-спиртовым раствором метиленового синего для лучшей визуализации в парафиновых блоках при изготовлении срезов.

Указанные способы вырезки материала позволяют с одной стороны получить достаточно информативные гистологические препараты, пригодные для сравнительного анализа, с другой – сохранить в виде влажного архива большой объем материала для дальнейших исследований с применением других методик или для проведения ретроспективного анализа.

Для последующей проводки материал помещают в промаркированные кассеты

по одному или несколько органов от животного. При этом, целесообразно помещать в одну кассету фрагменты сердца, печени, селезенки, легкого, почки; во вторую – головной мозг, тимус, гонады, надпочечники; в третью – желудок, кишечник, трахею, слюнную, поджелудочную и щитовидную железы (рис. 5-8). Такое расположение объясняется механической плотностью тканей после заливки, что облегчает последующее изготовление срезов.

Несмотря на большой спектр различных стандартных способов проводки материала, хорошо зарекомендовавших себя на практике, наиболее стабильные результаты получены нами при стандартной

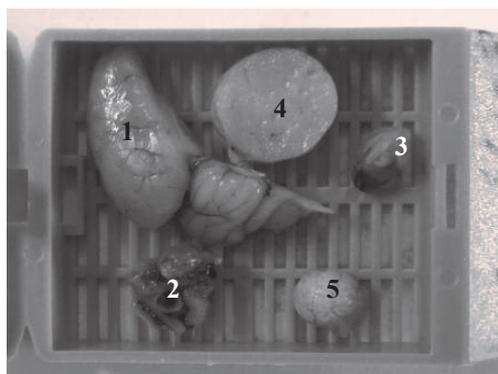
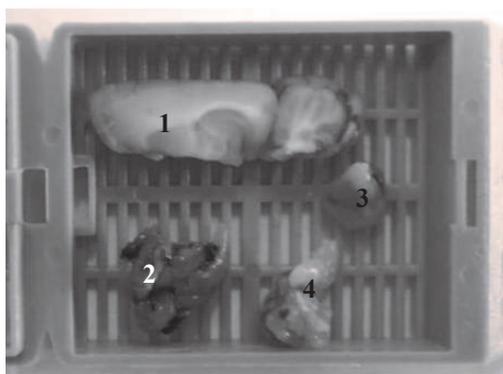


Рис. 5-6. Фрагменты органов крысы после вырезки: головной мозг (1), тимус (2), надпочечник (3), яичник (4), семенник (5), придаток семенника (6).

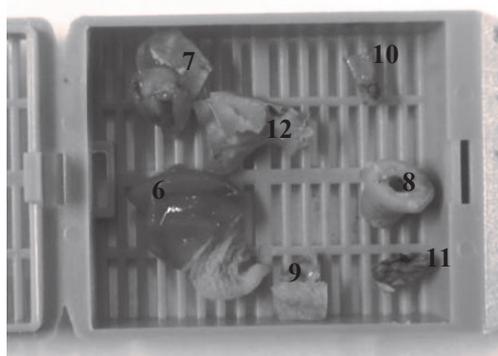
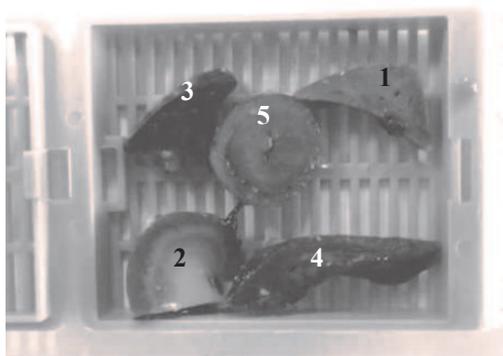


Рис. 7-8. Фрагменты органов крысы после вырезки: печень (1), почка (2), селезенка (3), легкое (4), сердце (5), желудок (6), подчелюстная слюнная железа с лимфатическим узлом (7), толстая кишка (8), трахея (9), пищевод (10), щитовидная железа (11), поджелудочная железа (12).

проводке с использованием изопропилового спирта [3, 7]. Преимуществом такого способа является также длительность проводки, не превышающая обычно 18-24 часов. Материал затем последовательно переносится в две порции парафина разогретого до 56-58<sup>0</sup>С, в каждую на 1,5 часа, после чего осуществляется заливка органов. При этом особое внимание обращают на ориентацию материала по отношению к плоскости среза.

