

ISSN 2072-2419



№ 4

Международный Вестник Ветеринарии

INTERNATIONAL BULLETIN
OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2015

www.spbgavm.ru

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

4.2015

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 20.01.2016

Подписано к печати 20.01.2016

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянцевая № 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 03/10/2015

Signed for printing 14/09/2015

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 расположено: Университет Бари Альдо Моро является высшим учебным заведением в Бари, Апулия, на юге Италии. Университет был основан в 1925 году и является государством университетом, который делится на 12 факультетов, среди которых ветеринарной медицины. Университет является одним из самых престижных и крупнейших университетов в Южной Италии, и насчитывает около 60.000 студентов.

**НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ
ЖУРНАЛ**

Номер госрегистрации 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

Инвазионные болезни	• Экономический эффект при применении отечественных противопаразитарных препаратов. <i>Токарев А.Н.</i>	7
Терапия	• Препараты «Иммомаст-А» и «Иммомаст-Б» в лечении мастита лактирующих коров. <i>Блохин А.А., Исаев В.В., Гладкова Н.А.</i>	10
	• Коррекция иммунодефицитов телят комбинированным применением препаратов «Иммуноветон-Кс» и «Фурор». <i>Исаев В.В., Блохин А.А., Бурова О.А.</i>	16
Фармакология, токсикология, фармация	• Применение митофена с кормом курам-несушкам и его влияние на показатели качества куриного яйца. <i>Святковский А.А., Андреева Н.Л.</i>	21
	• Антиоксическая функция печени и местно-раздражающие свойства препарата Иверсан. <i>Мелнис Р.И., Новиков Д.Д.</i>	27
	• Острая токсичность препарата Иверсан. <i>Мелнис Р.И.</i>	30
Зоогигиена, Санитария, Кормление	• Изучение антигенной активности изолята вариантного вируса инфекционного бронхита кур как компонента инактивированной вакцины. <i>Самусева Г.Н., Дубовой А.С.</i>	32
	• Повышение антигенной активности инактивированной эмульгированной вакцины против метапневмовирусной инфекции птиц. <i>Дубовой А.С., Самусева Г.Н., Сморгачева Т.Н.</i>	36
Биохимия, анатомия, физиология	• Физиологические механизмы компенсации кислородной задолженности при восстановлении функционального состояния в ходе интенсивных тренировок. <i>Алистратова Ф.И., Скопичев В.Г.</i>	40
	• Опыт применения вакуум-градиентной терапии в ортопедии и неврологии мелких домашних животных. <i>Семёнова А.Е.</i>	47
	• Материалы по возрастной морфологии гипофиза и семенника парнокопытных животных на примере овцы дагестанской горной породы. <i>Атагимов М.З., Хасаев А.Н.</i>	52
	• Гистопатология эндемического зоба. <i>Пилов А.Х.</i>	58
Экспериментальная фармакология	• Морфологические изменения эритроцитов при репаративном остеогенезе у кроликов. <i>Уша Б.В., Концевая С.Ю., Луцай В.И., Фатеева Е.И.</i>	62
	• Преимущества и недостатки некоторых методов оценки острой токсичности. <i>Калатанова А.В., Селезнева А.И., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	68
	• Применение компьютерной томографии при оценке состояния органов и тканей лабораторных животных. <i>Мушкиян А.А., Макарова М.Н.</i>	73
	• Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями. <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н.</i>	81
	• Применение теста «принудительное плавание» при проведении доклинических исследований. <i>Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Горячева М.А.</i>	90
	• Список статей опубликованных в 2015 году	96

CONTENTS

Parasitic diseases	• Economic effect in the application of Russian antiparasitic drugs. <i>A.N. Tokarev.</i>	7
Therapy	• Preparations “Immomast-A” and “immomast-B” in therapy of mastitis in lactating cows. <i>A. Blokhin, V. Isaev, N. Gladkova.</i>	10
	• Correction of immunodeficiencies in calves by combined use of preparations “Immoveton-Ks” and “Furor”. <i>V. Isaev, A. Blokhin, O. Burova.</i>	16
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• Application of the mitophen with feeding for laying hens and its impact on quality of the chicken eggs. <i>A. Sviatkovskii, N. Andreeva.</i>	21
	• Antitoxic function of the liver and locally irritating properties of the drug Iversan. <i>R. Melnis, D. Novikov.</i>	27
	• Acute toxicity Iversan. <i>R. Melnis.</i>	30
Zoohygiene, Sanitation, Feeding	• The study of the antigenic activity of isolate of avian variant infectious bronchitis virus as a component of the inactivated vaccine. <i>G. Samuseva, A. Dubovoi.</i>	32
	• Increasing of the antigenic activity of inactivated emulsion vaccine against avian metapneumovirus infection. <i>A. Dubovoi, G. Samuseva, T. Smorchkova.</i>	36
Biochemistry, anatomy, physiology	• Physiological mechanisms of compensation of oxygen deficiency during recovery of functional status in intense training. <i>F. Alistratova, V. Skopichev.</i>	40
	• Experience of using vacuum-gradient therapy in orthopedics and neurology in small animals. <i>A. Semionova.</i>	47
	• Study of the anterior pituitary and testis age morphology of cloven-hoofed mammals of the dagestan mountainous ship. <i>M. Atagimov, A. Khasaev.</i>	52
	• Histopathology of endemic goiter. <i>A. Pilov.</i>	58
Experimental pharmacology	• Morphological study of erythrocytes shape changes through osteogenesis in rabbits. <i>B. Usha, S. Concevay, V. Lutsay, E. Fateeva.</i>	62
	• Advantages and disadvantages of some methods of evaluating acute toxicity. <i>A. Kalatanova, A. Selezneva, M. Makarova, V. Makarov.</i>	68
	• Using the CT scan for assessment of organs and tissues of laboratory animals. <i>A. Muzihikyan., M. Makarova.</i>	73
	• Sanitary inspection of experimental clinic (vivarium) with using local and international requirement. <i>A. Rybakova, M. Makarova.</i>	81
	• Application of «forced swimming» test for preclinical trials. <i>M. Kovaleva, M. Makarova, V. Makarov, M. Goryacheva.</i>	90
	• List of articles were published in 2015	96



ЭКОНОМИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРОТИВОПАРАЗИТАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Токарев А.Н. – к.вет.н., доцент кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Экономический эффект при сравнении затрат на обработку 100 голов крупного рогатого скота средней массой тела 500 кг препаратами Эймерт-суспензия 5% и Байкокс 5% в терапевтических дозах составил 70200 рублей, препаратами Монизен и Фазимек оральный – 39030 рублей, препаратами Дельцид и Бутокс 50 – 657,5 рублей, препаратами Флайблок и Байофлай пур-он – 2160 рублей. При этом затраты снизились на 45,7-85,4%.

Ключевые слова: экономический эффект, противопаразитарные препараты.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из статей расходов в скотоводстве является проведение противопаразитарных обработок животных. Сегодня на рынке имеется большое количество ветеринарных препаратов как отечественного, так и импортного производства. Однако из-за ослабления обменного курса рубля по отношению к основным мировым валютам на сегодняшний день экономически целесообразным является применение отечественных противопаразитарных препаратов.

Цель наших исследований заключалась в расчете экономического эффекта при применении отечественных противопаразитарных препаратов в сравнении с зарубежными аналогами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При проведении расчета были подобраны следующие препараты с доказанной терапевтической эффективностью, произведенные в России компанией «Агроветзащита»: химический кокцидиостатик Эймерт-суспензия 5% [4], ком-

плексный антигельминтик Монизен [3], инсектоакарицид Дельцид [2] и репеллент Флайблок [1].

Для определения экономического эффекта при применении отечественных противопаразитарных препаратов были соответственно подобраны зарубежные препараты аналоги, либо препараты похожие по составу и способу введения (Байкокс 5% [8], Фазимек оральный [7], Бутокс 50 [6] и Байофлай пур-он [5]).

Проводили сравнение затрат на препараты отечественного и импортного производства при профилактической противопаразитарной обработке 100 голов крупного рогатого скота средней массой тела 500 кг.

Экономический эффект рассчитывали по формуле: $E = (R_n - R_o) - C$, где R_n – новый результат деятельности, R_o – старый результат деятельности, C – дисконтированная сумма затрат на осуществление изменений за весь период деятельности изменений.

Таблица 1

Экономический эффект при применении отечественных противопаразитарных препаратов

Пара препаратов для сравнения	Препарат	Состав (1 мл препарата содержит)	Доза препарата, мл/10 кг	Расход препарата на 100 голов по 500 кг, л	Форма выпуска препарата	Средняя розничная стоимость препарата (4 кв. 2015 г.), руб.	Стоимость обработки 100 голов, руб.	Разница стоимости обработок (сохраненные средства), руб.	Снижение затрат, %
1	Эйметерм суспензия 5%	50 мг толтразурила	3	15	Флакон 250 мл	1390	83400	70200	45,7
	Байкокс 5%	50 мг толтразурила	3	15	Флакон 250 мл	2560	153600		
2	Монизен	1,7 мг ивермектина / 40 мг празиквантела	1	5	Флакон 1 л	1330	6650	39030	85,4
	Фазимек оральный	2 мг ивермектина / 120 мг триклабендазола	1	5	Канистра 5 л	45680	45680		
3	Дельцид	40 мг дельтаметрина	0,075	0,375	Флакон 1 л	1540	557,5	657,5	54,1
	Бутокс 50	50 мг дельтаметрина	0,06	0,3	Флакон 1 л	4050	1215		
4	Флайблок	10 мг цифлутрина	0,2	1	Флакон 500 мл	1070	2140	2160	50,2
	Байофлай пур-он	10 мг цифлутрина	0,2	1	Флакон 500 мл	2150	4300		

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2015г.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Так как мы рассчитывали экономический эффект при однократной обработке, а способы доставки, хранения и применения препаратов схожи, показатель, отражающий дисконтированную сумму затрат на осуществление изменений за весь период деятельности изменений, равен или близок к нулю.

Новый результат деятельности (сохраненные средства) рассчитывали как разность стоимости обработки 100 голов крупного рогатого скота средней массой 500 кг препаратами отечественного производства и обработки импортными аналогами. При этом старый результат деятельности было равен нулю. Таким образом, экономический эффект был фактически равен новому результату деятельности.

Результаты исследований представлены в таблице 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экономический эффект при однократной обработке 100 голов крупного рогатого скота средней массой тела 500 кг препаратом Эймтерм суспензия 5% в дозе 3 мл на 10 кг в сравнении с обработкой препаратом Байкокс 5% составил 70200 рублей. Затраты снизились на 45,7%.

При сравнении дегельминтизации такого же количества голов средней массой тела 500 кг препаратами Монизен и Фазимек оральный в дозе 1 мл на 10 кг экономический эффект составил 39030 рублей, а затраты снизились на 85,4%.

Экономический эффект при сравнении однократных обработок 100 голов крупного рогатого скота средней массой 500 кг препаратами Дельцид и Бутокс 50 в 0,005% концентрации по ДВ с нормой расхода 3 литра на животное составил 657,5 рублей. Снижение затрат при этом составило 54,1%.

Сравнение затрат на обработку 100 голов крупного рогатого скота средней массой 500 кг препаратами Флайблок и

Байофлай пур-он в дозе 0,2мл на 10 кг показало, что экономический эффект составил 2160 рублей, затраты при этом снизились на 50,2%.

Economic effect in the application of Russian antiparasitic drugs.

A.N. Tokarev.

ABSTRACT

The research objective is to calculate the economic effect of Russian anti-parasitic drugs application compared with their foreign counterparts.

Comparisons were made of Russian and foreign drugscost in the prophylactic anti-parasitic treatment of 100 cattle head an average body weight of 500 kg.

The economic effect in the single treatment by Eymeterm suspension 5% at a dose of 3 ml per 10 kg compared to the treatment with Baycox 5% was 70200 rubles. Expenses decreased by 45,7%.

When comparing the cattle deworming by Monizen and Fasimec Oralat a dose of 1 ml per 10 kg the economic effect amounted to 39030 rubles, and expenses decreased by 85,4%.

The economic effect when comparing the single drug treatments by Delcidand Butox50 in a deltamethrin concentration of 0,005% at a rate of 3 liters per animal amounted to 657,5 rubles. A reducing costs at the same time amounted to 54.1%.

The cost comparing of the cattle treatment by Flayblok and Bayofly Pour-on at a dose of 0.2 ml per 10 kg showed that the economic effect amounted to 2160 rubles, while expenditures decreased by 50,2%.

Key words: economic effect, antiparasitic drugs.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирюков С.А., Лемехов П.А., Бирюков С.А., Енгашев С.В. Эффективность репеллента Флайблок и его влияние на дойных коров // Ветеринария. –2011. –№12. –С. 29-31.
2. Енгашев С.В., Токарев А.Н. Эффективность дельцида (4% дельтаметрин) при

паразитарных заболеваниях сельскохозяйственных животных и птиц // Ветеринария. –2011. – №1. –С. 52-56.

3. Токарев А.Н. Производственные испытания препарата Монизен при гельминтозах крупного рогатого скота // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – М.: ВИГИС. -2011. –Вып. 12. –С. 511-512.

4. Токарев А.Н., Журавлёв Д.А., Кузнецов Ю.Е. Клинические испытания лекарственного препарата Эйметерм суспензия 5% // Актуальные вопросы ветеринарной медицины. –2012. –№2. –С. 55-57.

5. Mehlhorn H., Schmahl G., Schumacher B., D'Haese J., Walldorf V., Klimpel S. Effects of Bayofly on specimens of *Culicoides* species when incubated in hair taken from the feet of previously treated cattle and

sheep // Parasitol. Res. –2008. –№3. –P. 519-522.

6. Sands B., Ellse L., Mitchell S., Sargison N.D., Wall R. First report of deltamethrin tolerance in the cattle chewing louse *Bovicola bovis* in the UK // Vet. Rec. –2015. – №9. –P. 231.

7. Stevenson C.R., Mahoney R.H., Fisara P., Strehlau G., Reichel M.P. The efficacy of formulations of triclabendazole and ivermectin in combination against liver fluke (*Fasciola hepatica*) and gastro-intestinal nematodes in cattle and sheep and sucking lice species in cattle // Aust. Vet. J. –2002. – №11. –P. 698-701.

8. Zechner G., Bauer C., Jacobs J., Goossens L., Vertenten G., Taylor M.A. Efficacy of diclazuril and toltrazuril in the prevention of coccidiosis in dairy calves under field conditions // Vet. Rec. –2015. –№1. –P. 126.

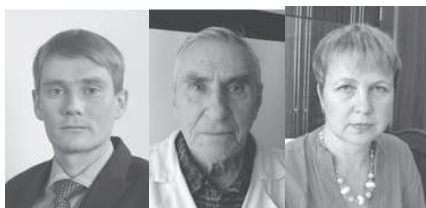


ТЕРАПИЯ

УДК 619:618.19–002–085:615.5:636.2

ПРЕПАРАТЫ «ИММОМАСТ-А» И «ИММОМАСТ-Б» В ЛЕЧЕНИИ МАСТИТА ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ

Блохин А.А. - к.вет.н., с.н.с., Исаев В.В. - к.б.н., в.н.с., Гладкова Н.А. - к.вет.н.
ФГБНУ Научно-исследовательский ветеринарный институт
Нечернозёмной зоны Российской Федерации



РЕФЕРАТ

Изучены фармакологические, иммунологические и терапевтические эффекты применения новых комплексных препаратов для лечения маститов лактирующих коров. Продемонстрировано, что комплексное применение иммуномодулятора, антибиотика и новокаина способствует быстрому купированию инфекционного и воспалительного процессов в тканях вымени. Применение препаратов «Иммомаст-А» и «Иммомаст-Б» проявилось увеличением числа иммунокомпетентных клеток в системном кровотоке, повышении содержания факторов гуморальной неспецифической резистентности и фагоцитарной активности. Динамика основных популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток у коров первой опытной группы выражалась в достоверном увеличении на 161,7% количества Т-лимфоцитов, на 92,3% – В-лимфоцитов, в 3,5 раза – CD4+-лимфоцитов и в 2,3 раза – CD8+-лимфоцитов. Описанная динамика закономерно привела к достоверному снижению в 3,7 раза лейко-Т-

лимфоцитарного и в 2,7 раза – лейко-В-лимфоцитарного индексов. Увеличение числа иммунокомпетентных клеток способствовало оптимизации распознавания и презентации антигена микроорганизмов – основной причины альтеративного и воспалительного процессов, а также погибших клеток. Фагоцитарная активность клеток мононуклеарной фагоцитарной системы и гранулоцитов крови коров, которым применяли «Иммомаст-А» и «Иммомаст-Б» увеличилась на 52,5%, Нормализация процесса фагоцитоза обеспечила элиминацию антигена. В конечном итоге описанная динамика иммунологических показателей привела к значительному сокращению сроков лечения и быстрой нормализации лактации коров.

Ключевые слова: иммомаст-А, иммомаст-Б, коровы, мастит, лактация.

ВВЕДЕНИЕ

Мастит – заболевание молочной железы животных, проявляющееся развитием инфекционного и воспалительного процессов как локального, так и системного характера. Воспаление тканей молочной железы крупного рогатого скота приводит к значимым производственным, экономическим и эпизоотическим последствиям. В больших объемах бракуется молоко, возрастает риск попадания в продукцию ингибиторов и повышение бактериальной обсемененности. Как следствие, происходит снижение качества и стоимости молока. В условиях животноводческих ферм патологический секрет молочной железы становится источником условно-патогенной микрофлоры, что при его скармливании телятам обуславливает развитие патологии аппарата пищеварения инфекционной этиологии [3,7].

Проблема эффективного лечения маститов продолжает широко обсуждаться как среди практиков, так и в научных кругах. Предлагается обширный спектр препаратов антимикробного и противовоспалительного действия [1,2,4,5]. Однако до сих пор авторы и разработчики препаратов для лечения маститов не обращают должного внимания на иммунологический аспект патогенеза и терапии воспаления молочной железы. Так, установлено, что в крови коров больных серозно-катаральным маститом отмечается снижение содержания лимфоцитов, иммуноглобулинов класса G, уменьшается бактерицидная активность сыворотки крови. При

этом одновременно повышается уровень сегментоядерных нейтрофилов [6,8].

Указанные обстоятельства диктуют необходимость создания новых средств терапии маститов лактирующих коров с выраженным иммуностропным эффектом. Поэтому целью нашей работы стало изучение влияния на показатели иммунитета коров препаратов серии «Иммомаст», содержащих в качестве основного действующего вещества N - (b - гидроксипропил)-4,6-диметилдигидропиримидон-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы препараты, приготовленные по следующим рецептам:

«Иммомаст-А»:

Rp.: Ximedoni – 1,0

Dioxidini – 0,5

Polyaethylenoxydi-1500 – 2,0

Polyaethylenoxydi-400 – 6,5

M.f. unguentum

D.S. Интерцистернально корове

до выздоровления.

«Иммомаст-Б»:

Rp.: Ximedoni – 3,1

Dioxidini – 2,0

Novocaini – 1,0

Aquae destillatae sterilisatae – 200,0

M.f. solutio

D.t.d. №2

S. Вводить в надвыменное пространство аналогично короткой новокаиновой блокаде по Д.Д. Логвинову 2 раза с интервалом 24 часа.

Для разработки методологии применения комплексного препарата «Иммомаст-

Б» и оценки его иммунологических и метаболических эффектов по принципу были сформированы одна контрольная и три опытных группы коров второй лактации, больных серозно-катаральным маститом. Коровам первой опытной группы для лечения катарального мастита вводили по Логвинову раствор препарата «Иммомаст-Б» в дозе 200,0 мл/на долю в первый и второй день с момента постановки диагноза. Интерцистернально вводили препарат «Иммомаст-А» в дозе 10,0 мл/долю вымени с первого дня заболевания до исчезновения клинических признаков мастита и нормализации показателей диагностических тестов. Коровам второй опытной группы интерцистернально вводили только препарат «Иммомаст-А» в дозе 20,0 мл/долю вымени с первого дня заболевания до исчезновения клинических признаков мастита и нормализации показателей диагностических тестов. Животным третьей опытной группы для лечения серозно-катарального мастита вводили по Д.Д. Логвинову 0,5% раствор новокаина в дозе 200,0 мл/гол, а интерцистернально – 1% раствор диоксида в дозе 10,0 мл/долю вымени до исчезновения клинических признаков мастита и нормализации показателей диагностических тестов. Животные контрольной группы ввиду отсутствия хозяйственной ценности лечения не получали и впоследствии были выбракованы из стада.

Контроль за состоянием иммунологического статуса коров осуществляли путем лабораторных исследований крови коров опытных и контрольной групп до начала лечения заболевания и через 20 дней после начала опыта.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты иммунологического скрининга при изучении влияния на показатели иммунитета коров препаратов серии «Иммомаст» и традиционного способа лечения мастита коров представлены в таблице 1. Из представленных данных

видно, что на начало опыта между иммунологическими показателями подопытных и интактных животных достоверных отличий нет ($>0,05$).

Через 20 после закладки опыта у животных контрольной группы существенных сдвигов в показателях иммунитета не отмечалось. Так, динамика подавляющего числа показателей не имела достоверных отличий ($>0,05$). Увеличение на 31,5% содержания нейтрофилов и на 10,1% лейко-В-лимфоцитарного индекса свидетельствует об усугублении воспалительного процесса и развитии иммунокомпрометации.

Среди групп опытных животных отмечается положительная динамика. Так, наилучший результат нормализации иммунологического статуса и, как следствие, выздоровления получен у животных, которым комбинированно применяли препараты «Иммомаст-А» и «Иммомаст-Б». У животных первой опытной группы к концу опыта достоверно снижается на 29,4% количество лейкоцитов и достигает физиологической нормы. На конец опыта данный показатель был достоверно ниже значений контрольной, второй и третьей опытных групп на 30,6%, 6,5% и 10,2% соответственно. У коров контрольной, второй и третьей опытных групп показатели количества лейкоцитов на конец опыта оставались выше значений общепринятой нормы.

Снижение количества лейкоцитов у животных первой и второй опытных групп, которым применяли препараты с иммуностимулирующими компонентами, обусловлено достоверным снижением количества нейтрофилов на 43,5% и 31,3% соответственно. При этом у животных, получавших традиционную терапевтическую помощь, динамика нейтрофилов статистически недостоверна ($>0,05$).

Положительная динамика лимфоцитов отмечается только у животных первой опытной группы и достоверно составляет

Таблица 1

**Иммунологические эффекты применения
различных методов лечения маститов коров**

Показатели	Норма	Группы животных			
		Контрольная группа (n=20)	Первая опытная группа (n=20)	Вторая опытная группа (n=20)	Третья опытная группа (n=20)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	4,5-12,0	$\frac{16,6\pm 0,3}{16,5\pm 0,2}$	$\frac{16,2\pm 0,8}{11,4\pm 0,1}$	$\frac{16,2\pm 0,4}{12,2\pm 0,4}$	$\frac{15,9\pm 0,4}{12,7\pm 0,2}$
ЛАСК, %	3-7	$\frac{4,0\pm 0,1}{4,1\pm 0,1}$	$\frac{3,7\pm 0,1}{5,9\pm 0,2}$	$\frac{3,9\pm 0,3}{5,0\pm 0,2}$	$\frac{3,5\pm 0,2}{3,9\pm 0,2}$
БАСК, %	75-100	$\frac{54,8\pm 0,9}{57,2\pm 0,9}$	$\frac{55,2\pm 0,1}{77,8\pm 0,3}$	$\frac{55,7\pm 0,3}{71,5\pm 0,9}$	$\frac{54,9\pm 0,3}{57,7\pm 0,2}$
Фагоцитарная активность, %	60-80	$\frac{42,6\pm 1,1}{42,9\pm 1,1}$	$\frac{41,1\pm 0,7}{62,7\pm 0,3}$	$\frac{42,0\pm 0,6}{58,9\pm 1,5}$	$\frac{41,3\pm 1,0}{51,5\pm 1,1}$
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	1,0-4,8	$\frac{6,5\pm 0,1}{8,6\pm 0,2}$	$\frac{6,5\pm 0,2}{3,7\pm 0,3}$	$\frac{6,1\pm 0,1}{4,2\pm 0,2}$	$\frac{6,0\pm 0,2}{5,3\pm 0,3}$
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,8-8,0	$\frac{5,2\pm 0,2}{4,9\pm 0,1}$	$\frac{4,9\pm 0,0}{6,4\pm 0,0}$	$\frac{5,4\pm 0,3}{5,0\pm 0,2}$	$\frac{4,9\pm 0,0}{4,6\pm 0,1}$
Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,55-4,1	$\frac{0,8\pm 0,0}{0,8\pm 0,1}$	$\frac{0,8\pm 0,1}{2,1\pm 0,1}$	$\frac{0,9\pm 0,0}{1,5\pm 0,1}$	$\frac{0,8\pm 0,1}{1,0\pm 0,1}$
CD4+ лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,2-0,6	$\frac{0,2\pm 0,1}{0,2\pm 0,0}$	$\frac{0,1\pm 0,0}{0,5\pm 0,1}$	$\frac{0,2\pm 0,0}{0,3\pm 0,1}$	$\frac{0,1\pm 0,1}{0,2\pm 0,1}$
CD8+ лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,1-0,3	$\frac{0,1\pm 0,0}{0,1\pm 0,1}$	$\frac{0,1\pm 0,1}{0,3\pm 0,1}$	$\frac{0,1\pm 0,0}{0,2\pm 0,1}$	$\frac{0,1\pm 0,0}{0,1\pm 0,0}$
В-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,2-1,0	$\frac{0,4\pm 0,2}{0,4\pm 0,1}$	$\frac{0,4\pm 0,1}{0,8\pm 0,0}$	$\frac{0,4\pm 0,1}{0,5\pm 0,1}$	$\frac{0,4\pm 0,1}{0,5\pm 0,2}$
Лейко-Т-лимфоцитарный индекс	3,0-8,3	$\frac{19,9\pm 0,2}{20,2\pm 0,19}$	$\frac{19,9\pm 0,1}{5,3\pm 0,1}$	$\frac{18,8\pm 0,1}{8,3\pm 0,2}$	$\frac{20,5\pm 0,2}{13,9\pm 0,1}$
Лейко-В-лимфоцитарный индекс	12,025,0	$\frac{40,3\pm 1,1}{44,4\pm 1,2}$	$\frac{41,4\pm 1,6}{15,2\pm 1,0}$	$\frac{37,6\pm 1,0}{22,5\pm 1,3}$	$\frac{39,6\pm 0,4}{25,4\pm 0,1}$
Иммунорегуляторный индекс	1,2-2,5	$\frac{1,3\pm 0,0}{1,2\pm 0,1}$	$\frac{1,2\pm 0,0}{1,8\pm 0,1}$	$\frac{1,2\pm 0,0}{1,7\pm 0,1}$	$\frac{1,3\pm 0,0}{1,4\pm 0,0}$

30,0% прироста к концу опыта, превзойдя показатель контрольных животных на 29,0%. У коров второй и третьей опытной группы к концу опыта количество лимфоцитов достоверно снижается на 8,3% и 4,9% соответственно и не имеет достоверных отличий от показателя интактных животных.

Динамика основных популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток у коров первой опытной группы характеризуется достоверным увеличением на 161,7% количества Т-лимфоцитов, на 92,3% – В-лимфоцитов, в 3,5 раза – CD4+ -лимфоцитов и в 2,3 раза – CD8+ -лимфоцитов. Описанная динамика закономерно приводит к достоверному снижению в 3,7 раза лейко-Т-лимфоцитарного и в 2,7 раза – лейко-В-лимфоцитарного индексов, которые демонстрируют нормализацию иммунного статуса животных. Также отмечается нормализация иммунорегуляторного индекса до оптимальных значений. При этом в конце опыта у коров первой опытной группы в сравнении с животными контрольной группы количество Т-лимфоцитов было достоверно выше на 161,7%, В-лимфоцитов – на 102,7%, CD4+ -лимфоцитов – в 3,1 раза, а CD8+ -лимфоцитов – в 2,1 раза. В сравнении с группой животных, которым применяли традиционное лечение, данные показатели были достоверно выше на 132,9%, 50,0%, в 2,4 раза и в 2,0 раза соответственно.

У коров второй опытной группы в динамике опыта увеличение Т-лимфоцитов составило 70,9%, а количество CD4+ -лимфоцитов и CD8+ -лимфоцитов возросло в 2,1 раза и 1,4 раза соответственно. Динамика В-лимфоцитов не имела статистически достоверных отличий ($>0,05$). В итоге применения препарата «Иммомаст-А» у коров второй опытной группы отмечено снижение лейко-Т-лимфоцитарного индекса до значения физиологической нормы и сохранение

недостаточности В-клеточного звена иммунитета, о чем свидетельствует значение 22,5 лейко-В-лимфоцитарного индекса.

У коров третьей опытной группы показатели В-лимфоцитов, CD4+ -лимфоцитов и CD8+ -лимфоцитов на конец опыта в сравнении с исходными данными не имели достоверных отличий ($>0,05$), а показатели лейко-Т- и лейко-В-лимфоцитарных индексов свидетельствовали о сохранении состояния иммунокомпетентности организма животных.

Показатели лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови у коров первой опытной группы к концу опыта увеличились на 59,4% и 40,9% соответственно. У коров второй группы – на 28,2% и 28,3% соответственно. У животных, получавших традиционное лечение, динамика показателей лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови была ещё менее выраженной и составила 11,4% и 10,5% соответственно.

Фагоцитарная активность клеток мононуклеарной фагоцитарной системы и гранулоцитов крови коров первой опытной группы характеризуется увеличением на 52,5%, что на конец опыта приводит к превалированию данного показателя на 46,1%, 6,4% и 21,7% в сравнении с животными контрольной второй и третьей опытных групп соответственно.

Представленная динамика иммунологических показателей у животных первой опытной группы обеспечила сокращение сроков лечения серозно-катарального мастита коров до 4 дней, в то время как у коров второй и третьей опытных групп клиническое выздоровление, сопровождавшееся нормализацией лактации, произошло только на 7 и 13 дни соответственно.

Таким образом, комбинированное применение препаратов «Иммомаст-А» и «Иммомаст-Б» способствовало нормализации иммунного статуса коров, что проявилось увеличением числа иммуноком-

петентных клеток в системном кровотоке, повышении содержания факторов гуморальной неспецифической резистентности и фагоцитарной активности. Увеличение числа иммунокомпетентных клеток способствовало оптимизации распознавания и презентации антигена микроорганизмов – основной причины альтернативного и воспалительного процессов. Нормализация процесса фагоцитоза обеспечила элиминацию антигена. В конечном итоге это привело к значительному сокращению сроков лечения и быстрой нормализации лактации.

Preparations “Immomast-A” and “immomast-B” in therapy of mastitis in lactating cows.

A. Blokhin, V. Isaev, N. Gladkova.

ABSTRACT

We studied pharmacological, immunological and therapeutic effects of new complex preparations at mastitis in lactating cows. It was established that combined use of an immune response modifier, an antibiotic and novocaine provides for the relief of infectious and inflammatory processes in udder tissues. The use of “Immomast-A” and “Immomast-B” promoted the increase in immunocompetent cell count in the systemic circulation and in content of humoral factors of nonspecific resistance and phagocytic activity. Dynamics of key populations and subpopulations of immunocompetent cells in cows of the first trial group were expressed in reliable increase in T-lymphocyte count by 161,7% , in B-lymphocyte count by 92,3%, in CD4+-lymphocyte count in 3,5 times and in in CD8+-lymphocyte count in 2,3 times. These dynamics led naturally to a significant decrease in the leuko-T-cellular index in 3,7 times and in the leuko-B-cellular index in 2, times. Increase in immunocompetent cell count promotes the optimization of the recognition and presentation of antigen of microorganisms and also of dead cells regarded as a main cause of alternative and inflammatory processes. The

phagocytic activity of cells of the mononuclear phagocytic system and granulocytes in cows treated with “Immomast-A” and “Immomast-B” increased by 52,5%. The normalization of phagocytosis resulted in the elimination of antigen. Ultimately these dynamics of immunological values have led to a significant reduction of treatment duration and a rapid normalization of lactation in cows.

Key words: immomast-A, immomast-B, cows, mastitis, lactation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барышев В.А., Соколов В.Д., Племяшов К.В. Влияние препарата «Мастинол» на иммунологический статус лактирующих коров // Международный вестник ветеринарии. –2015. –№1. –С. 25-28.
2. Зимников В.И. Разработка и применение препарата мастицеф для лечения мастита в период лактации. –Воронеж. –2011. –128с.
3. Конопельцев И.Г., Шулятьев В.Н., Воспаление вымени у коров. –СПб. -2010. – 355с.
4. Никульшина Ю.Б. Комплексный метод лечения различных форм мастита. – Саратов. –2004. –168с.
5. Павленко О.Б. Применение пробиотика «Ветом-3» для лечения коров при субклиническом мастите. –Воронеж. –2005. – 163с.
6. Подберёзный В.В. Биотерапия и био-профилактика мастита у коров: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. –Воронеж. -1995. – 45с.
7. Kossaibati M.A., Novi M., Esslemont R.J. Incidence of clinical mastitis in dairy herds in England // Veter. Rec. –1998. –Vol.143. - №24. –P. 649-653.
8. Nickerson S.C. Immunity and the bovine mammary gland // J. Agri. Pract. –1988. – Vol.9. -№6. –P. 32-38.

КОРРЕКЦИЯ ИММУНОДЕФИЦИТОВ ТЕЛЯТ КОМБИНИРОВАННЫМ ПРИМЕНЕНИЕМ ПРЕПАРАТОВ «ИММОВЕТОН-KS» И «ФУРОР»

Исаев В.В. - к.б.н., в.н.с., Блохин А.А. - к.вет.н, с.н.с., Бурова О.А. - научный сотрудник
ФГБНУ Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечернозёмной зоны
Российской Федерации



РЕФЕРАТ

Применение иммуномодулирующих средств осуществляют с целью восстановления измененной функции иммунной системы при иммунокомпрометации организма животного, повышение его общей резистентности и обеспечение адаптопротекторного иммунного статуса. В последние годы для

нормализации обменных процессов в организме животных большое внимание уделяется кормовым добавкам и ветеринарным препаратам, в состав которых входят натуральные компоненты, обладающие высокой биологической доступностью и усвояемостью.

Однако, несмотря на широкий спектр доступных иммуномодуляторов, методологии их применения нет. Не решенным остается вопрос отдельного и комбинированного применения иммуномодуляторов, имеющих в качестве мишеней воздействия разные компоненты иммунной системы организма животных.

В результате наших исследований разработана методология комбинированного применения иммуномодуляторов при иммунодефицитах телят. Показано, что использование двух препаратов («Иммоветон-Ks» и «Фурор») с различными иммуностропными эффектами и обладающими синергичностью действия обеспечивает нормализацию иммунного статуса животных и приводит к оптимизации показателей биологической безопасности популяции животных при массовой патологии. Так, динамика фагоцитарной активности лейкоцитов крови составила 38,34%. Уровень Т-лимфоцитов увеличился на 126,5%, а динамика В-лимфоцитов у телят составила 188,2%. Лейко-Т-лимфоцитарный индекс и лейко-В-клеточный индекс достигли оптимальных иммунологических значений.

Ключевые слова: иммунокоррекция, телята, иммоветон-Ks, фурор.

ВВЕДЕНИЕ

В нозологическом профиле популяции крупного рогатого скота преобладают такие нозоформы как заболевания органов пищеварения и дыхания у телят и репродуктивной системы у маточного поголовья. Манифестация данных заболеваний обусловлена факторами экосистемного характера, которые в свою очередь способствуют формированию

синдрома дезадаптации и иммунокомпрометации организма животных. Иммунокомпрометация является неотъемлемым условием развития факторной патологии с выраженным участием в патологическом процессе условно-патогенных микроорганизмов [1,2,5].

Участие в эпизоотическом процессе в качестве соактанта паразитарной системы условно-патогенных микроорганизмов и

низкий иммунный фон популяции (высокая иммунологическая толерантность) обуславливает стационарность и массовость охвата популяции крупного рогатого скота с высоким уровнем заболеваемости и летальности [6].

Поэтому очевидна нерешенность проблемы иммунокоррекции крупного рогатого скота. Иммунодефициты как ключевое составляющее патогенеза факторных болезней диктуют необходимость поиска эффективных и безопасных средств иммунокоррекции. В настоящее время ветеринарная наука готова предложить практикам широкий спектр средств и методов иммунокоррекции. Продолжается интенсивный поиск новых иммуномодуляторов. Однако при всем изобилии средств для иммунокоррекции остается открытым вопрос их комбинированного применения при массовой патологии крупного рогатого скота [4]. Зачастую на практике применение иммуномодуляторов осуществляется по принципу минимизации затрат труда и финансовых средств, что не лучшим образом сказывается на эффективности. Поэтому целью исследований стала разработка методологии комбинированного применения иммуномодуляторов при иммунодефицитах крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для разработки методологии комбинированного применения иммуномодуляторов по принципу пар-аналогов было сформировано три группы телят: контрольная и две опытных. Телята первой опытной группы получали препараты «Фурор» в дозе 0,3 мл/кг массы тела один раз в сутки со 2 дня жизни в течение 10 дней и «Иммоветон-Ks» в дозе 52,5 мг/кг массы тела один раз в сутки на 1-й, 2-й и 7-й дни жизни, а второй – «Миксоферон» в дозе 900000 ЕД/гол. один раз в сутки на 1-й, 2-й и 7-й дни жизни и «Иммоветон-Ks».

«Иммоветон-Ks» – композиционное

средство, представляющее собой смесь ксимедона гидрохлорида и аскорбиновой кислоты в соотношении 1,6:0,5.

«Миксоферон» – представляет собой однородный порошок или пористую массу белого цвета. Растворим в воде и физиологическом растворе. Действующими компонентами препарата являются α -, β -, γ -интерфероны.

«Фурор» – препарат природного происхождения, действующими веществами которого являются гуминовые кислоты и фульвокислоты, содержащиеся в количестве до 8,0% и до 25,0% соответственно.

Контроль за состоянием иммунологического статуса телят осуществляли путем лабораторных исследований крови телят опытных и контрольной групп до начала опытов по их завершении к 20-25 дню жизни. Оценка результатов при разработке методологии комбинированного применения иммуномодуляторов при массовой патологии крупного рогатого скота осуществляли с использованием системы оценки, включающей: 1) количественную оценку степени иммунных расстройств по показателям клеточного и гуморального иммунитета; 2) определение интегративных индексных показателей: лейко-Т- и лейко-В-лимфоцитарных индексов и иммунорегуляторного индекса [3].

Полученные цифровые данные обрабатывали с использованием пакета Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты иммунологического скрининга при комбинированном применении иммуномодуляторов представлены в таблице. Лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови у телят, которым применяли препараты «Иммоветон-Ks» и «Фурор» в динамике 20 дней увеличились на 120,1% и 10,0% соответственно. При этом к концу опыта данные показатели были выше интактных животных на 60,0% и 7,2% соответственно. Лизо-

Таблица 1

Иммунологические эффекты комбинированного применения иммуномодуляторов телятам

Показатели	Норма	Группы животных		
		Контрольная группа (n=20)	1-ая опытная группа «Иммоветон-Кс»+«Фурор» (n=20)	2-ая опытная группа «Иммоветон-Кс»+ «Миксоферон» (n=20)
Лизоцимная активность сыворотки крови, %	2-5	$\frac{2,2 \pm 0,1}{3,0 \pm 0,1}$	$\frac{2,2 \pm 0,2}{4,8 \pm 0,1}$	$\frac{2,2 \pm 0,1}{4,0 \pm 0,1}$
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	89-100	$\frac{89,4 \pm 1,2}{91,1 \pm 1,1}$	$\frac{88,8 \pm 0,2}{97,7 \pm 0,2}$	$\frac{89,0 \pm 0,4}{92,9 \pm 0,6}$
Фагоцитарная активность лейкоцитов, %	60-80	$\frac{54,0 \pm 0,1}{60,0 \pm 0,2}$	$\frac{53,2 \pm 0,3}{73,6 \pm 0,4}$	$\frac{53,5 \pm 0,3}{70,0 \pm 0,4}$
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,6-12,5	$\frac{6,9 \pm 0,2}{7,3 \pm 0,1}$	$\frac{7,0 \pm 0,2}{9,0 \pm 0,2}$	$\frac{7,3 \pm 0,3}{8,8 \pm 0,5}$
Общие нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	1,2-7,7	$\frac{2,9 \pm 0,7}{3,5 \pm 0,0}$	$\frac{2,0 \pm 0,1}{2,1 \pm 0,0}$	$\frac{1,9 \pm 0,1}{2,2 \pm 0,0}$
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,3-10,0	$\frac{3,6 \pm 0,2}{4,46 \pm 0,1}$	$\frac{3,6 \pm 0,2}{6,4 \pm 0,1}$	$\frac{3,7 \pm 0,3}{6,4 \pm 0,3}$
Т-Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,9-4,0	$\frac{0,8 \pm 0,0}{0,8 \pm 0,0}$	$\frac{0,8 \pm 0,1}{1,9 \pm 0,0}$	$\frac{0,8 \pm 0,0}{1,9 \pm 0,0}$
В-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,3-1,5	$\frac{0,4 \pm 0,1}{1,0 \pm 0,1}$	$\frac{0,3 \pm 0,1}{1,0 \pm 0,1}$	$\frac{0,3 \pm 0,0}{0,8 \pm 0,1}$
CD4+, $\times 10^9/\text{л}$	0,1-0,4	$\frac{0,1 \pm 0,0}{0,1 \pm 0,0}$	$\frac{0,1 \pm 0,0}{0,4 \pm 0,1}$	$\frac{0,1 \pm 0,0}{0,4 \pm 0,0}$
CD8+, $\times 10^9/\text{л}$	0,2-0,3	$\frac{0,1 \pm 0,0}{0,1 \pm 0,0}$	$\frac{0,1 \pm 0,0}{0,2 \pm 0,0}$	$\frac{0,1 \pm 0,0}{0,2 \pm 0,0}$
Лейко-Т-лимфоцитарный индекс	3-7	$\frac{8,4 \pm 0,1}{8,8 \pm 0,1}$	$\frac{8,4 \pm 0,1}{4,7 \pm 0,1}$	$\frac{8,9 \pm 0,1}{4,7 \pm 0,1}$
Лейко-В-лимфоцитарный индекс	8,2-20	$\frac{19,7 \pm 0,1}{7,7 \pm 0,1}$	$\frac{20,5 \pm 0,1}{9,1 \pm 0,1}$	$\frac{24,3 \pm 0,1}{10,7 \pm 0,0}$
Иммунорегуляторный индекс (CD4+ /CD8+)	1-2,7	$\frac{1,0 \pm 0,1}{1,0 \pm 0,1}$	$\frac{1,0 \pm 0,1}{2,0 \pm 0,1}$	$\frac{1,0 \pm 0,0}{1,9 \pm 0,0}$
Общие иммуноглобулины, мг/мл	25-30	$\frac{12,0 \pm 0,1}{25,8 \pm 0,3}$	$\frac{11,1 \pm 0,2}{28,3 \pm 0,1}$	$\frac{12,5 \pm 0,4}{25,5 \pm 0,3}$
Иммуноглобулины G, мг/мл	4,0-17,0	$\frac{0,8 \pm 0,0}{10,4 \pm 0,2}$	$\frac{0,8 \pm 0,1}{15,8 \pm 0,2}$	$\frac{0,9 \pm 0,7}{10,5 \pm 0,1}$
Иммуноглобулины A, мг/мл	3,0-8,5	$\frac{2,0 \pm 0,1}{4,1 \pm 0,0}$	$\frac{1,9 \pm 0,1}{5,8 \pm 0,1}$	$\frac{1,8 \pm 0,1}{3,9 \pm 0,1}$
Иммуноглобулины M, мг/мл	1,9-3,0	$\frac{0,8 \pm 0,1}{1,3 \pm 0,1}$	$\frac{0,9 \pm 0,2}{2,6 \pm 0,1}$	$\frac{0,8 \pm 0,2}{1,1 \pm 0,1}$

Примечание: В числителе представлены данные, полученные до опыта в возрасте 2-4 дней, в знаменателе – через 10-12 дней после окончания опыта (в возрасте 20-25 дней).