Изготовление срезов осуществляется на санном или ротационном микротоме. Окраску срезов проводят общепринятыми методами, без особенностей.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, приведенные стандартные подходы в гистологической обработке материала от лабораторных животных позволяют получать стабильные результаты на стадии изготовления срезов, окраски и анализа готовых препаратов. Существенно повышается достоверность и объем получаемых данных, позволяющих объективно судить о межгрупповых различиях в микроструктуре органов у разных животных в эксперименте и в тоже время иметь достаточно большой объем информации о гистологическом строении органов каждого животного. Предложенная схема гистологической обработки успешно применена на практике и может быть рекомендована для эффективного комплексного гистологического анализа органов и тканей лабораторных животных в норме и при патологии.

**Features histological processing of organs and tissues of laboratory animals.**

**A. Muzhikyan, M. Makarova, Y. Gushin.**

### **ABSTARCTS**

Histological examination of organs and tissues of laboratory animals is one of the most important steps in the investigation of drug effects. It requires implementation of new approach in data collection and data

analysis. The data obtained should be highly informative. It is strongly recommended to perform comparative analysis. The paper describes the methods of the preparation of histological sections which allows obtaining reproducible results. The method of data gathering and analyses is aimed to increase data validity and accuracy. Proposed technique of data collection allows identifying and quantifying between group differences. Problems typical of the method of histological examination and the measures to reduce their effect are discussed. The paper highlights the sources of artifacts that occur during tissue fixation and section. Significantly increases the accuracy and the amount of received data to objectively judge the intergroup differences in the microstructure of different animals in the experiment and have a sufficiently large amount of information on the histological structure of each animal. The ways for organ sectioning for subsequent histological processing are described. The proposed method is successfully applied in practice and can be recommended as a tool for effective and comprehensive histopathological examination of the tissue in laboratory animals.

**Key words:** histological methods, laboratory animals.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. Москва. -2010. -173 с.
2. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В., Основы гистологической техники // СпецЛит. - 2010. -96с.
3. Криволапов Ю.А., Леенман Е.Е. Морфологическая диагностика лимфом. - М.: «ИПК Коста». -2006. - 208 с.
4. Саркисов Д. С., Перов Д. С. Микроскопическая техника. Руководство Москва. «Медицина». -1996. - 544 с.
5. Dawson T.P., Neal J.W. and all. Neuropathology techniques. // London: Arnold. - 2003. -118p.

6. Latendresse J.R., Warbritton A.R and all. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. // Toxicol. Pathol. -2002. -Vol.30. -P. 524-

533.

7. René J. Buesa Maxim Peshkov V. Histology without xylene. // Annals of Diagnostic Pathology. - 2009. -Vol.13. -P. 246-256.

УДК: 615.038

## ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА НОВЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Ацапкина А.А. - младший научный сотрудник, Крышень К.Л. - младший научный сотрудник, Макарова М.Н. - д.м.н., профессор, Макаров В.Г. - д.м.н., профессор, Санкт-Петербургский институт фармации



### РЕФЕРАТ

Анализ генетической токсичности позволяет выявить вещества, обладающие способностью повреждать ДНК и/или хромосомы клеток. Подобные повреждения могут приводить к мутациям и увеличению риска появления рака и врожденных дефектов. Исследования генетической токсичности и мутагенности являются необходимыми при оценке опасности фармакологических средств. Важную роль в выявлении и оценке веществ повреждающих ДНК играют исследования с использованием бактериальных тест-систем, в виду их простой реализации, быстроты, широкого применения, высокой чувствительностью и хорошей воспроизводимости. Открытие Б. Эймсом и коллегами в 1970 году микросомального мутагенного теста положило начало развитию генотоксических исследований на бактериальных тест-системах, которые по-прежнему являются актуальным предметом исследования. Основным принципом теста является реверсия микроорганизмов под действием потенциальных мутагенов и переход из ауксотрофного состояния (отсутствие роста на безгистидиновой среде) к прототрофности. Крайне важным аспектом генотоксических исследований является биоактивация тестируемых соединений. Наиболее широко применяется внеклеточная метаболическая активация путем добавления в систему гомогената печени крыс. Таким образом, рациональный подход к применению бактериальных тест-штаммов привел к созданию специфичного и чувствительного инструмента для быстрого, надежного и экономически выгодного анализа в генотоксикологии, что играет большое значение при оценке рисков фармакологических веществ.