цимная и бактерицидная активность сыворотки крови телят второй опытной группы к концу опыта увеличились на 80,3% и 4,3% соответственно.

Динамика фагоцитарной активности лейкоцитов крови у телят первой группы была положительной и составила 38,34% к показателю начала опыта. В сравнении с контролем, фагоцитарная активность клеток крови животных, которым применяли «Иммоветон-Кс» и «Фурор» была на 22,6% выше. У телят второй опытной группы увеличение фагоцитарной активности составило 13,0%.

Количество лейкоцитов у телят первой и второй опытных групп к концу опыта увеличилось на 27,8% и 20,5% соответственно. Причем в обоих случаях это увеличение было обусловлено заметным ростом числа лимфоцитов. У телят первой группы он составил 77,4%, а у животных второй – 71,8%. В сравнении с контролем у телят первой и второй опытных групп показатель лимфоцитов на конец опыта был выше на 45,0% и 43,2% соответственно. При этом показатель нейтрофилов в сравнении с интактными животными был ниже на 40,5% и 36,2% соответственно для первой и второй опытной группы.

Основные популяции лимфоцитов имели аналогичную динамику. Так, у телят первой и второй опытной группы уровень Т-лимфоцитов к 24-27 дневному возрасту увеличился на 126,5% и 125,6% соответственно и превзошёл показатели интактных животных на 126,5% и 122,8% соответственно. Динамика В-лимфоцитов у телят первой и второй опытных групп составила соответственно 188,2% и 173,0%. При этом у телят первой опытной группы данный показатель был выше на 4,2%, а у животных второй опытной группы ниже на 12,7% в сравнении с контролем.

Положительная динамика наблюдается и в количестве CD4+ (Т-хелперов) у

телят первой и второй опытных групп, что выражалось увеличением клеток данной субпопуляции лимфоцитов в 4,1 и 4,0 раза. Количество CD8+ увеличилось соответственно в 1,9 и 2,0 раза. При этом иммунорегуляторный индекс у животных опытных групп к концу опыта был в пределах нормы, а разница его показателей между первой и второй опытными группами была статистически недостоверной ($>0,05$).

Лейко-Т-лимфоцитарный индекс у телят первой и второй опытных групп к концу опыта снизился на 44,0% и 47,1% соответственно, что свидетельствовало о нормализации иммунного статуса подопытных животных. У животных контрольной группы лейко-Т-лимфоцитарный индекс напротив, увеличился на 4,7%, что свидетельствует об усугублении иммунодепрессивного состояния Т-клеточного звена.

Лейко-В-клеточный индекс у телят первой и второй опытных групп в динамике 22-23 дней снизился на 55,6% и 55,9% соответственно, достигнув оптимальных иммунологических значений. У контрольных животных лейко-В-лимфоцитарный индекс был на 6,0% физиологических значений нормы, что указывает на развитие гиперактивности В-клеточного звена иммунитета.

Количество общих иммуноглобулинов у телят первой и второй опытных групп к концу опыта увеличивается в 2,5 и 2,0 раза соответственно. При этом данный показатель телят первой группы достоверно выше показателя интактных животных на 9,6%, а показатель второй опытной группы в сравнении с контролем не имеет достоверных различий ($>0,05$). Увеличение содержания классов иммуноглобулинов G, A и M у телят первой опытной группы составляет соответственно 19,0, 3,0 и 2,8 раза. У телят второй опытной группы статистически достоверным следует признать только увеличение

содержания иммуноглобулинов класса А, которое составило 2,2 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные материалы достоверно свидетельствуют о выраженном синергетическом действии двух рассматриваемых комбинаций иммуномодуляторов. Однако наиболее выраженный эффект коррекции иммунных нарушений отмечается у животных первой опытной группы, которым применяли препараты «Иммоветон-Кс» и «Фурор». Их применение обеспечивает нормализацию иммунного статуса животных, достоверное улучшение показателей биологической безопасности популяции при массовых желудочно-кишечных заболеваниях.

Correction of immunodeficiencies in calves by combined use of preparations “Immoveton-Ks” and “Furor”.

V. Isaev, A. Blokhin, O. Burova.

ABSTRACT

Immune response modifiers are applied to restore altered function of the immune system in immunocompromised animals, to increase natural resistance and to promote adaptoprotective immune status. Recent years for the normalization of metabolic processes in animals are widely used feed additives and veterinary preparations composed of natural ingredients with high bioavailability and digestibility. Despite the wide range of immune response modifiers the methodology of their use is not still developed. The issue of individual and combined use of immune response modifiers having various components of the immune system as targets is not solved. As a result of our researches we developed the methodology of combined use of immune response modifiers at immunodeficiencies in calves. It established that use of two preparations (“Immoveton-Ks” and “Furor”) having various immunotropic effects and showing synergistic action normalizes the immune status of animals and leads to the optimization of the biological safety of animal population at

massive pathologies. So, dynamics of phagocytic activity of leukocytes were 38, 34%. T-lymphocyte count increased by 126,5%, dynamics of B-lymphocytes were 188,2%. Leuko- T-cellular index and leuko-B-cellular index reached optimum immunological values.

Key words: immunocorrection, calves, “Immoveton-Ks”, “Furor”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блохин А.А., Молев А.И. Экосистемная концепция факторной патологии животных // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. –2012. –№4/2. – С. 61-70.
2. Жаров А.В. Роль иммунодефицитов в патологии животных // Ветеринарная патология. –2003. –№3. –С. 7-12.
3. Кишкун А.А. Иммунологические и серологические исследования в клинической практике. – М. -2006. –536 с.
4. Юсупов Р.Х., Позднев О.К., Шулаева М.П. Изучение иммуномодулирующих свойств препаратов пиримидинового ряда при гриппозной инфекции у животных // Ветеринарный врач. –2006. –№1. –С. 45-47.
5. Boirivant M., Intestinal microflora and immunoregulation // Mucosal Immunol. – 2008. –№1. –Р. 47-49.
6. Hall G. Pathology of calves with diarrhea in southern Britain // Res. In. Vet. Sc. – 1988. –Vol.45. –№2. –Р. 240-250.



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 615.35:637.04/07.04

ПРИМЕНЕНИЕ МИТОФЕНА С КОРМОМ КУРАМ-НЕСУШКАМ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА КУРИНОГО ЯЙЦА

Святковский А.А.¹ - аспирант, Андреева Н.Л.² - д.б.н., профессор

¹Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства,

²Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В работе приведены результаты применения полифенольного антиоксиданта митофена курам-несушкам с кормом и кормовой добавкой, содержащей янтарную кислоту, на некоторые физические параметры диетического яйца и при длительном хранении. В опыте были сформированы контрольная и три подопытных группы кур-несушек 4-х месячного возраста, которым в основной рацион с начала опыта вводили: первой подопытной – митофен из расчета 50 г. на тонну корма; второй подопытной – митофен из расчета 50 г. на тонну корма и кормовую добавку, содержащую 10% янтарной кислоты, в количестве 1,5 кг на тонну корма; третьей подопытной – кормовую добавку, содержащую 10% янтарной кислоты, в количестве 1,5 кг на тонну корма. Через три месяца с начала опыта от птицы отбиралось яйцо для определения качества сразу и после 5 месяцев хранения. Параметры качества яйца исследовали общепринятыми методами. В результате по всем подопытным группам было отмечено повышение количества пор в скорлупе на 27-30,5%, а также увеличение толщины скорлупы и массы яйца. Совокупность полученных в этом опыте данных свидетельствует об отсутствии негативных эффектов и положительном влиянии применяемых антиоксидантов на качество яйца. В процессе хранения яйца в течение пяти месяцев, кроме незначительной потери массы, иных повреждений, неполноценности и технического брака в отобранных партиях отмечено не было. В рамках данного опыта можно утверждать, что применение антиоксидантов, в частности, митофена в рационе кур-несушек способствует улучшению качества яйца и его сохранности. Кроме того, выявлен синергический эффект при одновременном применении антиоксидантов разных классов (в частности, органические кислоты и полифенолы) в рационе в терапевтических дозах.

Ключевые слова: антиоксиданты, митофен, качество куриного яйца.

ВВЕДЕНИЕ

Общеизвестно, что многие антиоксиданты (в частности, митофен) обладают выраженными антигипоксическими свойствами. Они испытаны в общемедицин-

ской практике при лечении ишемических состояниях различного генеза, при obstructивном бронхите и других заболеваниях, сопровождающихся гипоксическими явлениями. Эти свойства антиоксидан-

тов могут быть полезны и востребованы в промышленном птицеводстве. К настоящему времени арсенал антиоксидантов, используемых в животноводстве и птицеводстве, насчитывает уже более десятка природных и синтетических соединений, большая часть которых предназначена для связывания и обезвреживания продуктов перекисного окисления. Среди них хорошо известны янтарная кислота и её соли, аскорбиновая кислота, токоферолы, каротиноиды, убихинон, флавоноиды [8]. Некоторые из этих соединений обладают также и антигипоксантной активностью: убихинон, флавоноиды [9]. Препараты полифенольной структуры, в частности, натриевая соль [поли (2,5-дигидрооксифенилен)-4 тиосульфокислоты] (митофен) обладают сочетанным эффектом [6]. Наличие в химической структуре данного соединения сопряженных фениленовых ядер и тиосульфатной группировки обуславливает его антиоксидантную и антигипоксическую активность. В экспериментальных условиях на биологических моделях отмечена способность полифенолов влиять на дыхательные цепи в митохондриях, оптимизируя их деятельность. На клеточном и организменном уровнях у них выявлены антигипоксантные и антиоксидантные свойства, характерные для природных хинонов (в частности, коэнзима Q₁₀), только в ряде случаев более отчетливые [5].

Кроме того, была установлена весьма удовлетворительная переносимость птиц различных доз препарата в широком диапазоне (от 5 до 1400 мг/кг живой массы) без ухудшения здоровья и продуктивности. Проведенные исследования выявили по ряду показателей высокую эффективность митофена как антиоксиданта, повышающего резистентность птицы, продуктивность и улучшающего качество продукции [2,3,7].

Особый интерес для исследователей и практикующих специалистов может пред-

ставлять понимание взаимодействия антиоксидантов различных фармакологических групп и их влияние на живой организм при совместном применении. Это особенно актуально в птицеводстве в связи с использованием большого ассортимента премиксов и кормовых добавок, содержащих различные антиоксиданты.

Учитывая что, чрезвычайно важным параметром в промышленном птицеводстве яичного направления является качество и сохранность яиц при хранении, целью данной работы стало изучение влияния применения курам-несушкам антиоксиданта митофена с кормом и кормовой добавкой, содержащей янтарную кислоту, на некоторые физические параметры яйца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опыте были использованы куры-несушки 120-ти суточного возраста кросса хайсекс коричневый, вакцинированные на птицефабрике по общепринятым стандартам. Было сформировано 4 группы по 10 голов в каждой, 3 подопытных и контрольная. Курам-несушкам I подопытной группы вместе с основным рационом с начала опыта давался митофен из расчета 50 г. на тонну корма. Курам-несушкам II подопытной группы вместе с основным рационом с начала опыта давались митофен из расчета 50 г. на тонну корма и кормовая добавка, содержащая 10% янтарной кислоты, в количестве 1,5 кг на тонну корма. Курам-несушкам III подопытной группы вместе с основным рационом с начала опыта давалась только кормовая добавка, содержащая 10% янтарной кислоты, в том же количестве. Через три месяца с начала опыта от птицы отбиралось яйцо для определения качества сразу и после 5 месяцев хранения по 30 шт. Исследование ряда физических параметров качества яйца проводили общепринятыми методами [1,4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Параметры качества яйца, определен-

Таблица 1

Показатели качества яиц перед хранением n=30, (M±m)

Показатели	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Контрольная группа
Масса яйца, г	63,6±2,0	67,4±0,6***	66,7±1,2**	62,8±0,9
Объем яйца, см ³	58,1±1,8	61,5±0,5***	60,9±1,1**	57,3±0,8
Индекс формы, %	83,1±1,1	80,3±0,8	79,6±0,8*	81,6±0,5
Диаметр воздушной камеры, см	1,7±0,4	1,4±0,4	2,0±0,24*	1,2±0,3
Высота воздушной камеры, см	0,4±0,1	0,3±0,1	0,4±0,1*	0,2±0,1
Плотность яйца, г/см ³	1,1	1,1	1,1	1,1
Количество пор в скорлупе, шт×10000	7,5±0,6*	7,6±0,4**	7,4±0,6*	5,8±0,4
Толщина скорлупы, мм	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0
Масса скорлупы относительная, %	13,7±0,4	12,5±0,3	12,7±0,3	13,3±0,3
Отношение массы белка к массе желтка	2,6±0,2*	2,2±0,1	2,4±0,1	2,2±0,1
Масса белка относительная, %	61,2±1,6*	58,6±1,3	59,7±0,8	57,6±0,7
Масса желтка относительная, %	23,6±0,7**	26,7±0,9	25,2±0,8	26,9±0,7
Индекс белка, %	6,0±0,4	5,6±0,3	6,0±0,3	5,9±0,2
Индекс желтка, %	30,8±5,6	27,2±6,4	32,1±6,4	28,2±5,2
pH белка, ед	9,0±0,1**	9,2±0,3	8,6±0,1***	9,2±0,0
pH желтка, ед	6,4±0,1*	6,8±0,3	5,9±0,1***	6,7±0,1

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ достоверные отличия выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Таблица 2

Сравнительные показатели массы яиц перед закладкой и через пять месяцев хранения n=30, (M±m)

Показатели	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Контрольная группа
m1 яйца, г (в момент закладки на хранение)	67,1± 1,7*	67,5±0,7**	65,2±1,8	62,9±1,2
m2 яйца, г (через 5 месяцев от начала хранения)	59,3±2,3	59,5±1,0*	57,9±2,2	56,5±1,0
m1 – m2, г	7,8±1,7	7,9±0,7	7,2±1,0	6,4±0,5
% потери m	11,6	11,8	11,1	10,1

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; достоверные отличия выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы

Таблица 3

Показатели качества яиц после хранения в течение 5 мес. n=30, (M±m)

Показатели	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 3	Контрольная группа
Объем яйца, см ³	54,1±2,1	54,4±0,9*	52,9±2,0	51,6±0,9
Индекс формы, %	83,5±1,0	81,3±0,9	80,2±0,7*	81,9±0,6
Диаметр воздушной камеры, см	2,8±0,4	3,0±0,4	3,1±0,2	3,4±0,1
Высота воздушной камеры, см	0,7±0,1*	0,7±0,1*	0,8±0,1	0,9±0,0
Плотность яйца, г/см ³	1,1	1,1	1,1	1,1
Количество пор в скорлупе, шт ×10000	7,5±0,5**	7,5±0,5**	7,6±0,6**	5,9±0,3
Толщина скорлупы, мм	0,5±0,0*	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0
Масса скорлупы относительная, %	14,9±0,8	13,8±0,4*	14,0±0,5	14,8±0,4
Отношение массы белка к массе желтка	2,1±0,3*	1,7±0,1*	1,9±0,2*	1,6±0,1
Масса белка относительная, %	54,7±1,8*	52,8±1,3	54,1±1,9	50,5±0,9
Масса желтка относительная, %	28,8±2,1*	30,3±0,8*	29,5±1,6*	33,0±0,8
Индекс белка, %	5,7±0,2**	4,7±0,2	5,0±0,3	4,6±0,2
Индекс желтка, %	20,5±5,3	25,9±5,8	18,8±6,1	19,3±5,9
pH белка, ед	8,5±0,1**	8,6±0,1*	8,6±0,1*	8,8±0,0
pH желтка, ед	6,2±0,1	5,7±0,1*	5,5±0,1***	6,1±0,1

*Примечание: * - P < 0,05; ** - P < 0,01; *** - P < 0,001 достоверные отличия выведены при сравнении показателей подопытных и контрольной групп птицы*

ные перед отбором яиц на хранение отражены в таблице 1.

Таким образом, использование митофена в течение 3 месяцев в качестве кормовой добавки к рациону в дозе 50 мг/кг корма (Группа № 1) курам-несушкам с 4-х месячного возраста способствует изменению ряда показателей качества получаемых яиц относительно контроля, включая соответственно:

Утолщение скорлупы.

Повышение количества пор в скорлупе на 29,5%, индекса желтка - на 9,3%, отношения массы белка к массе желтка -

на 17,4% и относительной массе белка - на 6,2%.

Снижение pH белка в среднем на 0,3.

Анализируя результаты II подопытной группы, можно проследить тенденцию синергидного действия митофена с кормовой добавкой, на показатели качества яйца, в сравнении со всеми остальными группами. Вместе с тем, при достоверном увеличении массы и объема яйца, остальные показатели находятся на должном высоком уровне, как и в I и III подопытных группах в отношении контрольной. Кроме того, применение митофена курам-

несушкам в указанных дозах не приводит к существенному изменению массы, объёма яйца, относительной массы скорлупы, плотности яйца и рН желтка.

Таким образом, совокупность полученных в этом опыте данных свидетельствует об отсутствии негативных эффектов и положительном влиянии применяемых антиоксидантов на качество яйца.

Через пять месяцев хранения в бытовом холодильнике при температуре $+3^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. было отмечено изменение массы яйца, что отражено в таблице 2.

Анализ таблицы 2 показывает, что естественный процесс потери массы яйца существенно не отличается во всех группах. Однако, необходимо учесть, что в подопытных группах было отмечено на 27-30,5% пор в скорлупе больше, чем в контрольной. Если бы качество яиц, полученных от контрольной и подопытной птицы, было бы абсолютно идентичным, следовало бы ожидать, что потеря массы яиц подопытной группы было бы значительно выше. Поэтому, в данном случае, можно предполагать лучшую сохраняемость и более высокое качество яйца от кур, получавших антиоксидант митофен и кормовую добавку, как вместе, так и раздельно.

Кроме незначительной потери веса яйца в процессе хранения, иных повреждений, неполноценности и технического брака в отобранных партиях отмечено не было.

Параметры качества яйца, определенные после пяти месяцев хранения отражены в таблице 3.

Показатели качества яйца от кур-несушек, получавших митофен, несколько отличаются от контрольных. В общих чертах сохраняются такие же положительные тенденции, что и при начальной закладке яйца. Однако по ряду признаков за время хранения произошли значимые изменения:

Высота воздушной камеры в яйце от

подопытных кур увеличилась достоверно меньше, чем в контрольной группе, что свидетельствует о лучшей сохранности яйца от кур подопытных групп.

За время хранения достоверно увеличилась разница в показателе индекса белка между группами. Так, если у яиц от подопытных кур I группы этот показатель снизился в среднем с 6,0 до 5,7, что, учитывая разброс, можно считать статистически незначимым. В тоже время яйцо от кур контрольной группы снизило за 5 месяцев хранения этот показатель с $5,9 \pm 0,2$ до $4,6 \pm 0,2$, что является весьма существенным и свидетельствует об ухудшении качества белка исследуемых яиц. Индекс белка яиц II подопытной группы снизился с $5,62 \pm 0,26$ до $4,76 \pm 0,20$, что позволяет говорить о тенденции лучшей сохранности яйца по данному показателю в отношении контроля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в рамках данного опыта можно утверждать, что применение антиоксидантов, в частности, митофена в рационе кур-несушек способствует улучшению качества яйца и его сохранности. Кроме того, выявлен эффект синергизма при одновременном применении антиоксидантов разных классов (в частности, органические кислоты и полифенолы) в рационе в терапевтических дозах.

Application of the mitophen with feeding for laying hens and its impact on quality of the chicken eggs.

A. Sviatkovskii, N. Andreeva.

ABSTRACT

We investigated the effects of application of polyphenolic antioxidant mitophen on laying hens when used with feeding and feed supplement containing succinic acid on some physical parameters of eggs and during prolonged storage of eggs. Within the experiment there were formed a control group and three experimental groups of 4 months old laying hens, and the following introductions were made into the daily ration from

the start of the experiment: the first experimental group – mitophen at the rate of 50 g per ton of feeding; the second experimental group – mitophen at the rate of 50 g per ton of feeding and a feed supplement containing 10% succinic acid in an amount of 1.5 kg per ton of feeding; the third experimental group – feed supplement containing 10% succinic acid in an amount of 1.5 kg per ton of feeding. After three months from the launch of the experiment we collected from birds eggs with the aim to determine the quality of the eggs immediately upon collection as well as after 5 months of storage. The quality parameters of the egg were investigated by conventional methods. As a result, all experimental groups showed increase in the number of pores in the shell by 27-30,5%, as well as growth of the shell thickness and increase of egg weight. Cumulatively all data collected within the experiment indicates the absence of negative effects on the quality of eggs and positive effect of antioxidants on the eggs quality. Within five month storage of eggs, no damages, deficiencies or technical drawbacks, other than minor loss of weight, were determined in the selected batches. Within this particular experiment one can state that the use of antioxidants, in particular, mitophen in the daily ration of laying hens improves the quality of eggs and its preservation. Moreover, within the experiment we revealed a synergistic effect of the simultaneous use of different classes of antioxidants (in particular, organic acids and polyphenols) at therapeutic doses in the daily ration.

Key words: antioxidant, mitophen, quality chicken eggs.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ 31654-2012. «Яйца куриные пищевые. Технические условия»
2. Базова Е.С., Святковский А.В., Рябцев П.С., Слободянюк А.А., Сёмина А.Н. Исследование токсических свойств митофена на птице // Новые подходы к решению актуальных ветеринарно-санитарных и

зоотехнических проблем в птицеводстве на современном этапе / Мат. междунар. науч.-пр. кон. – СПб. –2011. –С. 135-136.

3. Кадхум Ф.С. Влияние митофена на гематологические и иммунологические показатели цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни // Животноводство и ветеринарная медицина. -Беларусь. –2014. -№1. –С. 48-52.

4. Лукашенко В.С., Лысенко М.А., Столяр Т.А. Методические рекомендации по проведению анатомической разделки тушек и органолептической оценки качества мяса и яиц сельскохозяйственной птицы, и морфологии яиц. – Сергиев Посад. - 2004. -27с.

5. Медведев Ю.В., Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. – М. -2000. -232с.

6. Медведев Ю.В., Натриевая соль поли (пара-дигидрокси-парафенилен) тиосульфокис-лоты, обладающая супероксидантной активностью, и способ ее получения // Рос. пат. 2175317 от 27.10.2001.

7. Святковский А.В. Определение оптимальных доз митофена при выращивании цыплят // Мат. IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации» – М. -2013. –С. 504-508

8. Bisby R.H. Interaction of vitamin E with free radicals and membranes // Free Rad. Res. Comms. -1990. –Vol.8. -№4-6. -P. 299-306.

9. Lenaz G., De Santis A. A survey of the Function and specificity of Ubiquinone in the Mitochondrial respiratory chain // Ed. G. Lenaz.- Chichester: Wiles. -1985. –P. 165-199.

АНТИТОКСИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ И МЕСТНО-РАЗДРАЖАЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА ИВЕРСАН

Мелнис Р.И.¹ - аспирант, Новиков Д.Д.² - к.вет.н.,
¹Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия,
²ООО «НВЦ Агроветзащита»



РЕФЕРАТ

Препарат Иверсан не вызывает в испытуемых дозах увеличения времени сна и не приводит к нарушению функционального состояния печени, следовательно, препарат не обладает гепатотропным действием. Иверсан в дозе 400 мкг/кг при накожном нанесении в течение 4 часов не вызывает изменений в состоянии животных, что свидетельствует об отсутствии кожно-резорбтивного и местно-раздражающего действия препарата. Иверсан вызывает слабое раздражение конъюнктивы и роговицы глаз кроликов через 2-4 часа после закапывания, однако, к 5-му часу раздражение проходило, клиническое состояние кроликов оставалось в пределах физиологической нормы.

Ключевые слова: мыши, кролики, крысы, Иверсан, антитоксическая функция печени, гексеналовый сон, кожно-резорбтивное и раздражающее действие.

ВВЕДЕНИЕ

Ивермектин широко применяется для лечения различных паразитарных заболеваний, причем в очень малых концентрациях по сравнению с другими паразитицидами. Ивермектин обладает широким спектром противопаразитарного действия, применяется орально, наружно и подкожно в виде инъекций [4].

Ивермектин является малотоксичным препаратом – ЛД₅₀ для белых мышей – 25, для крыс – 50, для крысят 2 – 3 мг/кг, для собак – 80 мг/кг массы тела соответственно. При пероральном введении взрослым мышам ивермектин более токсичен для самцов, чем для самок. Эти дозы значительно превышают рекомендованные [4]. У собак признаки токсикоза проявлялись мышечной дрожью, тремором, атаксией и обильным слюнотечением. При накожном введении ЛД₅₀ составила для кроликов 406, для крыс более 660 мг/кг.

Изучение параметров безопасности ивермектина проведено на различных видах животных и в разных регионах страны [2, 3]. Специальные опыты по влиянию ивермектина на организм крупного рогатого скота проведены [5]. Введение телятам препарата в дозе 8 мг/кг подкожно наблюдали атаксию, угнетение, учащенное дыхание. Один теленок пал, двух вынужденно убили и четыре выздоровели. В других работах подобные нарушения находили при введении препарата в дозе в 10 раз превышающих терапевтическую [1]. Автор [1] установил, что ивермектин в дозе 1 мг/кг крупному рогатому скоту является максимально переносимой дозой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработан новый лекарственный препарат на основе ивермектина – Иверсан. Иверсан – раствор для орального применения, в 1 мл которого содержится дейст-

вующего вещества ивермектин – 40 мг и вспомогательные вещества.

Нами изучена антитоксическая функция печени и местно-раздражающие свойства препарата.

Изучение влияния препарата на анти-токсическую функцию печени взяли – 70 белых беспородных мышей, массой 18 – 20 г и разделили их на 3 группы. Контрольных и подопытных животных подбирали парами по весу и гексенал им вводили одновременно. Препарат в дозе 400 мкг/кг и 1200 мкг/кг по ДВ давали перорально индивидуально с помощью зонда. Раствор гексенала готовили непосредственно перед применением и вводили внутривентриально в дозе 1,0 и 2,0 мг/кг массы тела через 1, 3 и 24 часа после дачи препарата.

Скорость наступления и длительности гексеналового сна отсчитывали с момента принятия «бокового положения» до первых попыток изменить его и выражали в минутах.

Изучение местно-раздражающего действия провели на 6 кроликах, которым за сутки до начала опыта выстригали шерсть в области спины площадью 3 x 4 см².

Препарат в дозе 400 мкг/кг наносили на кожную поверхность и слегка втирали. Животных помещали в обычные клетки и кормили, согласно зоотехнических норм.

В течение 30 суток после начала опыта вели визуальное наблюдение за внешним видом, состоянием и поведением животных. Отмечали время, степень проявления признаков токсикоза, а также падеж животных.

Реакцию кожи учитывали по шкале оценки кожных проб (С.В. Суворов, 1974).

Изучение кожно-резорбтивного действия провели на 5 крысах. Трех крыс фиксировали в специальных домиках, а их хвосты погружали на 2/3 длины в пробирки с препаратом. Время экспозиции – 4 часа в течение 5 дней. Хвосты двух кон-

трольных крыс погружали на 2/3 длины в пробирки с твином.

Опыт по изучению раздражающего действия препарата Иверсанна конъюнктиву глаз изучали на 2-х кроликах.

Визуальную оценку проводил в баллах согласно степени определения раздражающего действия препарата на конъюнктиву глаз.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований функционального состояния печени представлены в таблице 1.

Как показали исследования, препарат в испытываемых дозах достоверного увеличения времени сна у мышей не вызывал. Следовательно, препарат не обладает гепатотропным действием и не приводит к нарушению функционального состояния печени.

В результате экспериментов, проведенных по стандартным методикам, было показано, что однократная аппликация препарата на кожу кроликов (по 6 голов) в дозе 400 мкг/кг в течение 4 часов не вызывала изменений в состоянии животных. Не выявлено гибели животных во всех группах, что свидетельствует об отсутствии кожно-резорбтивного действия препарата при его однократном применении.

При изучении кожно-резорбтивного действия опытные крысы на протяжении эксперимента практически не отличались от контрольных.

Наблюдение в течение двух недель после нанесения препарата не выявило каких-либо проявлений интоксикации, кожа покрывалась равномерным гладким шерстным покровом, животные были подвижны и хорошо ели.

Следовательно, препарат при накожном применении не вызывал местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия при однократном и пятикратном нанесении на кожу.

При визуальной оценке состояния

Таблица 1

Результаты исследований функционального состояния печени

Группа		Количество животных в группе	Доза препарата, ДВ	Время сна мышей, мин
опытная	1 час	10	400 мкг/кг	22,4±0,2
	3 часа	10		22,6±0,3
	24 часа	10		23,1±0,2
опытная	1 час	10	1200 мкг/кг	26,9±0,4
	3 часа	10		24,6±0,3
	24 часа	10		24,2±0,8
контроль		10		21,8

Таблица 2

Результаты опыта по изучению раздражающего действия препарата Иверсан на конъюнктиву глаз

Время исследования	Кролик №1		Кролик № 2	
	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
До введения	0	отсутствует	0	Отсутствует
Через 30 минут	0	отсутствует	0	Отсутствует
Через 1 час	0	отсутствует	0	отсутствует
Через 2 часа	2	слабый	2	слабый
Через 3 часа	2	слабый	2	слабый
Через 4 часа	2	слабый	2	слабый
Через 5 часов	0	отсутствует	0	отсутствует
Через 6 часов	0	отсутствует	0	отсутствует

конъюнктивы, роговицы и век глаз кроликов установлено, что препарат Иверсан вызывает слабое раздражение конъюнктивы спустя 2-4 часа после закапывания, которое проходило уже к 5 –у часу (таблица 2).

Клиническое состояние кроликов после нанесения на конъюнктиву глаз препарата Иверсан оставалось в пределах нормы, т.е. не выявлялись изменения в температуре тела, частоте пульса и количества дыхательных движений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали исследования параметров безопасности Иверсана, препарат не

обладает гепатотропным действием и не приводит к нарушению функционального состояния печени. При накожном применении Иверсана в терапевтической и пятикратно увеличенной дозы препарат не вызывал местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия.

Antitoxic function of the liver and locally irritating properties of the drug Iversan.

R. Melnis, D. Novikov.

ABSTRACT

The drug does not cause Iversan subjects in doses increase sleep time and did not lead to a violation of the functional state of the liver, therefore, the drug does not have the

hepatotropic action. Iversan a dose of 400 µg/kg dermal application for 4 hours caused no change in the state of the animals, indicating the absence of skin-resorptive and local irritant effect of the drug. Iversan cause slight irritation of the conjunctiva and cornea of rabbits 2-4 hours after instillation, however, to the 5th hour of irritation passed, the clinical condition of the rabbits remained within the physiological norm.

Key words: mice, rabbits, rats, Iversan, antitoxic function of the liver, hexenal sleep, skin-resorptive and irritating.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков Ф.А., Волков К.Ф. Ивомек - опыт применения в России. -М. -1999. -39 с.
2. Волков Ф.А., Апалькин В.А., Волков

К.Ф. Макроциклические лактоны в ветеринарии (аверсект, дектомакс, дуотин, ивомек, цидектин, эквалан и другие препараты). -Новосибирск. -1995. -100с.

3. Демидов Н.В. Антгельминтики в ветеринарии. -М. -1982. -320с.

4. Craig N. Burkhart. Ivermectin: An Assessment of its Pharmacology, Microbiology and Safety // Vet. Human Toxicology. - 2000. -№1. -Р. 30 – 35.

5. French D.D., T.R. Klei, H.W. Taylor, M.R. Chapman, F.R. Wright. Efficacy of ivermectin in the oral paste formulation against naturally acquired adult and larval stages of *Parascaris equorum* in pony foals // Am. J. Vet. Res. -1988. -Vol.49. -№7. -Р. 1000-1003.

УДК 619.615.9

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТА ИВЕРСАН

Мелнис Р.И. - аспирант

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия,



РЕФЕРАТ

Изучена острая токсичность новой лекарственной формы ивермектина препарата Иверсан, разработанного ООО «НВЦ Агроветзащита» в форме раствора для орального применения. При введении нативной формы Иверсана белым крысам ЛД₀ составила 2,5 г/кг, ЛД₁₆ – 3,7 г/кг, ЛД₅₀ – 4,1 г/кг, ЛД₈₄ – 5,3 г/кг, ЛД₁₀₀ – 6,5 г/кг. Согласно классификации(ГОСТ 12.1.07-76) препарат Иверсан относится к умеренно токсичным соединениям (3 класс опасности).

Ключевые слова: Иверсан, крысы, острая токсичность.

ВВЕДЕНИЕ

ООО «НВЦ Агроветзащита» разработала антипаразитарный препарат в форме раствора для перорального применения, содержащий в качестве действующего вещества 4% ивермектин – Иверсан.

Ивермектин обладает широким спектром противопаразитарного действия, применяется орально, наружно и подкожно в виде инъекций [3].

Препарат обладает выраженным противопаразитарным действием на личиночные и половозрелые стадии нематод

желудочно-кишечного тракта и легких, личинки подкожных, носоглоточных, желудочных оводов, вшей, кровососок и саркоптоидных клещей. Препарат усиливает выработку нейромедиатора торможения - гамма-аминомаслянной кислоты, что приводит к нарушению передачи нервных импульсов, параличу и гибели паразита, быстро всасывается из места введения, распределяется в органах и тканях животного, обеспечивая паразитоцидное действие в течение 12 — 14 дней. Выводится из организма в основном с

Таблица 1

**Результаты острой токсичности «Иверсана»
при введении в желудок белых крыс**

Доза в г/кг	2,5	3,5	4,5	6,5
Выжило	6	5	1	0
Погибло	0	1	5	6
Z	0,5	3,0		5,5
D	1,0	1,0		2,0
Zd	0,5	3,0		11,0

Обозначения: Z-среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между 2-мя смежными дозами

фекалиями, а также мочой и желчью, у лактирующих животных также с молоком. Во внешней среде препарат быстро разрушается. [1, 2, 3, 4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Задачей настоящего исследования является изучение острой токсичности Иверсана в условиях введения в желудок. Опыты проводились на белых крысах. Исходный вес животных колебался в пределах 200-210 г. В опыт брали клинически здоровых животных, которые предварительно выдерживались на 15 - дневном карантине. Статистические группы состояли из 6 животных.

За животными вели наблюдение в течение 2-х недель после введения, отмечая сроки гибели или выздоровления животных. Учитывали общее состояние животных, сохранение двигательных функций, аппетита, состояние шерстного покрова, дыхания, реакцию на внешние раздражители.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Препарат вводили в желудок белых крыс в нативной форме. Были испытаны дозы – 2,5 3,5; 4,5 и 6,5 г/кг м.т. (объем препарата на крысу составлял - 0,5; 0,7; 0,9; 1,3 мл на крысу массой 200 г, соответственно). При введении препарата в дозах 2,5 г/кг массы тела отклонений в клинической картине не наблюдали.

В дозах 3,5, 4,5 и 6,5 г/кг от введения препарата клиника острого отравления

животных характеризовалась выраженным угнетением, вялостью животных, снижением подвижности. У животных наблюдалось нарушение координации движения, малоподвижность. Смерть наступала от остановки дыхания.

Полученные результаты представлены в таблице № 1.

Определение ЛД₅₀ проводили по формуле:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - (\Sigma Zd/n) = 6,5 - (14,5/6) = 4,1 \text{ г/кг (0,82 мл на крысу массой 200 г).}$$

С помощью графического метода анализа зависимости «доза-эффект» определяли ЛД₁₆ и ЛД₈₄, которые составили - 3,7 г/кг и 5,3 г/кг, соответственно.

Стандартную ошибку устанавливали по формуле Гаддама: $S = \sqrt{K \times s \times d/n}$; где K = 0,564; d - среднее интервалов между дозами равно 1,3;

$$S = (ЛД_{84} - ЛД_{16})/2 = (5,3 - 3,7)/2 = 0,8 \text{ г/кг.}$$

$$S = \sqrt{(0,56 \times 0,8 \times 1,3)/6} = 0,3 \text{ г/кг.}$$

Таким образом, ЛД₅₀ средства составляет $4,1 \pm 0,3$ г/кг м.т. (0,164 г/кг по ивермектину). Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76) препарат «Иверсан» и по препарату, и по действующему веществу - умереннотоксичное соединение (3 класс).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препарат Иверсан (4% ивермектин), разработанный фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» по данным, полученным при изучении острой токсичности относится к

умеренно токсичным соединениям (3 класс).

Acute toxicity Iversan.

R. Melnis.

ABSTRACT

Studied the acute toxicity of a new dosage form of the drug ivermectin Iversan developed by ООО "NEC Agrovetzschita" in the form of a solution for oral administration. When administered to the native form of white rats Iversana LD₀ was 2.5 g/kg, LD₁₆ - 3.7 g/kg, LD₅₀ - 4.1 g/kg, LD₈₄ - 5.3 g/kg and LD₁₀₀ - 6.5 g/kg. According to the classification (GOST 12.1.07-76) Iversan drug belongs to a moderately toxic compounds (Hazard Class 3).

Key words: Iversan, rats, acute toxicity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демидов Н.В. Антигельминтики в ветеринарии. -М. -1982. -320с.
2. Кидяев В.И. Комплексная оценка применения ивермектина при основных паразитозах крупного рогатого скота. Автореф. дисс. канд. вет. наук. – М. -2001 –25 с.
3. Craig N. Burkhart. Ivermectin: An Assessment of its Pharmacology, Microbiology and Safety // Vet. Human Toxicology. - 2000. -№1. –Р. 30 – 35;
4. Lancas C.R., Gordon R. Toxicology in ivermectin and abamectin // Edtt. W. Campbell. -1989. –Р. 89-113.



**Зоогигиена, санитария,
кормление**

УДК 619:578.834.11

**ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ
ИЗОЛЯТА ВАРИАНТНОГО ВИРУСА
ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР КАК
КОМПОНЕНТА ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ**

Самусева Г.Н. - с.н.с. отдела вирусологии и опухолевых болезней птиц,

Дубовой А.С. - с.н.с. отдела вирусологии и опухолевых болезней птиц

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства



РЕФЕРАТ

Объектом исследования являлся выделенный нами ранее изолят вариантного вируса ИБК, имеющий 98% гомологии со штаммами и изолятами серотипа 793/В. Цель работы - изучить антигенные свойства данного изолята для определения перспективности его использования в инактивированных вакцинах в качестве антигена.

Из накопленной на СПФ эмбрионах кур экстраэмбриональной вирусосодержащей жидкости, содержащей изолят вируса ИБК, после инактивации был изготовлен образец инактивированной эмульгированной вакцины. Референс-препаратом выступал образец инактивированной эмульгированной вакцины, изготовленный из штамма РВ-07 вариантного вируса ИБК, также принадлежащего к серотипу 793/В. Полученными препаратами вакцинировали цыплят 90-дневного возраста. Через 14, 21, 30 и 45 дней после вакцина-

ции сыворотки крови цыплят исследовали иммуноферментным методом на наличие антител к вирусу ИБК.

Оба препарата показали положительную антигенную активность. Уровень титров антител к вирусу ИБК после иммунизации препаратом, включающим в свой состав изолят вариантного вируса ИБК, был в 2,5 раз выше по сравнению с референс-препаратом. Использование изучаемого изолята вариантного вируса ИБК в изготовлении инактивированной эмульгированной вакцины позволяет индуцировать у привитой птицы высокий уровень иммунного ответа.