**Ключевые слова:** лекарственный мутагенез, бактериальные тест-системы, генотоксичность, мутагенность.

### ВВЕДЕНИЕ

Лекарственный мутагенез является одним из аспектов проблемы генетических последствий химического мутагене-

за [Рапопорт И.А., 1970; Бочков Н.П., 1997; Дубинин Н.П., 1999]. В условиях интенсивного развития фармацевтической промышленности каждый человек

становится объектом воздействия лекарственных препаратов [4]. Здоровье будущего поколения людей в значительной степени зависит от того, какой генетический груз они накопили в виде мутаций. Мутагенность основной прогностический признак канцерогенной активности ксенобиотиков. Поражение генома человека ведет к появлению различных патологий: злокачественным новообразованиям, спонтанным абортam, множественным порокам развития у детей, преждевременному старению и многим другим [Бочков Н.П., 1992].

Химические агенты способны индуцировать любую из трех общих мутаций: генные, хромосомные и геномные. Универсального метода обнаружения всех типов мутаций в настоящее время не существует. Оценка риска возникновения мутаций не может быть проведена непосредственно на человеке, поэтому были разработаны методы регистрации генотоксических эффектов ксенобиотиков [Абилев С.К., 2012].

Методы генетической токсикологии позволяют выявить мутации генетического материала всех типов. Анализы измерения генетических мутаций позволят определить дополнение, замену или потерю нуклеотидов в гене. Анализы хромосомных мутаций определяют нарушения или хромосомную перестановку одной или нескольких хромосом. Анализы геномных мутаций определяют изменение числа хромосом (анэуплодия).

Методы оценки изменений генетического материала постоянно совершенствуются в сторону быстроты выполнения, снижения стоимости исследования с сохранением их чувствительности и специфичности.

Главным принципом тестирования химических соединений на мутагенность является ступенчатая система исследований, включающая этап выявления мутагенов с помощью краткосрочных тестов и

этап количественной оценки мутагенности веществ в опытах на млекопитающих.

#### **Основные подходы генетической токсикологии**

В настоящее время наибольшее распространение получили методы анализа генных хромосомные мутаций. Анализ генных мутаций включает применение бактериальных тест-систем: тест Эймса на индикаторных штаммах *S. typhimurium*, репарационный тест *E.coli* (индукция SOS-ответа). Анализ хромосомных мутаций включает индукцию хромосомных aberrаций или микроядер в клетках костного мозга млекопитающих.

Для создания тест-систем основополагающим фактором является краткосрочность их выполнения, ускоренные методы предсказания мутагенного риска для человека по отношению к стандартным методам определения мутагенности на животных. Мутагены, обнаруженные при скрининге, в дальнейшем подвергаются исследованию на тест-системах, позволяющих учитывать индукцию генетических нарушений в клетках млекопитающих *in vitro* и *in vivo*.

Поскольку краткосрочные тесты способны моделировать лишь отдельные стадии мутагенеза, наиболее информативным является формирование набора тестов, так называемых батарей тестов [Тарасов В.А., 2003]. Тесты, включаемые в одну батарею, должны быть взаимодополняющими, отличаться по конечному эффекту (повреждение ДНК, генные мутации, хромосомные aberrации, неопластическая трансформация, нарушение метаболической кооперации) или по уровню биологической организации объекта исследования (прокариоты, эукариоты, системы *in vitro*, *in vivo*). Последовательность исследований заключается в движении от простых к сложным и от кратких к более длительным экспериментам, которые должны пройти надлежащую валидацию на соединениях с извест-

ной мутагенной активностью.

Наиболее полно требованиям, предъявляемым к скрининговым методам тестирования на генотоксичность, отвечают микробные тест-системы, основанные на использовании специально сконструированных штаммов бактерий.

Тесты, при приемлемой стоимости и достаточной разработанности, должны быть высокочувствительными, специфичными и обладать большой пропускной способностью. По этим требованиям лидирует тест, разработанный в 1973 году американским исследователем Б.Эймсом [Ames B.N. et al., 1973]. Метод основан на способности мутагенов вызывать обратные мутации (реверсии) к прототрофности у ауксотрофных по гистидину штаммов *S.typhimurium*. Ревертировавшие под действием мутагена клетки при высеве на селективную питательную среду образуют колонии. Если тестируемый агент является мутагеном, в его присутствии число таких колоний будет больше, чем в контроле (спонтанный уровень мутаций).