Ключевые слова: инфекционный бронхит кур (ИБК), изолят, вариантный штамм, инактивированная вакцина.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционный бронхит кур (ИБК) - высококонтагиозная болезнь, характеризующаяся поражением респираторного тракта, а также мочеполовой системы птиц [3,5]. Заболевание регистрируется практически во всех странах с развитым птицеводством [5]. Возбудитель ИБК - РНК-содержащий вирус семейства *Corona viridae* характеризуется высокой изменчивостью в геноме в результате накопления точечных мутаций, инсерций и делеций и рекомбинации [6,7]. Такая высокая генетическая изменчивость вируса ИБК приводит к появлению большого количества серотипов и иммунитет, приобретенный к одному серотипу, часто недостаточно обеспечивает перекрестной защиты от заражения вирусом других серотипов [1,6,7].

Проведенный на территории РФ мониторинг с помощью ОТ-ПЦР и секвенирования указывает, что в 2005-2011 гг. по сравнению сданными за период 1998-2004 гг. сократилось количество изолятов вируса ИБК генотипа Массачусетс на 13% и возросло количество изолятов вируса ИБК генотипа 793 В на 10%, QX - на 14% [2,4,8]. Следовательно, для успешной профилактики ИБК необходимо осуществлять типирование и изучение биологических свойств изолятов вируса ИБК с целью разработки вакцин из вновь выявленных серотипов вируса ИБК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы СПФ-

эмбрионы кур 9 суточного срока инкубации, выделенный ранее нами изолят вариантного вируса ИБК, по анализу последовательности фрагмента гена S1 имеющий 98% гомологии со штаммами и изолятами серотипа 793/В, производственный вакцинный штамм «РВ-07» вариантного вируса ИБК, также принадлежащий к серотипу 793/В, цыплята 90-дневного возраста, набор для выявления антител к вирусу инфекционного бронхита кур иммуноферментным методом производства фирмы BioChek.

При заражении эмбрионов применяли метод инокуляции вирусного материала в аллантаоисную полость объемом 0,2 см³. Для оценки биологической активности вирусного материала использовали метод титрования вируса на развивающихся СПФ-эмбрионах кур, заражая их в аллантаоисную полость. Расчеты титров выполняли методом Кербера в модификации Ашмарина.

Инактивацию вирусосодержащего материала проводили теотропином (1,8,3,6-диэндометилен -1,3,6,8 тетраазациклодекан)- конечная концентрация препарата 0,15%, время инкубации 36 часов, температура инкубации (37,0±0,5)⁰С. Контроль полноты инактивации осуществляли методом трех последовательных пассажей на развивающихся эмбрионах кур. При изготовлении образцов инактивированных вакцин эмульсию получали методом гомогенизации водного и масляного компонентов в соотношении 30:70 с помощью гомогенизатора UltraturaxT-25. В

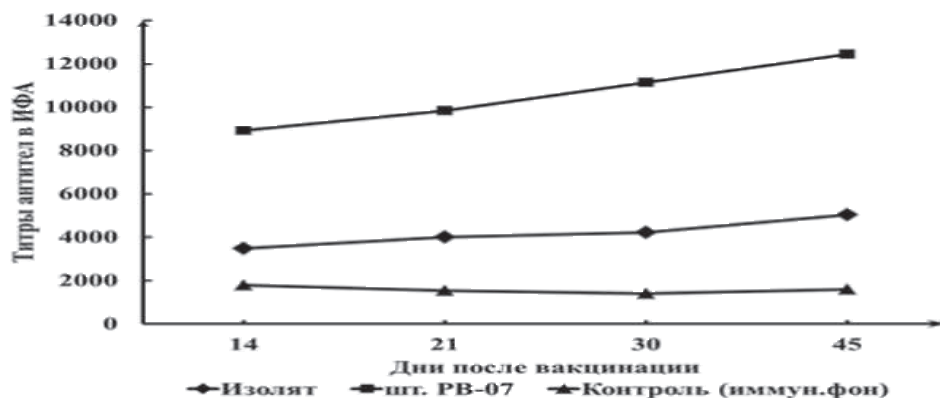


Рис.1. Динамика выработки антител к вирусу ИБК после иммунизации цыплят образцами вакцин №1 и №2 содержащих инактивированные изолят и шт. RB-07 вариантного вируса ИБК

качестве масляной фазы использовали адъювант АБ-4М отечественного производства.

Иммунизацию цыплят осуществляли подкожным введением препарата объемом 0,5 см³ в среднюю треть шеи. Антигенную активность оценивали по титрам поствакцинальных антител в ИФА (ИБК) в соответствии с инструкцией по применению набора.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для исследований был отобран накопленный на СПФ эмбрионах кур вирусосодержащий материал как изолята вариантного вируса ИБК, так и шт. RB-07 вариантного вируса ИБК с одинаковой биологической активностью равной 10^{7,0} ЭИД₅₀/см³.

Полученный материал был подвергнут инактивации теотропином и, после контролей на полноту инактивации и стерильность, был использован для изготовления образцов инактивированных вакцин. Из полученных антигенов вариантного вируса ИБК были изготовлены следующие образцы инактивированных вакцин:

№ 1. Инактивированная эмульгированная вакцина против вариантного вируса ИБК на основе инактивированного изолята (Изолят);

№ 2. Инактивированная эмульгированная вакцина против вариантного вируса ИБК на основе инактивированного штамма RB-07 (шт. RB-07).

Инактивированная вакцина на основе инактивированного шт. RB-07 выступала в качестве референс-препарата.

Для проведения исследований цыплята в количестве 60 голов были разделены на 3 группы по 20 голов в каждой. Цыплят первой группы иммунизировали препаратом №1, цыплят второй группы – препаратом № 2, цыплята третьей группы оставались интактными и служили в качестве чистого контроля. Через 14, 21, 30 и 45 дней после вакцинации от всех цыплят брали кровь, получали сыворотки и исследовали их в ИФА на наличие антител к вирусу ИБК.

Вакцину считали антигенно активной, если титры поствакцинальных антител в ИФА к вирусу ИБК не менее, чем в 2 раза превышали минимальный положительный титр, указанный в инструкции набора BioChek (1:834) при отрицательном иммунном фоне (уровень титров антител к вирусу ИБК у цыплят контрольной группы) или не менее, чем в 2 раза превышали уровень иммунного фона. Результаты исследований образцов вакцин №1 и №2 на антигенную активность пред-

ставлены на рис. 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из представленного графика, оба препарата показали положительную антигенную активность. Уровень титров антител к вирусу ИБК после иммунизации препаратом, включающим в свой состав изолят вариантного вируса ИБК, был в 2,5 раз выше по сравнению с референс-препаратом на протяжении всего периода исследования, составляющего 45 дней.

Таким образом, использование изучаемого изолята вариантного вируса ИБК в изготовлении инактивированной эмульгированной вакцины позволяет индуцировать у привитой птицы высокий уровень иммунного ответа.

The study of the antigenic activity of isolate of avian variant infectious bronchitis virus as a component of the inactivated vaccine.

G. Samuseva, A. Dubovoi.

ABSTRACT

The object of the research was previously selected isolate of variant avian infectious bronchitis (IB) virus, which had 98% homology with strains and isolates of serotype 793/B. The aim of this study was to examine antigenic properties of the isolate and to determine the further prospects of its use as antigen in the production of inactivated vaccine against infectious bronchitis. The antigenicity of isolate of variant IB virus was compared with strain PB-07 variant IB virus (serotype 793/B) as reference antigen used in inactivated oil-emulsion vaccines. Results of these studies clearly indicate that isolate of variant IB virus was much better immunogen than reference antigen.

Key words: avian infectious bronchitis (IB), isolate, variant strain, inactivated vaccine.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочков Ю.А., Борисов А.В., Фролов С.В. И др. Диагностика инфекционного

бронхита кур // Ветеринария. –2003. -№4. –С. 21-24.

2. Овчинникова Е.В., Батченко Г.В., Чупина О.А. и др. Генетическая характеристика полевых изолятов вируса инфекционного бронхита кур, выявленных в России в 2004-2005 гг. // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. - Владимир. -2006. -Т.4. -С. 362-369.

3. Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В. Вирусные болезни животных. - М. -1998. -С. 183-198.

4. Bochkov Y.A., Batchenko G.V., Shcherbakova L.O. Molecular epizootiology of avian infectious bronchitis in Russia // Avian Pathology. -2006. -Vol.35. -P. 379-393.

5. Calnek B.W., Bames H.J., Beard C.W. Infectious bronchitis // Diseases of Poultry, Tenth Edn. -USA. -1997. -P. 510-526.

6. Cavanagh D., Naqi S. Infectious bronchitis // Diseases of Poultry. –2003. -P. 101-119.

7. Ignjatovic J., Gould G., Sapats S. Isolation of a variant infectious bronchitis virus in Australia that further illustrates diversity among emerging strain // Arc. Virol. –2006. -Vol.151. -P. 1567-1585.

8. Ovchinnikova E., Bochkov Y., Shcherbakova L., Nikonova Z. Molecular characterization of infectious bronchitis virus isolates from Russia and neighbouring countries: identification of intertypic recombination in the SI gene // Avian Pathology. - 2011. -№5. -Vol. 40. -P. 507-514.

ПОВЫШЕНИЕ АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ МЕТАПНЕВМОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПТИЦ

Дубовой А.С. - с.н.с., Самусева Г.Н. - с.н.с., Сморчкова Т.Н. - с.н.с., отдел вирусологии и опухолевых болезней птиц, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства



РЕФЕРАТ

Цель работы - изучение антигенных свойств эмульгированной инактивированной вакцины против метапневмовирусной инфекции птиц (МПВИ), в водную фракцию которой введен синтетический сополимер в качестве дополнительного стимулятора иммуногена.

Проведенное сравнительное изучение антигенных свойств вакцины против МПВИ инактивированной эмульгированной и аналогичной, но содержащей синтетический сополимер в составе водной фракции показало, что синтетический сополимер обладает адъювантными свойствами и позволяет усиливать иммунный ответ, индуцируемый масляным адъювантом при их сочетанном применении. Введение синтетического сополимера в водную фракцию не влияло на безвредность вакцины, стабильность эмульсии. Вязкость препарата также оставалась в пределах нормы.

Ключевые слова: адъювант, синтетический сополимер, инактивированная вакцина, метапневмовирусная инфекция птиц.

ВВЕДЕНИЕ

Адъюванты это вещества или комплекс веществ различной химической природы, которые действуя неспецифически, повышают специфический иммунный ответ. Известно большое количество веществ, имеющих различный химический состав и происхождение, которые способны оказывать адъювантное действие [1,4].

В качестве адъювантов используют гидроокись или фосфат алюминия, водно-масляные эмульсии, липосомы, продукты микобактерий, сапонины, декстраны, полимеры, липополисахариды, лимфокины, микрокапсулы и др. Большинство авторов выделяют два основных вектора действия адъювантов: 1. на антиген – через изменение свойств антигена, 2. на организм - путем стимуляции функций иммунной

системы последнего. Механизм адъювантного действия во многом еще остается невыясненным. Выяснение механизма иммунного ответа затрудняется сложностью и гетерогенностью строения антигенов и адъювантов. В настоящее время установлено, что адъюванты взаимодействуют с наиболее важными антигенпрезентирующими клетками (макрофагами, клетками Лангерганса, дендритными клетками) и эффекторными клетками (плазматическими клетками, естественными киллерами), Т-хелперами и клетками воспаления (полиморфно-ядерными базофилами, эозинофилами) [2,3,4,5].

При изготовлении инактивированных вакцин широко применяются адъюванты, позволяющие значительно повышать иммуногенную и антигенную активность препаратов, а также увеличивать продол-

жительность иммунного ответа. Использование адъювантов позволяет уменьшить дозу антигена в вакцине, увеличить иммуногенность «слабых» антигенов, предотвращать конкуренцию антигенов в комбинированных вакцинах, увеличивать скорость развития и продолжительность иммунного ответа у привитых животных, индуцировать защитные свойства слизистых оболочек [6].

Анализ литературных данных показывает, что в настоящее время интенсивно проводятся исследования, направленные на разработку новых и улучшение существующих адъювантных систем.

Цель работы - изучить антигенные свойства эмульгированной инактивированной вакцины против МПВИ птиц, в водную фракцию которой введен синтетический сополимер в качестве дополнительного стимулятора иммунногенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях были использованы масляный адъювант отечественного производства АБ-М4 (В/М), антиген метапневмовируса птиц (МПВ) с биологической активностью $10^{6,25}$ ТЦД₅₀/см³, определенной до инактивации, цыплята 90-суточного возраста, наборы для выявления антител к МПВИ иммуноферментным методом производства фирмы Bio-Chek, 1%-ный раствор синтетического сополимера.

При изготовлении образцов инактивированных вакцин против МПВИ эмульсию получали методом гомогенизации водного и масляного компонентов в соотношении 30:70 с помощью гомогенизатора UltraturraxT-25.

Образцы вакцин контролировали по следующим параметрам: стерильность, стабильность эмульсии, вязкость, безвредность и антигенная активность.

Контроль на стерильность проводили методом посева образцов вакцин на питательные среды: МПА, МПБ, МППБ под вазелиновым маслом и агар Сабуро. Об-

разцы считали стерильными при отсутствии в посевах роста бактериальной и грибной микрофлоры.

Стабильность эмульсии определяли методом термостатирования. Из флаконов с образцами вакцин, после интенсивного встряхивания, отбирали по 10 см³ эмульсии и переносили в стеклянные пробирки, которые выдерживали в термостате при $(37,0 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в течение 30 сут.

Эмульсию считали стабильной, если после термостатирования пробирок с отобранными пробами в процессе визуального контроля не выявляли прозрачной водной фракции на дне пробирки или полного расслоения эмульсии.

Кинематическую вязкость определяли с помощью вискозиметра ВПЖ -2 по методике, изложенной в паспорте к прибору. Кинематическая вязкость вакцины не должна превышать значение 150 мм²/с.

Безвредность инактивированных образцов вакцин оценивали по результатам иммунизации цыплят четырехкратной дозой, которая составляла 2,0 см³/гол. Для этого цыплят опытных групп (по 10 голов в каждой) иммунизировали изготовленными образцами вакцин, оставляя 10 голов цыплят качестве чистого контроля. Срок наблюдения составлял 20 дней. Вакцину считали безвредной, если все цыплята в течение срока наблюдения оставались живыми, без клинических признаков переболевания, а при вскрытии птицы, на месте введения вакцины отсутствовали выраженная воспалительная реакция и некроз тканей.

Антигенную активность и продолжительность иммунного ответа оценивали по титрам поствакцинальных антител в ИФА в соответствии с инструкцией по применению набора. Для этого цыплят опытных групп (по 10 голов в каждой) иммунизировали изготовленными образцами вакцин, инокулируя одну дозу вакцины, составляющую 0,5 см³/гол., оставляя 10 голов цыплят качестве чистого

контроля. Через 30 дней после иммунизации и далее ежемесячно от цыплят всех групп брали кровь, получали сыворотку и проводили исследования в ИФА. Срок наблюдения составлял 5 месяцев с момента иммунизации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На базе адъюванта АБ-М4 были изготовлены следующие образцы вакцин:

Вакцина №1 против МПВИ инактивированная эмульгированная.

Вакцина №2 против МПВИ инактивированная эмульгированная, содержащая в составе водной фракции синтетический сополимер в конечной концентрации 0,05%.

Вакцина № 1 выступала в роли референс-препарата. Вышеуказанными препаратами были провакцинированы по 10

голов цыплят 45 дневного возраста, 10 голов цыплят были оставлены в качестве чистого контроля.

Результаты исследований образцов вакцин №1 и №2 представлены в табл. 1. Результаты исследований образцов вакцин №1 и №2 на антигенную активность представлены на рис. 1.

Как видно из представленных данных, введение синтетического сополимера в водную фракцию образца вакцины №2 не повлияло на безвредность вакцины и стабильность эмульсии, вязкость препарата (68,4 мм²/с) также осталась в пределах допустимой нормы. Уровень иммунного ответа, оцениваемый по титрам антител к МПВ птиц в ИФА, у препарата №2 - вакцины против МПВИ инактивированной эмульгированной, содержащей в составе

Таблица 1
Результаты исследований образцов вакцин №1 и №2 на стерильность, полноту инактивации, стабильность эмульсии, вязкость и безвредность

Вакцина	Состав	Стерильность	Полнота инактивации	Стабильность эмульсии	Вязкость (мм ² /с)	Безвредность
№1	Аг+АБ-М4	стерильна	Полностью инактивированна	Стабильна	63,1	Безвредна
№2	Аг+сопол+ АБ-М4	стерильна	Полностью инактивированна	Стабильна	68,4	Безвредна

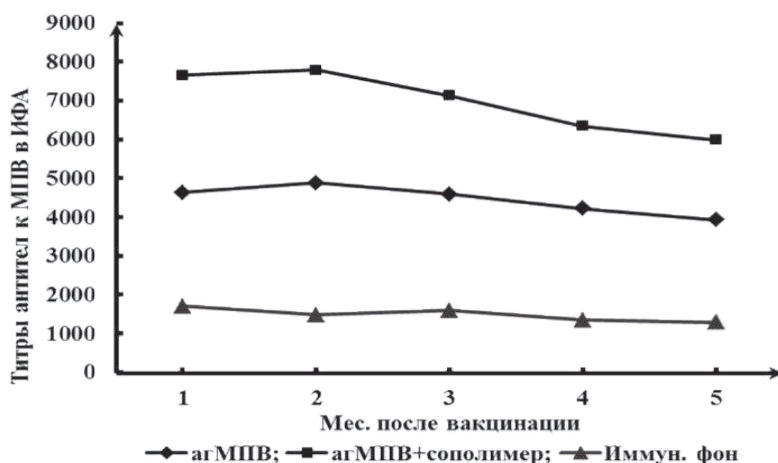


Рис. 1. Динамика выработки антител к МПВ после вакцинации цыплят образцами вакцин №1 и №2

водной фракции синтетический сополимер, значительно выше по сравнению с референс-препаратом №1- стандартной вакциной против МПВИ инактивированной эмульгированной на протяжении всего срока наблюдения, который составил 5 месяцев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования показывают, что синтетический сополимер обладает адьювантными свойствами и позволяет усиливать иммунный ответ, индуцируемый масляным адьювантом при их сочетанном применении в инактивированной вакцине против МПВИ.

Increasing of the antigenic activity of inactivated emulsion vaccine against avian metapneumovirus infection.

A. Dubovoi, G. Samuseva, T. Smorchkova.

ABSTRACT

The main purpose was to study the antigenic properties of inactivated emulsified vaccine against avian metapneumovirus infection with introduced synthetic copolymer in the aqueous fraction as an additional stimulator of immunogenesis. A comparative study of the antigenic properties of the inactivated emulsified vaccine against avian metapneumovirus infection and the same vaccine, but containing a synthetic copolymer in the aqueous fraction showed that the synthetic copolymer had adjuvant properties and increase immune response induced by an oil adjuvant in their combined use. Introduction of the synthetic copolymer in the aqueous fraction had no effect on the safety of the vaccine and the stability of the emulsion. The viscosity also remained in the normal range.

Key words: adjuvant, synthetic copolymer, inactivated vaccine, avian metapneumovirus infection.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aguilar J.C. Vaccine adjuvants revisited // *Vaccine*. –2007. –№25. –P. 3752–3762

2. Cox J.C., Coulter A.R. Adjuvants □ a classification and review of their modes of action // *Vaccine*. –1997. –Vol.15. –№3.–P. 248-256.

3. Petrovsky N. Vaccine adjuvants: current state and future trends // *Immunology and Cell Biology*. –2004. –Vol.82. –№5. –P. 488–496.

4. Rajput Z.I. Adjuvant effects of saponins on animal immune responses // *Zhejiang UnivSci B*. –2007. –Vol.8. –№3. –P. 153-161.

5. Shakya A.K. Polymers as immunological adjuvants: An update on recent developments // *J. BioSci. Biotech*. –2012. –Vol.1–№3. –P. 199-210

6. Singh M. Invited review recent advances in veterinary vaccine adjuvants // *Int J Parasitol*. – 2003. –Vol.33. –№ 5-6. –P. 469–478.



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612:577.4 ББК 28.673 Э40

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ КОМПЕНСАЦИИ КИСЛОРОДНОЙ ЗАДОЛЖЕННОСТИ ПРИ ВОССТАНОВЛЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ В ХОДЕ ИНТЕНСИВНЫХ ТРЕНИРОВОК

Алистратова Ф.И. - аспирант кафедры биохимии и физиологии,
Скопичев В.Г. - д. б. н., профессор кафедры биохимии и физиологии
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В статье было показано, что гипоксическая гипоксия производит в организме комплексную реорганизацию функционирования всевозможных систем органов, которая сосредоточена на предупреждении кислородного голодания тканей. Механизмы адаптации к гипоксической гипоксии оказывают значительное влияние на центральную нервную систему, центральную гемодинамику, микроциркуляцию крови в различных органах, метаболизм кислорода, свободно радикальное окисление липидов, основные ферменты детоксикационных систем иммунитета. Для кислородной недостаточности характерно накопление токсических метаболитов – лактата и молекул средней массы [8]. Рассмотрены немедикаментозные методы повышения защитных свойств организма. Прилокальной абдоминальной декомпрессией показано состояние микроциркуляции во время тренировки. Кислород, в зоне отрицательного давления, более интенсивно диффундирует с тканями [11]. Получены зависимости для коррекции адаптационных механизмов и повышение защитных ресурсов организма.

Осуществление сеансов ЛОД ведет к достоверному понижению гормона стресса - кортизола в крови крыс после истощающей плавательной нагрузки. Содержание деформированных эритроцитов уменьшается при использовании сеанса ЛОД в восстановительном периоде после истощающей плавательной нагрузки. Во 2-ом опыте участвовал пациент К., 23 года (в связи с интенсивными тренировками приступил к проведению процедур ЛОД). Пациента помещали нижней частью тела в гермокамеру так, чтобы нижние конечности были помещены в герметизирующем рукаве. Проведено 10 сеансов ЛОД в импульсном режиме вакуума 3,0 кПа через день по 9 циклов, время воздействия - 2 мин и время паузы - 1 мин в течение 27 мин с созданием компенсирующего положительного давления 3,0 кПа на нижние конечности с воздействием импульсов отрицательного давления на нижнюю часть тела. До начала сеансов ЛОД и после был проведен забор крови из локтевой вены для определения уровня гормонов тестостерона и кортизола и альбумины плазмы крови. В результате проведенных процедур ЛОД уровень альбуминов плазмы крови повысился на 5,6%, уровень тестостерона вырос на 43,4%, уровень кортизола снизился на 19%. По окончании проведенных процедур ЛОД получен анабо-

лический эффект и снижение стрессового воздействия на организм. В результате проведения курса процедур у спортсменов отмечено снижение содержания токсических метаболитов молекул средней массы (МСрМС).

Ключевые слова: гипоксия, ЛОД, истощающая плавательная нагрузка, кортизол, тестостерон.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ механизмов, обеспечивающих высокую приспособленность к гипоксии, имеет огромное практическое значение. В нашей стране, в последние годы были созданы очень эффективные и новые методики лечения больных с разными заболеваниями при помощи тренировки их в гермокамере при разреженной атмосфере [1,3]. Можно говорить о том, что в физиологии медицины появилась принципиально новая и весьма перспективная ветвь профилактики и лечения большого круга нарушений и повышения общего адаптационного потенциала живого организма.

Цель работы – проанализировать физиологические механизмы воздействия адаптации гипоксии на всевозможные системы органов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть состоит из двух опытов. Первая часть выполнена на 5 группах особей крыс. Вторая на пациенте К., 23г. Состояние кислородной недостаточности создавали в условиях перетренировки (плавание крыс с грузом и интенсивные тренировки у спортсмена высокой квалификации). С целью удаления

токсических метаболитов использовался метод локальной абдоминальной декомпрессии (ЛОД) нижней части тела. Для ускорения выведения токсических метаболитов, использовался энтеросорбент, «Фильтрум». Также использовался препарат «Гемобаланс» в дозе 0,1 мл для восполнения потерь необходимых питательных веществ. Аппаратное обеспечение было исполнено гермокамерой разработанной ООО «ФИРМА АКЦ» - по патенту №2413491.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Нами было проведено два опыта. Для первого эксперимента было сформировано пять групп самцов крыс (возраст 3-4 мес., масса 200-300 г). Над особями 1ой группы не проводились никакие воздействия (физиологический контроль - далее физ. контроль); у крыс 2-ой группы проводили истощающую нагрузку плаванием; крыс 3-ей группы подвергали умеренной плавательной нагрузке; крысам 4-ой группы давали истощающую плавательную нагрузку, затем их подвергали сеансу ЛОД; у особей 5-ой группы проводили истощающую плавательную нагрузку, после чего им вводили внутримышечно

Таблица 1

Содержание кортизола и тестостерона в крови крыс при истощающей плавательной нагрузке

Группа крыс, n=5	Живая масса, г M±m	Кортизол, нмоль/л, M±m	Тестостерон, нмоль/л, M±m
Физиологический контроль	223,2±14,7	7,0±0,8	0,6±0,1
Истощающая плавательная нагрузка	319,2±18,2	25,3±3,9	1,5±0,2
Истощающая плавательная нагрузка + ЛОД	329,8±18,6	8,9±1,6*	1,7±0,5
Истощающая плавательная нагрузка + гемобаланс	358,8±11,7	8,8±1,0*	1,4±0,3

*-p<0,02 по сравнению с группой крыс, получивших истощающую плавательную нагрузку

Таблица 2
Содержание эритроцитов в крови крыс при истощающей плавательной нагрузке

Группы крыс	Живая масса, г M±m	Количество нормальных эритроцитов, %, M±m	Количество деформированных эритроцитов, %, M±m
Контроль, n=15	216,1±19,8	94,7±1,2	5,3±1,2
Истощающая плавательная нагрузка, n=14	313,7± 21,5	94,4±2,5	5,6±2,5
Истощающая плавательная нагрузка + ЛОД, n=6	325,2±19,9	96,7±0,5*	3,3±0,5*
Истощающая плавательная нагрузка + гемобаланс, n=7	354,9±13,6	93,0±1,3	7,0±1,3

*-p<0,05 по сравнению с группой крыс, получивших истощающую плавательную нагрузку

Таблица 3
Изменение лейкограммы у крыс с истощающей плавательной нагрузкой

Группа крыс	Живая масса, г	Лейкограмма							
		Б	Э	Л	М	Нейтрофилы			
						М	Ю	П/Я	С/Я
Контроль n=15	216, 1±19,8 179-244	0	3,2±0,8	76,3±12,3	0	0	0	0	24,0±6,7
Истощающая плавательная нагрузка n=14	313,7±21,5 279-350	0	7,4±1,5	76,9±18,8	0	0	0	0	16,6±2,9
Истощающая плавательная нагрузка + ЛОД n=6	325,2±19,9 302-362	0	0**	79,8±10,2	0	0	0	0	22,3±3,4
Истощающая плавательная нагрузка + гемобаланс n=7	354,9±13,6 332-379	0	3,0±0,9***	83,7±4,7	0	0	0	0	15,0±4,1

*-p<0,5 по сравнению с группой крыс, получивших истощающую плавательную нагрузку

**-p<0,01 по сравнению с группой крыс, получивших истощающую плавательную нагрузку

***-p<0,05 по сравнению с группой крыс, получивших истощающую плавательную нагрузку

Таблица 4

Сравнительный анализ кортизола и тестостерона в крови крыс при истощающей плавательной нагрузке и при умеренной плавательной нагрузке

Группа крыс, n=5	Живая масса, г M±m	Кортизол, нмоль/л M±m	Тестостерон, нмоль/л M±m
Контроль	223,2±14,7	7,0±0,8	0,56±0,07
Умеренная плавательная нагрузка	293,4±16,0	52,37±12,4	0,58±0,065
Истощающая плавательная нагрузка + ЛОД	329,8±18,6	8,9±12,4	1,73±0,46**
Истощающая плавательная нагрузка + гемобаланс	358,8±11,7	8,8±1,0*	1,36±0,3**

*-p<0,05 по отношению к группе крыс, получивших умеренную плавательную нагрузку

**-p<0,05 по отношению к группе крыс, получивших истощающую плавательную нагрузку

Таблица 5

Изменение содержания эритроцитов в крови крыс при истощающей плавательной нагрузке и при умеренной плавательной нагрузке

Группы крыс	Живая масса, г M±m	Количество нормальных эритроцитов, % M±m	Количество деформированных эритроцитов, % M±m
Контроль n=15	216,1 ±19,8	94,7± 1,2	5,3 ± 1,2
Истощающая плавательная нагрузка, n=16	299,3±16,2	92,4±2,1	7,6±2,1
Истощающая плавательная нагрузка + ЛОД, n=6	325,2±19,9	96,7±0,5*	3,3±0,5*
Истощающая плавательная нагрузка + гемобаланс, n=7	354,9±13,6	93,0±1,3	7,0±1,3

*-p<0,1 по отношению к группе крыс, получивших умеренную плавательную нагрузку

Таблица 6

Изменение лейкограммы крыс при истощающей плавательной нагрузке и умеренной плавательной нагрузке

Спортсмен	До стресс-теста на велоэргометре	После стресс-теста на велоэргометре	После 1 сеанса ЛОД	После 10 сеанса ЛОД	После стресс-теста на велоэргометре
О-ов	10,4	13,8	13,6	14,6	15,1
Б-в	10,4	13,8	18,2	18,9	18,8
К-в	12,4	14,2	16,3	17,3	17,9
Т-ов	14,6	12,6	16,9	17,5	18,0
С-ин	16,6	14,9	16,4	17,3	17,8
Я-ов	14,6	14,2	12,4	15,0	15,6
К-ин	14,8	12,1	14,0	15,5	16,1
Г-ов	17,5	12,8	14,3	15,8	16,4

Таблица 7

Изменение содержания кортизола, тестостерона и альбумина в крови спортсменов до и после сеансов ЛОД

Спортсмен	До стресс-теста на велоэргометре	После стресс-теста на велоэргометре	После 1 сеанса ЛОД	После 10 сеанса ЛОД	После стресс-теста на велоэргометре
О-ов	14,5	14,8	16,1	13	13,1
Б-ов	20,9	23,5	23,5	18,7	18,8
М-ов	22,1	20,1	20,1	----	----
Бу-ов	16,7	17,5	19,7	13,6	15,3
Е-ов	14,6	18,1	20,1	13,3	13,4
Г-ов	16,3	15,4	15,4	12,7	18,5
Л-с	19,6	20,6	20,6	16,6	16,3
Ч-в	16,4	18,8	17,1	15,9	14,5

препарат «Гемобаланс» в дозе 0,1 мл ежедневно в течение 14 дней. В завершении опыта проводили взятие крови и замер уровня гормонов стресса, а именно кортизола и тестостерона, выводили лейкоцитарную формулу крови, выделяли число деформированных эритроцитов в крови (табл. 1).

Из таблицы 1, очевидно, что при истощающей плавательной нагрузке уровень кортизола у крыс выше, чем в группе физ. контроля. А в группе, где крысам после тренировки проводили сеанс ЛОД, и в группе, где крысам вводили «Гемобаланс», содержание кортизола ниже, нежели в группе с истощающей плавательной нагрузкой. У крыс при истощающей плавательной нагрузке уровень тестостерона выше, чем в группе физиологического контроля.

Таблица 2, показывает, что число эритроцитов у особей, подвергнутых истощающей плавательной нагрузке, а затем сеансу ЛОД, достоверно ниже, нежели у группы крыс с истощающей плавательной нагрузкой.

Таблица 3 отражает, что содержание эозинофилов доподлинно было ниже в группе крыс, получивших сеанс ЛОД, и в группе, где особям вводили

«Гемобаланс» после тренировки. Содержание нейтрофилов и лимфоцитов не имело достоверных отличий у крыс разных групп при истощающей плавательной нагрузке.

Таблица 4 показывает, что группа крыс, подвергнутых истощающей плавательной нагрузке, а затем сеансу ЛОД и которой после нагрузки вводили «Гемобаланс», число кортизола ниже, нежели в группе крыс, получивших умеренную плавательную нагрузку. Количество тестостерона достоверно ниже в группе крыс, подвергнутых умеренной плавательной нагрузке.

Результаты, представленные в таблице 5, отражают содержание эритроцитов в крови крыс, подвергнутых истощающей плавательной нагрузке, а после сеансу ЛОД, достоверно ниже, нежели в группе крыс, подвергнутых умеренной плавательной нагрузке. По данным исследования содержание эозинофилов достоверно ниже в крови крыс, подвергнутых истощающей плавательной нагрузке, а затем сеансу ЛОД, а также в крови крыс, которым вводили «Гемобаланс» после истощающей тренировки, по отношению к группе крыс, получивших умеренную плавательную нагрузку [7]. Таким обра-

зом, показана эффективность действия ЛОД у крыс при истощающих физических нагрузках. Осуществление сеансов ЛОД ведет к достоверному понижению гормона стресса - кортизола в крови крыс после истощающей плавательной нагрузки [10]. Содержание деформированных эритроцитов уменьшается при использовании сеанса ЛОД в восстановительном периоде после истощающей плавательной нагрузки [2,4]. Во 2-ом опыте участвовал пациент К., 23 года (в связи с интенсивными тренировками приступил к проведению процедур ЛОД). Пациента помещали нижней частью тела в гермокамеру так, чтобы нижние конечности были помещены в герметизирующем рукаве. Проведено 10 сеансов ЛОД в импульсном режиме вакуума 3,0 кПа через день по 9 циклов, время воздействия -2 мин и время паузы -1 мин в течение 27 мин с созданием компенсирующего положительного давления 3,0 кПа на нижние конечности с воздействием импульсов отрицательного давления на нижнюю часть тела. До начала сеансов ЛОД и после был проведен забор крови из локтевой вены для определения уровня гормонов тестостерона и кортизола и альбумины плазмы крови. В результате проведенных процедур ЛОД уровень альбуминов плазмы крови повысился на 5,6%, уровень тестостерона вырос на 43,4%, уровень кортизола снизился на 19%. По окончании проведенных процедур ЛОД получен анаболический эффект и снижение стрессового воздействия на организм [5]. В результате проведения курса процедур у спортсменов отмечено снижение содержания токсических метаболитов молекул средней массы (МСрМС).

Испытания с результатами, приведенными в таблица 6, ЛОД проводилась при отрицательном давлении 3-4,5кПа, время воздействия 2 мин, пауза - 1 мин, без компенсирующего воздействия положительным давлением на нижние конечности,

длительность сеанса - 30 мин.

Результаты испытаний (табл.7), ЛОД проводились при отрицательном давлении 3-4,5кПа, время воздействия 2 мин, пауза - 1 мин, компенсирующее воздействие положительным давлением на нижние конечности-3-4,5 кПа, длительность сеанса-30 мин. В связи с различием анатомических показателей крысы и человека достигнуть максимального положительного эффекта при проведении ЛОД у спортсменов не удается (табл.6), необходимо дополнительное положительное давление на нижние конечности 3-4,5 кПа. Данными показателями ЛОД (табл. 7) было достигнуто повышение работоспособности и улучшены результаты тренировок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На всех уровнях регуляции обнаруживаются универсальные отправные механизмы адаптивных процессов [6]. В заключении, хочется отметить, что если разумно регулировать механизмы адаптации гипоксии в соответствии с индивидуальными особенностями субъекта, можно получить поражающие результаты [9]. Правильный выбор уровня гипоксии в зависимости от реактивности индивида, его резервных возможностей должен помочь избежать негативных последствий и увеличить благоприятные эффекты. Мы видим большие перспективы использования гипоксии в медицине, авиации и других областях.

Physiological mechanisms of compensation of oxygen deficiency during recovery of functional status in intense training.

F. Alistratova, V. Skopichev.

ABSTRACT

In the article it was shown that hypoxic hypoxia produces a complex reorganization of the functioning of various organ systems in the body, it is focused on the prevention of oxygen starvation of tissues. The mechanisms of adaptation to hypoxic hypoxia have a significant impact on the central nervous

system, central hemodynamics, microcirculation of blood in various organs, oxygen metabolism, free radical oxidation of lipids, the major enzymes detoxifying systems of immunity. Oxygen deficiency is characterized by the accumulation of toxic metabolites - lactate and the molecules of average weight [8]. Non-pharmacological methods of improving the protective properties of the organism have been studied. Local abdominal decompression was used shadow the status of the microcirculation during exercise. Oxygen, in the zone of negative pressure, diffuses from the tissues more intensively [11]. The dependences for the correction of the adaptation mechanisms and improvement of the protective resources of the organism were obtained.

The sessions of LOD lead to a significant lowering of stress hormone - cortisol in the blood of rats after exhausting swimming loading. The content of deformed red blood cells is reduced when using session LOD in the recovery period after exhausting swimming loading. In during the 2nd experience a patient K., 23 years old participated (We started the session of LOD in due intensive trains). The patient was placed with his lower part of the body in thermocamera so that the lower limbs were placed in the sealing sleeve. Every other day 10 sessions of LOD in the pulse mode of 3.0 kPa vacuum were conducted 9 cycles, exposure time -2 min and the pause time - 1 min for 27 min all together. Compensating positive pressure of 3.0 kPa at the lower limb with exposure of pulses of negative pressure on the lower body was created. Before the beginning of the session and after it blood sampling from the cubital vein to determine the level of hormones testosterone and cortisol and albumin of blood plasma. As a result of the treatments with LOD, level of albumin in blood plasma increased by 5.6%, the level of testosterone increased by 43.4%, cortisol levels decreased by 19%. At the end of the procedure the LOD anabolic effects and re-

duction of stress effects on the body were obtained. As a result of the course of treatment decrease of the content of toxic metabolites of average weight molecules in the blood of the athletes was observed.

Key words: hypoxia, LOD, exhausting swimming load, cortisol, testosterone.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горанчук В.В., Сапова Н.О. Гипокситерапия. -СПб. -2003. -53бс.
2. Манухина Е. Б. Изменение плотности сосудистой сети поверхности коры головного мозга у крыс при экспериментальной гипертензии и адаптации к высоте // Кардиология. -1982. -№10. -С. 118-119.
3. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. -М. -1981. -278с.
4. Мелихова М.А. Динамика биохимических процессов в организме человека при мышечной деятельности. -М. -1992. -36с.
5. Михайлов С.С. Биохимические основы спортивной работоспособности. -СПб. -2004. -108с.
6. Мохан Р., Глессон М. Биохимия мышечной деятельности и физической тренировки. -Киев. -2001. -295с.
7. Патент №2552909 Способ нормализации физиологического состояния организма при физических нагрузках В.Г. Скопичев, Я.Н. Коткин, Д.А. Слепова, Е.В. Ломазова
8. Скопичев В.Г., Боголюбова И.О., Жичкина Л.В., Максимюк Н.Н. Экологическая физиология. -СПб. -2014. -480с.
9. Шевченко Ю. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника. -СПб. -2000. -384с.
10. LaManna J.C. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats // J. Appl. Physiol. -1992. -Vol.72. -P. 2238-2243
11. Heyns O.S. Abdominal decompression in the first stage of labour // J. Obstetr. Gynecol. -1959. -Vol.66. -P.220

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ВАКУУМ-ГРАДИЕНТНОЙ ТЕРАПИИ В ОРТОПЕДИИ И НЕВРОЛОГИИ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Семёнова А.Е. – аспирант кафедры биологической химии и физиологии Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В статье приведены клинические примеры животных с различными ортопедическими и неврологическими болезнями, на которых был впервые применён метод вакуум-градиентной терапии. Вакуум-градиентная терапия была успешно применена против таких заболеваний, как деформирующий артроз коленного сустава, анкилоз локтевого сустава, перелом диафиза бедренной кости, тромбоэмболия аорты и травма спинного мозга вследствие перелома позвоночника. В качестве методов исследования были применены: наблюдение, рентгенография, фотосъёмка и измерение местной температуры в случае с кошкой, имеющей тромбоэмболию брюшной аорты. Показана эффективность предложенного метода лечения, а именно – выздоровление собаки с деформирующим артрозом коленного сустава и собаки с диафизарным переломом бедренной кости, значительное улучшение у собаки с анкилозом локтевого сустава и у котёнка с переломом позвоночника, появление двигательной активности тазовых конечностей у кошки с тромбоэмболией брюшной аорты. Вакуум-градиентная терапия зарекомендовала себя эффективным методом лечения в ортопедии и неврологии мелких домашних животных.

Ключевые слова: Вакуум-градиентная терапия, ортопедия, неврология, абдоминальная локальная декомпрессия, болезни мелких домашних животных, физиотерапия.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания конечностей имеют широкое распространение как в медицинской, так и в ветеринарной практике. Среди ортопедических болезней мелких домашних животных часто встречаются такие болезни, как артрозы, артриты, анкилозы, вывихи суставов, контрактуры, растяжения и разрывы связок, сухожилий и мышц, переломы костей. Также довольно часто встречаются и болезни нервной системы. При заболеваниях опорно-двигательного аппарата физиотерапевтические методы лечения часто дополняют другие виды терапии, а в ряде случаев физиотерапия служит ведущим методом лечения, является альтернативой медика-

ментозной терапии [3].

Преимущества физиотерапевтических методов лечения для животных заключаются в следующем: улучшение восстановления после травмы или операции, возвращение к типичным выступлениям или работе, усиление естественных процессов заживления, уменьшение болей, увеличение скорости и качества передвижения, улучшение силы и выносливости, сведение к минимуму побочных эффектов травмы или операции, улучшение биомеханики и позы, повышение гибкости, профилактика будущих травм по вине владельца/дрессировщика, положительные психологические эффекты для питомца и владельца [4].