Все штаммы являются производными лабораторного штамма *Salmonella typhimurium* LT-2, от которого под действием различных мутагенных агентов были получены ауксотрофные по гистидину мутанты G-46, C-207, C-3076 и D-3052. Первый мутант имеет мутацию замены оснований в С-гене гистидинового оперона и ревертирует к прототрофности под действием мутагенов, вызывающих соответственно мутации замены пар оснований. Остальные мутанты несут мутации типа сдвига считывания в С (C-207 и C-3076) и D (D-3952) генах и ревертируют только под действием мутагенов, вызывающих этот тип мутаций [Ames B.N., 1971]. Для повышения чувствительности этих мутантов к действию мутагенов в геном индикаторных бактерий внесены дополнительные мутации, которые позволили получить широко используемые в настоящее время штаммы. Делеция *uvrB* захватывает

биотиновый оперон, часть галактозного оперона и ген *uvrB*. Последний дефект вызывает нарушение системы эксцизионной репарации, что еще более повышает чувствительность тестерных штаммов к действию ряда мутагенов. Мутация *gfa* увеличивает проницаемость клеточной стенки вследствие дефектов в полисахаридном слое.

Широкое применение нашли штаммы, несущие плазмиду рКМ 101. Новые штаммы ТА 100 и ТА 98, полученные путем передачи этой плазмиды соответственно в штаммы ТА 1535 и ТА 1538, оказались более чувствительны к действию ряда веществ, чем исходные бесплазмидные штаммы.

Характеристика индикаторных штаммов *Salmonella typhimurium* представлена в таблице 1.

Активной формой многих мутагенов являются их высокоактивные метаболиты, поэтому необходимым дополнением ряда краткосрочных тестов является воспроизведение метаболизма *in vitro*. С этой целью в исследованиях Malling H.V. [2004] было показано, что печень грызунов содержит большое количество ферментов, необходимых для осуществления метаболического превращения или активации. Таким образом, многие методы генетической оценки *in vitro* проводятся с добавлением аналогичных ферментных препаратов. Простые препараты называются смесью S9, а очищенные – микросомами.

В классическом исполнении тест Эймса проводится в чашках Петри с использованием плотной питательной среды, не содержащей гистидин. В данном варианте количество чашек соответствует тестируемому штамму бактерии и количеству тестируемых концентраций. В связи с этим метод является громоздким и трудоемким.

В литературе описаны различные модификации теста Эймса [Maron D.M.,

Таблица 1

Характеристика тест-штаммов *Salmonella typhimurium*

Штаммы	Мутации			Плазмида рКМ 101	Тип регистрируемых мутаций
	ауксотрофность по гистидину	rfa	uvrB		
G-45	G-46	-	-	-	Замена оснований
ТА 1950	G-46	-	+	-	Замена оснований
ТА 1534	D-3052	-	+	-	Сдвиг считывания
ТА 1535	G-46	+	+	-	Замена оснований
ТА 1536	C-207	+	+	-	Сдвиг считывания
ТА 1537	C-3076	+	+	-	Сдвиг считывания
ТА 1538	D-3052	+	+	-	Сдвиг считывания
ТА 100	G-46	+	+	+	Замена оснований
ТА 98	D-3552	+	+	+	Сдвиг считывания

Ames B.N., 1983], такие как «градиент» - тест Эймса и автоматизированный «спиральный» тест Эймса [Diehl M., Fort F., 1996], тест Эймса, основанный на биолюминесцентном методе [Guadano A. Et al., 1999]. Основная идея усовершенствований – автоматизация процедуры тестирования и повышение чувствительности к отдельным типам мутагенов.

Наиболее оптимальным является тест Эймса в микропланшетном формате с использованием 384-луночных планшет. В данной модификации применяется жидкая культуральная основа с добавлением индикаторной среды. Таким образом, при наличии мутагенных свойств тестируемого агента рост *S.typhimurium* сопровождается изменением цвета среды в лунках планшеты. С использованием 384-луночных планшет можно одновременно оценить мутагенные свойства сразу нескольких концентраций ксенобиотика. Сравнение с негативным контролем позволяет провести оценку цитотоксического эффекта тестируемого агента на бактериальные клетки, что важно при выборе диапазона доз для исследования потенциальной мутагенной активности. К недостаткам данной модификации можно отнести время селекции мутантных колоний, которой по-прежнему составляет 48 часов. Кроме того, метод не позволяет оце-

нить мутагенную активность образцов, содержащих токсические компоненты.