Вакуум-градиентная терапия (ВГТ) представляет собой метод физиотерапии, суть которого заключается в создании отрицательного давления вокруг конечности или каудальной половины тела, благодаря которому усиливается кровоток, улучшается микроциркуляция, снимаются спазмы с сосудов и, следовательно, увеличивается поступление питательных веществ и кислорода к тканям. Также происходит и детоксикация организма за счет растяжения пор капилляров и увеличения фильтрации крови.

На кровоток и его скорость, особенно в венах конечностей, значительное влияние оказывает локальный кровоток, который в свою очередь в большой степени определяется периферическим сопротивлением или тем, находятся ли сосуды в состоянии вазоконстрикции или вазодилатации [5]. ВГТ оказывает огромное влияние на работу сосудистых рефлексов, вызывая вазодилатацию сосудов и увеличение скорости кровотока. Непосредственное следствие локальной декомпрессии – местное растяжение сосудов, в том числе резистивных. Если речь идёт о скелетной мышце, то покуда растягивающее действие трансмурального давления не достигнет порога чувствительности ауторегуляторных механизмов, кровоток в зоне локального отрицательного давления возрастает при условии, что зона недостаточно обширна, чтобы вызвать рефлекторную вазоконстрикцию [1].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Собака в возрасте 2-х лет, ростом 58 см в холке с деформирующим артрозом коленного сустава правой тазовой конечности. Наблюдалась хромота второй степени, а при пальпации в области коленного сустава – выраженная крепитация и незначительное повышение местной температуры. Ранее (за три месяца до начала лечения ВГТ) у собаки бы перелом бедренной кости, на которую была установлена пластина.

Собака в возрасте 6-ти лет, ростом 63 см в холке с анкилозом локтевого сустава правой грудной конечности. В возрасте 1 года у животного был перелом плечевой кости, установленная пластина причиняла сильную боль, вследствие которой собака не могла пользоваться конечностью.

Собака в возрасте 10 месяцев, рост – 62 см в холке с диафизарным переломом бедренной кости. Спустя неделю после травматизации был проведён интрамедуллярный остеосинтез, после которого была назначена антибиотикотерапия и обезболивание.

Кошка в возрасте 21 года с тромбоэмболией брюшной аорты. У животного наблюдались паралич, боль в мышцах, сильное снижение местной температуры и отсутствие пульса при пальпации артерий тазовых конечностей.

Котёнок в возрасте 4-х месяцев с переломом позвоночника со смещением 3-х грудных позвонков, а именно: 11, 12 и 13-ый. Травматизация животного произошла в возрасте 3-х месяцев. По данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) на протяжении всех 3-х позвонков была видна сильная компрессия спинного мозга (Рис. 1). У котёнка наблюдалась 5-ая степень неврологических нарушений, паралич тазовых конечностей, гипертонус мышц разгибателей, дистрофии мышц сгибателей, отсутствие болевой чувствительности каудальной половины тела, ишурия. При пальпации области перелома ощущалась крепитация, также в области травмы животное испытывало боль. После проведённой реабилитации в течение месяца, у животного развилась ходьба посредством спинальных рефлексов.

Лечение животных проводилось с помощью следующих гермокамер:

гермокамера для кошек, мелких и средних собак длиной 30 см и диаметром 16 см;

гермокамера для крупных собак длиной 60 см и диаметром 24 см.

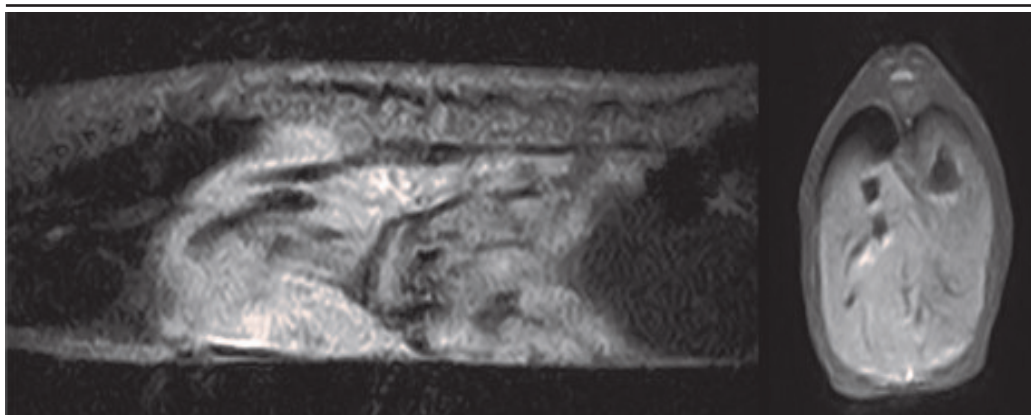


Рис. 1. Изображения, полученные на магнитно-резонансном томографе. Слева – продольное сечение, справа – поперечное.

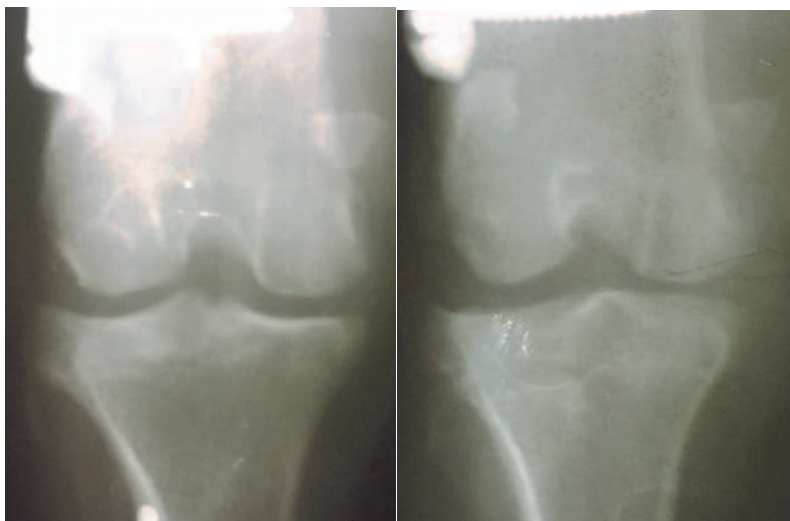


Рис. 2. Рентгеновские снимки коленного сустава в прямой проекции собаки с деформирующим артрозом этого сустава.

Слева показан снимок до лечения, а справа – после лечения методом ВГТ.

Данные гермокамеры предназначены для локальной декомпрессии конечностей и для абдоминальной локальной декомпрессии (декомпрессии каудальной половины тела) животных соответствующего размера.

Процедуры проводились через день с величиной отрицательного давления в 3 кПа в виде двух циклов по 5 минут, между которыми была пауза в 30 секунд.

В процессе лечения, помимо наблюдения, проводился контроль с помощью рентгеновских снимков и фотосъёмки. У кошки, имеющей тромбоз брюш-

ной аорты, также производилось измерение местной температуры.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В процессе лечения животных методом ВГТ были получены следующие результаты. Собаке с деформирующим артрозом коленного сустава было проведено 10 процедур ВГТ после чего животное перестало хромать, а на рентгеновском снимке, сделанном после лечения, видно, что повреждения мышечков бедренной кости отсутствуют (рис. 2).

Собаке с анкилозом локтевого сустава после снятия пластины было проведено



Рис. 3. Разгибание конечности с анкилозом локтевого сустава. Слева – до лечения,

Рис. 4. Сгибание конечности с анкилозом локтевого сустава. Слева – до лечения, справа – после лечения.

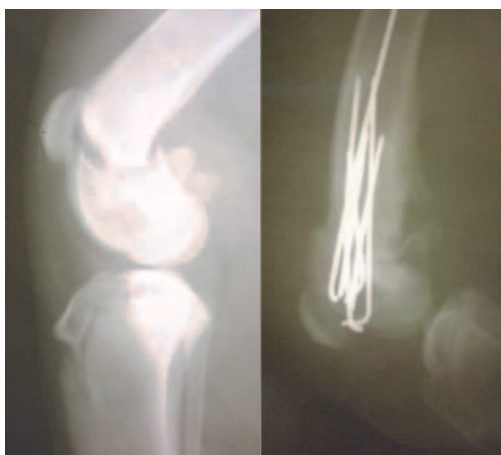


Рис. 5. Рентгеновские снимки собаки с диафизарным переломом бедренной кости. На снимке слева показан перелом до лечения, на снимке справа – после лечения.

15 процедур ВГТ. Также после каждой процедуры проводилась мануальная терапия. В результате проведённого лечения, животное стало активно пользоваться поражённой конечностью. Локтевой сустав стал намного лучше сгибаться и разгибаться, чем до лечения (Рис. 3, 4).

Собаке с переломом бедренной кости было проведено 10 процедур ВГТ, начиная с 4-го дня после проведения остеосинтеза. После первой процедуры наблюдалось исчезновение отёка: обхват конечности в дистальной части голени до про-

цедуры составлял 13 см, а на следующие сутки – 12 см, что соответствовало размеру здоровой конечности. Также на следующие сутки после проведения процедуры животное начало приступать на больную конечность. Спустя 5 дней после окончания лечения собака перестала хромать, и была клинически здорова, то есть клиническое выздоровление наступило на 28-ой день после проведения операции. Можно предположить, что сроки клинического выздоровления данного животного на неделю опережают сроки клинического выздоровления собак с проведённым им интрамедуллярным остеосинтезом при переломах трубчатых костей [2].

Кошке с тромбозом брюшной аорты был введён внутривенно раствор гепарина в дозе 100 Ед/кг, после чего сразу был проведён сеанс абдоминальной локальной декомпрессии. Во время процедуры проводилась также ингаляция кислородом. До и после процедуры была измерена местная температура в области подушечек тазовых конечностей посредством инфракрасного термометра. Было установлено, что местная температура обеих тазовых конечностей после проведения процедуры ВГТ повысилась на 2°C, а также после процедуры в парализованных конечностях появились слабые движения. Наутро следующего дня, движе-

ния тазовых конечностей улучшились настолько, что животное могло опираться на дорсальную поверхность пальцев. К сожалению, во второй половине того же дня кошка погибла.

Котёнку в возрасте 4-ёх месяцев, у которого был перелом позвоночника, было проведено 10 процедур абдоминальной декомпрессии. Лечение проводилось только спустя месяц после получения травмы, так как перелом был нестабильный. ВГТ способствовала появлению чувствительности в каудальной половине тела и улучшению качества движений при передвижении животного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исходя из вышеприведённых клинических случаев видно, что ВГТ хорошо себя зарекомендовала в ортопедии и неврологии мелких домашних животных и является эффективным методом физиотерапии, который не имеет других аналогов.

Experience of using vacuum-gradient therapy in orthopedics and neurology in small animals.

A. Semionova.

ABSTRACT

In the article there are brought some examples of animals with variable orthopedical and neurological diseases, in which the method of vacuum-gradient therapy was first applied. Vacuum-gradient therapy was successfully applied against diseases such as deforming arthrosis of the knee joint, ankylosis of the elbow joint, diaphyseal fracture of the femur, thromboembolism of the aorta and trauma of the spinal cord due to spinal fracture. As the research and control methods observing, roentgenography, photography were used, and also - local thermography in a cat with thromboembolism of the aorta. The effectiveness of the suggested method is shown: comeback and recovery of the dog with deforming arthrosis of the knee joint and of the dog with diaphyseal fracture of the femur, substantial improvement of

health in a dog with ankylosis of the elbow joint and in a kitten with spinal fracture, uprising of movement activity of hind limbs in the cat with thromboembolism of the aorta/ Vacuum-gradient therapy proved to be effective method of treatment in orthopedics and neurology in small domestic animals.

Key words: Vacuum-gradient therapy, orthopedics, neurology, abdominal local decompression, diseases of small domestic animals, physiotherapy.

ЛИТЕРАТУРА

1. Длигач Д.Л., Иоффе Л.А. Локальная декомпрессия и работоспособность. – Л. - 1982. –88с.
2. Концевая С.Ю. Анализ репаративного остеогенеза отдельных видов костей опорно-двигательного аппарата у собак в различных условиях фиксации: Автореф. дис. ...докт. вет. наук: 16.00.05. – М. - 2004. –29с.
3. Семёнова А.Е., Марьяновская Ю.В. Разработка методов вакуум-градиентной терапии при заболеваниях конечностей // Вестник новгородского государственного университета. -2015. -№86. -Ч.1. –С. 72 – 75.
4. Josesh Harari Small animal surgery secrets. -Philadelphia. -2004. -432p.
5. William J., Zwiebel M.D., John S., Pellerito M.D. Introduction to vascular ultrasonography. -Philadelphia. -2005. –752p.

МАТЕРИАЛЫ ПО ВОЗРАСТНОЙ МОРФОЛОГИИ ГИПОФИЗА И СЕМЕННИКА ПАРНОКОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ НА ПРИМЕРЕ ОВЦЫ ДАГЕСТАНСКОЙ ГОРНОЙ ПОРОДЫ

Атагимов М.З. - д.в.н., профессор кафедры анатомии, гистологии и физиологии

Хасаев А.Н. - к.в.н., зав. кафедрой анатомии, гистологии и физиологии

Дагестанский государственный аграрный университет имени М.М. Джембулатова



РЕФЕРАТ

В данной статье приведены результаты исследований передней доли гипофиза и семенника парнокопытных животных на примере овцы дагестанской горной породы в различные периоды постнатального онтогенеза. Нейроэндокринная система регулирует и координирует деятельность всех органов и систем, обеспечивая адаптацию организма к постоянно меняющимся факторам внешней и внутренней среды, сохраняя гомеостаз необходимым для поддержания нормальной жизнедеятельности организма. Среди множества вопросов связанных с эндокринной регуляцией организма, наиболее интересными являются воспроизводство животных. С нашей точки зрения дистальная часть аденогипофиза является весьма интересной для изучения, так как именно здесь сосредоточены железистые клетки, вырабатывающие такие важные гормоны как СТГ, пролактин, ТТГ, АКТГ, ФСГ и ЛГ.

Передняя доля гипофиза активирует своими гормонами функции периферических эндокринных желез и по принципу обратной связи испытывает на себе влияние со стороны последних. Поэтому изучение передней доли гипофиза и интерстициальной ткани семенника является на наш взгляд наиболее интересной.

В результате гистологических, гистохимических и морфометрических исследований мы пришли к выводу, что в новорожденный период гонадотропные аденоциты гипофиза и интерстициальные эндокриноциты семенника активно функционируют. Высокая функциональная активность гонадотропоцитов и интерстициальных эндокриноцитов семенника наблюдается с 6 месяцев до 3 – 4 лет включительно. У старых животных по гистохимическим и морфометрическим параметрам гонадотропная функция гипофиза резко снижена, что видимо, приводит к уменьшению гормональной активности интерстициальных эндокриноцитов в семеннике.

Ключевые слова: эндокринная система, гипофиз, аденогипофиз, семенник, гонадотропные клетки, клетки Лейдига, овцы.

ВВЕДЕНИЕ

Гипофиз, являясь главной железой внутренней секреции, находится под непосредственным контролем гипоталамуса, будучи тесно связан с ним анатомически и функционально. Контролирование гипофизарных функций гипоталамусом обеспечивается взаимодействием гумо-

ральных и нервных факторов [2,3]

С нашей точки зрения дистальная часть аденогипофиза является весьма интересной для изучения, так как именно здесь сосредоточены железистые клетки, вырабатывающие такие важные гормоны как СТГ, пролактин, ТТГ, АКТГ, ФСГ и ЛГ.

Передняя доля гипофиза активирует своими гормонами функции периферических эндокринных желез и по принципу обратной связи испытывает на себе влияние со стороны последних. Поэтому изучение передней доли гипофиза и интерстициальной ткани семенника является на наш взгляд наиболее интересной.

Цели и задачи. Целью данной работы является изучение гистологического строения гипофиза и семенника овец дагестанской горной породы в постнатальном онтогенезе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на клинически здоровых животных. Материал для исследования отбирался сразу после убоя в хозяйствах агрофирмы «Чох» Гунибского района РД. После препарирования и извлечения железы взвешивали и измеряли объем. Возраст овец определялся по зубам [4].

Для гистологического исследования материал фиксировали в жидкости Буэна и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5-6мк. Для окрашивания использовалась общепринятая методика гематоксилин и эозин, азановый метод по Гейденгайну, альдегид фуксин по Дыбану Шикреакция по Мак-Манусу для определения гликогена, для выявления жиров использовали Судан черный. Морфометрию проводили с помощью окуляр-микрометра МОВ-1, при увеличении 40×15. Для статистического анализа полученных данных пользовались правилами, изложенными в руководстве по морфометрии [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В новорожденный период развития гипофиз является вполне сформированным органом, который лежит в ямке турецкого седла клиновидной кости и покрыт диафрагмой. Диафрагма представляет собой часть твердой мозговой оболочки с небольшим отверстием, через которое про-

ходит воронка и соединяет серый бугор с гипофизом. Последний, имеет шаровидную, или округло-овальную форму и окружен капсулой из плотной волокнистой соединительной ткани. Гипофиз подразделяется на железистый, или аденогипофиз, и нервно-секреторный, или нейрогипофиз. В свою очередь, аденогипофиз делится на дистальную, промежуточную и бугорную части. Дистальная часть гипофиза образована эпителиальными тяжами, состоящими из главных, или хромофобных и хромофильных клеток, к которым относятся ацидофильные и базофильные аденоциты гипофиза. Главные клетки составляют большую часть паренхимы передней доли (табл. 1). Это клетки, не имеют четких клеточных границ, ядра мелкие с неодинаковым количеством хроматина. Диаметр ядер варьирует в широких пределах от 5,06 до 10,24 мкм., а в среднем составляют 8,26±0,16(табл. 1). Лежат хромофобы чаще плотными группами, на фоне которых выделяются четкие очертания хромофильных структур передней доли гипофиза.

Из хромофильных структур в наибольшем количестве встречаются ацидофильные клетки (табл. 1). Ацидофилы лежат небольшими группами, либо могут образовывать ленты, а так же встречаются одиночно. В основном имеют четкие контуры выраженную оксифильную цитоплазму с контурированным округлым ядром. Диаметр ядер в среднем составляет 9,7±0,13 мкм (табл. 1). В местах, где ацидофилы группируются, их всегда окружает нежная соединительная ткань богатая сосудистой сетью.

Ко второму типу хромофильных структур относятся базофилы. Они неравномерно распределены по всей поверхности передней доли, хотя на дорзальной части их несколько больше (табл. 1). Эти клетки имеют разнообразную форму и величину и четко отграничены от других клеточных структур гипофиза. Цитоплаз-

Таблица 1

Морфометрические показатели клеток передней доли гипофиза овцы

Возраст животного		Хромофобы	Ацидофилы	Базофилы	Гонадотропы
1-10дн.	Кол-во	53,7±1,8	17,5±1,3	10,8±0,8	5,6±0,6
	Диаметр ядер	8,3±0,2	9,7±0,1	10,5±0,1	11,0±0,1
3-4 мес.	Кол-во	60,4±1,0	18,2±1,5	4,9±0,4*	2,3±0,5**
	Диаметр ядер	8,1±0,2	10,5±0,2	10,1±0,2	10,6±0,2*
6-8 мес.	Кол-во	40,1±0,9**	26,7±0,8*	19,2±0,7**	8,7±1,2*
	Диаметр ядер	8,2±0,3	9,1±0,2***	10,9±0,2**	11,4±0,1*
1-15 мес.	Кол-во	53,6±1,3*	25,1±1,0	19,9±0,6	9,4±1,1
	Диаметр ядер	7,7±0,2	10,0±0,2***	11,0±0,2	11,1±0,2
Старые животные	Кол-во	36,9±0,9*	27,3±1,2	12,9±0,4***	4,5±0,7***
	Диаметр ядер	7,9±0,2	9,5±0,2*	10,3±0,3	10,5±0,3*

Примечание: разница с предыдущей группой статистически достоверна: * - при $P < 0,05$; ** - при $P < 0,01$; *** - при $P < 0,001$; n = 50

ма обширна, красится основными красителями и дает Шик-положительную реакцию. Ядра крупные по сравнению с другими представителями клеточной популяции (табл. 1), хроматин образует небольшие хлопья. Редко встречаются структуры с диффузной базофилией. Базофильные аденоциты лежат в тяжах одиночно или небольшими группами, тесно прилегая к гемокапиллярам. При длительной фиксации гипофиза в жидкости Буэна и окраске препаратов азаном по Гейденгайну на латеральных поверхностях железы четко выявляются дифференцирующиеся базофильные аденоциты. Цитоплазма таких клеток окрашивается в тон основного красителя, ядра крупные округлой формы, хроматин мелко гранулирован, видны несколько ядрышек. Среди базофильных аденоцитов морфологически можно различить тиреотропоциты и гонадотропоциты. Они отличаются между собой конфигурацией, размерами и рас-

положением в железе. Тиреотропоциты отличаются небольшими размерами часто клиновидной формы. Обычно встречаются группами, прилегая апикальными концами к стенке синусоидных капилляров, как бы образуя ряды. Цитоплазма мелко гранулирована, слабо альдегидфуксинофильна и дает слабую Шик-положительную реакцию. Ядра крупное, плотное располагается эксцентрично. В ядре преобладает эухроматин. Границы четко очерчены.