К достоинствам применения бактериальных тестов относятся экономичность, высокая чувствительность, возможность автоматизации [Савицкая И.С., 2007]. Возможно, будущие исследования позволят создать совершенные методы, которые позволят проводить более точный прогноз.

#### Bacterial test systems to evaluate the potential mutagenic effect of new drugs

A. Atsapkina, K. Kryshen, M. Makarova, V. Makarov.

#### ABSTRACT

Genetic toxicity refers to the ability of substances or physical agents to damage the DNA and/or chromosomes of cells. Such damage can lead to mutations that increase the likelihood of certain diseases, such as cancer and birth defects. Genotoxicity and mutagenicity testing are an important part of the hazard assessment of pharmaceutical compound for regulatory purposes.

Genotoxicity test systems that are based on bacteria display an important role in the detection and assessment of DNA damaging chemicals. They belong to the basic line of test systems due to their easy realization, rapidness, broad applicability, high sensitivity and good reproducibility. Since the development of the *Salmonella* microsomal

mutagenicity assay by Ames and coworkers in the early 1970, significant development in bacterial genotoxicity assays was achieved and is still a subject matter of research. The basic principle of the mutagenicity assay is a reversion of a growth inhibited bacterial strain, due to auxotrophy, back to a fast growing phenotype (regain of prototrophy). A very important aspect of genotoxicity testing is the bioactivation of drugs to DNA-damaging compounds. Most widely used is the extracellular metabolic activation by making use of rodent liver homogenates. In summary, beginning with «natural» tester strains the rational design of bacteria led to highly specific and sensitive tools for a rapid, reliable and cost effective genotoxicity testing that is of outstanding importance in the risk assessment of compounds and in genotoxicology.

**Key words:** drug mutagenesis, bacterial test systems, genotoxicity, mutagens.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Абилов С.К. Химические мутагены и генетическая токсикология // Генетика. - 2012. -№10. -С. 39-46
2. Бочков Н.П. Клиническая генетика. М.: Медицина. -1997. -С. 180.
3. Бочков Н.П., Катосова Л.Д. Генетический мониторинг популяции человека при реальных химических и радиационных нагрузках. Вестник РАМН. -1992. -№4. -С. 10-14.
4. Дубинин Н.П. Некоторые проблемы современной генетики. М.: Наука. -1999. -С. 222.
5. Рапопорт И.А. Химические мутагены, опасные для человека. Проблемы медицинской генетики. М.: Медицина. -1970. -С. 249-287.
6. Савицкая И.С., Махмудова Г.С., Кистаубаева А.С., Ахметова Ж.А. Перспективы использования автоматизированных бактериальных тест-систем для массового скрининга генотоксичных агентов в почве // Сборник материалов II Международной конференции «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнобразия». Бишкек. -2007. -С. 278-280.
7. Тарасов В.А., Абилов С.К., Велибеков Р.М., Асланян М.М. Эффективность батарей тестов при оценке потенциальной мутагенной опасности химических соединений // Генетика. -2003. -Т. 39. -№10. -С. 1406-1417.
8. Ames B.N., Lee F.D., Durston W.E. An improved bacterial system for the detection and classification of mutagens and carcinogens // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. -1973. -Vol.70. -P. 782-786.
9. Chankong V., Yacov Y. Haimes, Herbert S. Rosenkranz, Pet-Edwards J. Carcinogenicity prediction and battery selection (CPBS) method: a Bayesian approach // Mutation Research. -1985. -Vol.153. -P. 135-166.
10. Diehl M., Fort F. Spiral Salmonella assay: validation against the standard pour-plate assay // Environ. Mol. Mutagen. -1996. -Vol.27. -P. 227-236.
11. Guadano A., Pena E., Azucena G.C., Jose F.A. Development of new bioluminescent mutagenicity assay based on the Ames test // Mutagenesis. -1999. -Vol.14. -№ 4. -P. 411-415.
12. Maron D.M., Ames B.N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test // Mutation Research. -1983. -Vol.113. -P. 173-215.

<p>Форма ПД4</p> <p>ООО «Научно-исследовательский институт ветеринарной фармации»ЭВРИКА» (Наименование получателя платежа) ИНН 7810288164 / КПП 781001001 Р/с № 40702810250103000270 (ИНН, КПП и номер счёта получателя платежа) Банк: ОАО «Рускобанк» г. Всеволожск БИК 044106725 к/с 30101810200000000725 Наименование банка и банковские реквизиты Подписка на журнал «Международный вестник ветеринарии» (4 номера) (наименование платежа) Дата Сумма платежа: 2000руб.00 коп. (в цену включена доставка) Информация о плателльщике: _____ Адрес доставки: _____</p> <p>Плателльщик _____ (ФИО, индекс, адрес, телефон)</p> <p>Форма ПД4</p> <p>ООО «Научно-исследовательский институт ветеринарной фармации»ЭВРИКА» (Наименование получателя платежа) ИНН 7810288164 / КПП 781001001 № 40702810250103000270 (ИНН и номер счёта получателя платежа) Банк: ОАО «Рускобанк» г. Всеволожск БИК 044106725 к/с 30101810200000000725 Наименование банка и банковские реквизиты Подписка на журнал «Международный вестник ветеринарии» (4 номера) (наименование платежа) Дата Сумма платежа: 2000руб.00 коп. (в цену включена доставка) Информация о плателльщике: _____ Адрес доставки: _____</p> <p>Плателльщик _____ (ФИО, индекс, адрес, телефон)</p> <p>(подпись, расшифровка подписи)(подпись, расшифровка подписи)</p>	<p><b>БЛАНК ЗАКАЗА</b> на журнал <b>«МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕ- РИНАРИИ»</b> На 2014 год</p> <p>Ф.И.О. / название организации _____ _____</p> <p>Телефон _____</p> <p>Индекс _____</p> <p>Область, район _____</p> <p>Город _____</p> <p>Улица _____</p> <p>Дом _____ квартира _____</p> <p>Организация _____</p> <p>Квартира/офис _____</p>
--	---

## Качественные расходные материалы для Ваших лабораторий

Первая Лабораторная Компания была основана в 2010 году, и за годы работы стала ведущим производителем и поставщиком гистологических расходных материалов на рынке.

Успех основан на простой формуле: «Качественная продукция по разумным ценам». В данный момент мы производим более 70 различных реагентов, красителей, наборов красителей и сопутствующих расходных материалов. Мы постоянно находимся в поисках и разработках новых продуктов для лабораторной диагностики. Для этого мы прислушиваемся к интересам наших клиентов и партнеров, привлекаем опытных специалистов для реализации идей и тестирования новых разработок, тщательно выбираем поставщиков материалов и всегда следим за качеством готовой продукции.



химические реактивы   красители   наборы красителей   стекла для микроскопии   гистологический парафин   монтирующие среды   маркировка

### Собственное производство, умные цены!



ПЕРВАЯ  
ЛАБОРАТОРНАЯ  
КОМПАНИЯ

+7 (812) 331-00-30  
info@1plk.ru  
www.1plk.ru  
Санкт-Петербург  
Свердловская набережная д. 60

Профилактика и лечение нарушений  
репродуктивной функции у животных

## КАРОФЕРТИН®

Эффективен для:

- Стимуляции клинических признаков охоты за счет повышения уровня эстрогенов;
- Стимуляции овуляции;
- Предотвращения образования кист яичника;
- Сохранения/поддержания беременности за счет увеличения уровня прогестерона;
- Нормализации процесса имплантации зародыша за счет усиления активности желез эндометрия;
- Снижения индекса осеменения и увеличения уровня оплодотворяемости;
- Повышения количества жизнеспособного приплода у свиней;
- Ускорения инволюции матки в послеродовой период;
- Снижения вероятности задержания последа и риска развития эндометритов;
- Повышения иммунитета новорожденных животных за счет повышения концентрации бета-каротина в молозиве.



Состав:  
β-каротин 10 мг/мл  
Витамин Е



Форма выпуска: флаконы по 100 мл  
Производитель: ALVETRA u. WERFFT GmbH, Австрия.  
Per. № ПВИ-2-10.9/02984

ALVETRA WERFFT AG

Эксклюзивный дистрибьютор:

"НЕВА-ВЕТ" ГК, Санкт-Петербург, Кантемировская ул. д. 33,  
тел./факс: (812) 596-37-75, [www.vetapteka.ru](http://www.vetapteka.ru)

# МВВ

Редакция журнала  
«Международный вестник  
ветеринарии»  
196084, Санкт-Петербург,  
Черниговская 5, СПбГАВМ.  
Телефон/факс (812) 387-11-58  
Mail to: [farm07@mail.ru](mailto:farm07@mail.ru)