Гонадотропоциты выделяются среди остальных клеток передней доли гипофиза крупными размерами, многоугольной, овальной и полигональной формой. Цитоплазма обширна, дает слабо Шик - положительную реакцию. Границы выделяются отчетливо. Ядра крупные, округлой формы, часто прилегают к периферии клетки. Хроматин собран в небольшие гранулы, соединённые между собой тонкими хроматиновыми нитями. Ядрышки

Таблица 2

Морфометрические показатели клеток Лейдига

Возраст животного	Диаметр ядер в мкм.	Количество клеток Лейдига
1-10дн.	10,4±0,2	7,5±1,4
3-4 мес.	9,2±0,1***	2,8±0,8**
6-8 мес.	10,4±0,2	5,1±1,1
1-15 мес.	11,2±0,1***	4,8±1,1
Старые животные	9,6±0,2*	1,0±0,4**

Примечание: разница с предыдущей группой статистически достоверна: * - при $P < 0,05$; ** - при $P < 0,01$; *** - при $P < 0,001$.

четко выделяются. Количество их в данном возрасте на одном поле зрения составляет в среднем $5,6 \pm 0,6$ клеток (табл. 1).

В описываемый возрастной период в межканальцевой соединительной ткани семенника встречаются интерстициальные эндокриноциты. Эти клетки многоугольной, округлой, овальной, веретеновидной и реже отростчатой формы, крупных размеров, с четкими границами. Цитоплазма воспринимает кислые красители, отмечается накопление большого количества суданофильного материала. Ядра крупные, светлые, расположены эксцентрично, с одним или двумя ядрышками (табл. 2). Хроматиновый аппарат рыхлый, неравномерно рассеян по всему ядру, или в виде зёрен прилегает к периферии ядра. Количество интерстициальных клеток в этом возрасте в одном поле зрения равняется $7,5 \pm 1,4$ клеток (табл. 2).

В возрасте 3-4 мес. в гонадотропоцитах отмечается снижение количества клеток по сравнению с предыдущим периодом (табл. 1). Это клетки крупных размеров с ясно выраженными границами. Цитоплазма слабо Шик – положительна и при окраске альдегид-фуксин нежно приобретает зеленоватый фон. Ядро крупное округло-овальной формы, располагается как по центру, так и ближе к периферии. Отмечается уменьшение и диаметра ядер гонадотропоцитов (табл. 1). Гетерохрома-

тин плотный представлен в виде повторяющихся завитков. Отчетливо выделяются ядрышки.

В семеннике интерстициальные эндокриноциты отростчатой, реже веретеновидной формы с плотным темным ядром, располагающимся по центру клетки. Цитоплазма имеет четкие очертания и показывает слабую суданофилию. Гранулы аскорбиновой кислоты не обнаруживаются. Ядро округлое с четкими контурами. В связи с тем, что хроматин в виде глыбок и хлопьев заполняет всю поверхность ядра, оно кажется темным. Диаметр ядер в этом возрасте по сравнению с предыдущим периодом значительно уменьшился (табл. 2). Заметно уменьшилось число клеток (табл. 2). Лежат интерстициальные эндокриноциты небольшими группами по две три клетки вблизи крупных кровеносных синусоидов.

В половозрелом возрасте (6-8мес.) постнатального развития в гонадотропоцитах наблюдается повышение функциональной активности. те с кровеносными гемокapиллярами иеся по периферии эпителиального тяжа в непосредственном контакте с кровеносными ге. Это клетки крупных размеров с ясно выраженными границами. Цитоплазма обширна, имеет Шик – положительную грануляцию. Отмечается статистически достоверное увеличение диаметра ядер и резкое увеличение численности гонадотропов по сравне-

нию с предыдущим возрастом (табл. 1).

Интерстициальные эндокриноциты в семеннике образуют скопления из нескольких клеток. Цитоплазма обширна, границы четко очерчены, часто на поверхности наблюдается мелкая зернистость. Гранулы аскорбиновой кислоты накапливаются в виде мелких зерен. Отмечается суданофилия цитоплазмы. Ядро светлое, шаровидной формы, имеет четкие контуры, располагается эксцентрично. Эухроматин в виде мелких зёрен размещается ближе к периферии ядра. Отмечается одно – два крупных ядрышка. Диаметр ядер в среднем составляет $10,4 \pm 0,17$ мкм. Количество интерстициальных эндокриноцитов заметно увеличивается (табл. 2).

В дефинитивный период (10-15 мес.) гонадотропные клетки увеличиваются в количестве (табл. 1), и характеризуются большими размерами, многоугольной, или же неправильной формой. Цитоплазма обширная, хорошо выявляется Шик - положительная реакция. Ядра больших размеров, светлые, часто располагаются в центре клетки. Диаметр ядер составляет в среднем $11,1 \pm 0,2$ мкм (табл. 1). Хроматиновый аппарат ядра представлен мелкими зёрнами. Располагаются, гонадотропоциты часто группами, занимая заднелатеральные участки передней доли гипофиза, но могут встречаться и в центральных участках железы в виде групп из нескольких клеток.

Количество интерстициальных эндокриноцитов в этом возрасте на одном поле зрения составляет в среднем $4,77 \pm 1,11$ клеток (табл. 2). Цитоплазма обширна и обильно красится кислыми красителями. Ядро светлое, форма и величина эндокриноцитов в основном, зависит от места расположения самих клеток. Отмечается небольшое увеличение диаметра ядер (табл. 2). Хроматин в ядрах мелко гранулирован или собран в плотные образования. Ядрышки четко выделяются.

У старых животных в гонадотропоцитах часто обнаруживаются дистрофические изменения. Цитоплазма теряет Шик - положительную грануляцию. Ядра сморщенные располагаются по центру клетки. Отмечается уменьшение диаметра ядер (табл. 1). Хроматин представлен в виде глыбок, заполняющих центральные и периферические части ядра. Ядрышки почти не выделяются. Количество гонадотропоцитов тоже уменьшается (табл. 1). Нередко на участках железы, занятых гонадотропами, остаются клетки с разрушающейся структурой, на их месте разрастается соединительнотканная строма, которая в этом возрасте занимает определенные участки. Оставшиеся гонадотропы характеризуются большими размерами, эксцентрически расположенным ядром, при этом цитоплазма занимает основную часть клетки, характеризуется небольшой Шик - положительной мелкой грануляцией. Ядро светлое, округлой формы и крупное. Хроматиновый аппарат представлен в виде мелких зерен, занимающих периферическое положение. Ядрышки крупные, по несколько штук.

В семеннике интерстициальные эндокриноциты характеризуются меньшим полиморфизмом. Чаще встречаются клетки, цитоплазма которых плохо различима, в них наблюдается небольшая зернистость. Часто наблюдается клетки с пикнотическими ядрами. Диаметр ядер уменьшился, так же уменьшилось содержание интерстициальных эндокриноцитов (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате гистологических, гистохимических и морфометрических исследований можно прийти к выводу, что новорожденный период гонадотропные аденоциты гипофиза и интерстициальные эндокриноциты семенника активно функционируют. Высокая функциональная активность гонадотропоцитов и интерстициальных эндокриноцитов семенника наблюдается с 6 месяцев до 3 – 4 лет вклю-

чительно. У старых животных по гистохимическим и морфометрическим параметрам гонадотропная функция гипофиза резко снижена, что видимо, приводит к уменьшению гормональной активности интерстициальных эндокриноцитов в семеннике.

Study of the anterior pituitary and testis age morphology of cloven-hoofed mammals of the daghestan mountainous ship.

M. Atagimov, A. Khasaev.

ABSTRACT

The article presents the results of investigations of the anterior pituitary and testis of cloven-hoofed mammals in different periods of postnatal ontogenesis of the Dagestan mountainous sheep. Neuroendocrinal system regulates and coordinates the activities of all organs and systems, providing adaptation to constantly changing factors of external and internal environment, maintaining homeostasis which is necessary for the normal functioning of the body.

Among a lot of issues associated with the endocrine regulation of the body, the most interesting is the reproduction of mammals. From the authors' point of view the study of the distal part of the anterior pituitary is very important as there are focused glandular cells that produce such important hormones such as prolactin, STH (somatotrophine), TSH (thyrotrophine), ACTH (adrenocorticotrophine), FSH (folitrophine), ICS (interstitial cell-stimulating). The anterior pituitary activating peripheral endocrine glands function with its hormones is influenced itself by the latter. Therefore, the study of the anterior pituitary and the interstitial tissue of the testis represents the most attractive problem for study.

Due to the results of the histological, histochemical and morphometric study, the authors came to conclusion that adenocytes gonadotropic pituitary and testicular interstitial endocrinocytes undergo active functioning in the newborn period of development.

High functional activity of endocrine gonadotropocytes and interstitial testis in mammals is observed from the age of 6 months up to 3 - 4 year-old animals inclusively. Histochemical and morphometric parameters of pituitary gonadotropic function of older animals is drastically little that as a result apparently reduces the hormonal activity of interstitial endocrine cells in the testis.

Key words: endocrinal system, the pituitary gland, anterior pituitary, testis, gonadotropic cells, Leydig cells, sheep.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. -Москва. -1990.
2. Атагимов М.З., Хасаев А.Н. Строение гипофиза овец дагестанской горной породы в различные периоды постнатального онтогенеза // Проблемы развития АПК региона. -2015. -№3. -С. 78-81.
3. Мицкевич М.С. Развитие обратных связей в эндокринной системе в раннем онтогенезе // Механизмы гормональных регуляций и роль обратных связей в явлениях развития и гомеостаза. -М. -1981. -С. 105-115.
4. Мороз В.А. Овцеводство и козоводство // Ставропольское книжное издание. - 2002.

ГИСТОПАТОЛОГИЯ ЭНДЕМИЧЕСКОГО ЗОБА

Пилов А.Х., доктор биологических наук,
профессор кафедры ветеринарной медицины КБГАУ им. В.М. Кокова



РЕФЕРАТ

В биосфере Кабардино-Балкарии щитовидная железа коров, овец и свиней подвергается трансформации. С помощью анатомического и гистологического анализа, макро- и микрометрии структур железы и иодометрии были изучены щитовидные железы взрослых особей коров, овец и свиней.

На фоне гипофункции органа развиваются разные патоморфофункциональные изменения. Из всех патологических процессов в щитовидной железе наиболее часто встречаются узловые зобы. Особенностью узловых зобов является очаговая пролиферация фолликулярного и парафолликулярного эпителия. Проллиферация фолликулярного эпителия характеризуется образованием внутрифолликулярных сосочков разной величины и формы. При пролиферации парафолликулярного эпителия формируются сандерсоновы подушечки с образованием вторичных мелких фолликулов. Для узловых зобов ЩЖ коров характерны вторичные изменения: склероз, гиалиноз, кистообразование, петрификация, кровоизлияния, отложения гемосидерина. В щитовидной железе при узловом зобе имеются участки разрастания соединительной ткани, нередко с отложениями гиалина. Функция щитовидной железы при узловых зобах чаще всего понижена и развивается картина гипотиреоза. Но в некоторых случаях функция железы не нарушена (эутиреоидное состояние). В нашем материале также были выявлены следующие виды аденом: эмбриональная (трабекулярная) аденома, микрофолликулярная аденома, онкоцитарная (аденома из в-клеток), папиллярная аденома и смешанная аденома. Патогистологические изменения вызванные в щитовидной железе коров, овец и свиней являются отражением влияния экологических факторов горной предгорной зон Кабардино-Балкарии, характеризующихся дефицитом йода и других микроэлементов. Установлено, что с увеличением среднего диаметра фолликулов щитовидной железы животных снижается их функциональная активность. В статье микрофотографиями иллюстрированы разные формы зоба.

Ключевые слова: гиалиноз, гемосидерин, пролиферация, гиперплазия.

ВВЕДЕНИЕ

Щитовидная железа (ЩЖ), как основное депо йода в организме и регулятор его обмена, весьма чувствительна к дефициту его в биосфере. В современных условиях мультифакториального техногенного загрязнения наблюдается неуклонный рост показателей патологии ЩЖ.

Зобная трансформация ЩЖ, как правило, связана с пролиферативными изменениями в системе тиреона, что сопровождается нарушениями нормальных гемо-тканевых отношений, обеспечивающих оптимальную трофику, дифференци-

ровку и функциональную состоятельность паренхиматозных и стромальных структур.

Кабардино-Балкария ярко выраженная зона эндемического зоба. Нет ни одного органа или системы на деятельность которых не влияли бы функциональные продукты щитовидной железы. В связи с этим всестороннее изучение эндокринной системы сельскохозяйственных животных, в частности, особенности строения и функционирования ЩЖ, было и остается актуальным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были ЩЖ КРС, овец и свиней (взрослые) (табл. 1). В комплекс методик входили: анатомический и гистологический анализ, макро- и микрометрия структур железы и иодометрия.

Было изучено 60 гистологических препаратов по общепринятой методике [4].

Наиболее существенным в оценке состояния ЩЖ жи-вотных является показатель ее функциональной активности, который определялся по индексу А.А.Брауна [2]. В основу индекса положены отношения диаметра фолликулов к высоте тиреоидного эпителия: чем ниже цифровое выражение индекса, тем более активной является железа, и наоборот. Полученные данные обработаны с применением методов вариационной статистики, достоверность различий определялась по критерию Стьюдента [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Из всех патологических процессов в ЩЖ коров наиболее часто встречаются узловые зобы. Они составили около 36%. При микроскопическом исследовании узловые зобы имели разнообразное строение (рис. 1, 2). Узлы состояли из мелких, средних или крупных фолликулов: микрофолликулярный зоб, макрофолликулярный зоб и смешанный микромакрофолликулярный зоб.

Особенностью узловых зобов является очаговая пролиферация фолликулярного и парафолликулярного эпителия. Пролиферация фолликулярного эпителия характеризуется образованием внутрифолликулярных сосочков разной величины и формы [4]. При пролиферации парафолликулярного эпителия формируются сандерсоновы подушечки с образованием вторичных мелких фолликулов [5].

Для узловых зобов ЩЖ коров характерны вторичные изменения: склероз, гиалиноз, кистообразование, петрификация, кровоизлияния, отложения гемосидерина. В

щитовидной железе при узловом зобе имеются участки разрастания соединительной ткани, нередко с отложениями гиалина.

Описанные патогистологические признаки узловых зобов у коров характерны также для овец и свиней. Отличительной особенностью узловых зобов у свиней является избыточное разрастание жировой ткани в строме [6].

Таким образом, для узловых зобов крупного рогатого скота, овец и свиней характерно наличие одного или нескольких узлов, полиморфное строение узлов, пролиферация тиреоидного эпителия и образование вторичных мелких фолликулов.

Функция щитовидной железы при узловых зобах чаще всего понижена и развивается картина гипотиреоза. Но в некоторых случаях функция железы не нарушена (эутиреоидное состояние) [1].

В нашем материале также были выявлены следующие виды аденом: эмбриональная (трабекулярная) аденома, микрофолликулярная аденома, онкоцитарная (аденома из в-клеток), папиллярная аденома и смешанная аденома.

Происхождение эндемического зоба определяется факторами лежащими вне самой железы. Однако сформировавшиеся под влиянием йодной недостаточности морфологические изменения в железе могут, по-видимому, развиваться уже независимо от вызвавших их факторов. Недостаточность тиреоидной функции по принципу обратной связи ведет к усиленной выработке тиреотропного гормона гипофиза и последующей гипертрофии ЩЖ, которая сменяется гиперплазией фолликулярного эпителия.

Гиперпластическая реакция не может продолжаться до бесконечности. Когда она достигает такой стадии, в которой поглощение йода увеличенной щитовидной железой становится эквивалентным поглощению йода нормальной, не увели-

Таблица 1

Количество изученных щитовидных желез и гистосрезов коров, овец и свиней

Вид животных	Количество желез	Количество гистосрезов
КРС	20	60
Овцы	20	60
Свиньи	20	60
Итого	60	180

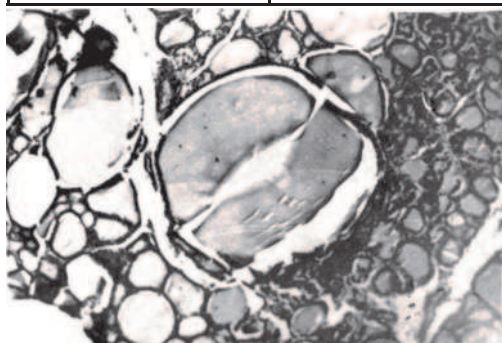


Рис. 1. Смешанный (микро-макрофолликулярный) коллоидный зоб. Окраска: гематоксилином и эозином. X100.

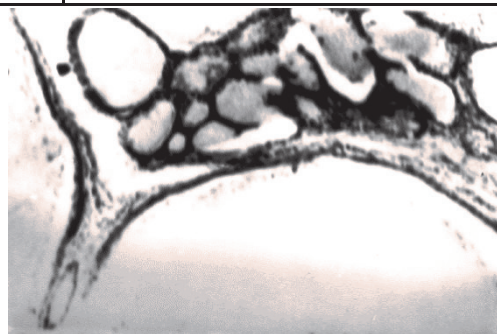


Рис.2. Щитовидная железа валуха 2 лет: макрофолликулярный коллоидный зоб. Окраска: гематоксилином и эозином. X100.

ченной железой, гиперплазия сменяется стадией покоя и накоплением коллоида в щитовидной железе.

Территория Кабардино-Балкарской республики представлена большим многообразием ландшафтов, с резкими изменениями их на относительно небольшой площади – 12,5 тыс. кв. км. Их особенности определяются ярко выраженной вертикальной зональностью, начинающейся от районов вечных снегов с примыкающими к ним альпийскими лугами, достигающего до засушливых степей. Эта пестрота географических особенностей дополняется своеобразием биогеохимических условий, оказывающих существенное влияние на систему почва – растение – животное – человек.

Комплекс указанных особенностей обуславливает сложные адаптационные реакции человека и животных, осуществляемые нервной и эндокринной системами.

ЩЖ у коров, овец и свиней в условиях

йоддефицитной территории Кабардино-Балкарии по своему строению и функциональным показателям характеризуется общностью.

Диаметр фолликулов ЩЖ коров составил $245,5 \pm 14,5$ мкм, высота тироцитов $4,88 \pm 1,2$ мкм, индекс Брауна 50,5.

Диаметр фолликулов ЩЖ овец составил $102,1 \pm 4,1$ мкм, индекс Брауна 25,2.

Индекс Брауна у свиней – 32.

Диаметр фолликулов у трех видов животных заметно выше, что снижает их функциональную активность. Эти показатели также свидетельствуют о влиянии климатических особенностей на организм животных. Это резко выраженные гипофункциональные состояния.

Между весом щитовидной железы и диаметром ее фолликулов у коров, овец и свиней отмечается прямая и статистически достоверная коррелятивная зависимость. Коэффициент корреляции составил $+0,910 \pm 0,03$, при $P < 0,99$.

Между весом железы и высотой ти-

реоидного эпителия установлена – обратная коррелятивная зависимость – уровень вероятности выше 95 процентов. Между диаметром фолликулов и высотой тиреоидного эпителия также отчетливо выражена обратная коррелятивная связь.

Патоморфологические изменения, выявленные в железах крупного рогатого скота, овец и свиней являются отражением влияния экологических факторов горной и предгорной зон Центральной части Северного Кавказа, характеризующихся дефицитом йода и других микроэлементов, определяющих особенности биогеохимического фона обитания животных и человека, как местности эндемичные по зобу. Эти изменения в большинстве выявленных случаев развиваются на фоне гипопункции органа, приобретая характер узловых, диффузных, коллоидных или паренхиматозных изменений. Однако их следует рассматривать как предзобные состояния, расцениваемые многими исследователями, как начинающийся процесс во всем организме. Они отражают начинающийся процесс различных дистрофий, обусловленных эндокринной недостаточностью и, естественно, отражаются на продуктивности и воспроизводительной способности животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. ЩЖ коров, овец и свиней в условиях йододефицитной зоны Кабардино-Балкарии испытывает влияние стромогенных факторов биосферы, что соответственно отражается на гистоструктуре органа.
2. Комплекс особенностей биосферы вызывает в богатой фауне и флоре республики сложные адаптационные реакции сельскохозяйственных животных для уравновешивания гомеостаза с внешними условиями осуществляемые нервной и эндокринной системами.
3. Преобладание гипопункции и патоморфологических изменений в ЩЖ коров, овец и свиней диктует необходимость

организации профилактических мер путем восполнения рационов животных недостающими микроэлементами, в которых ведущая роль принадлежит йоду.

Histopathology of endemic goiter.

A. Pilov.

ABSTRACT

In the biosphere, Kabardino-Balkaria, the thyroid gland of cows, sheep and pigs subjected to transformation. With the help of anatomical and histological analysis, and macro-micrometer structures iodometry gland and thyroid glands were studied adults cows, sheep and pigs. Against the background of organ hypofunction develop different pathomorphofunction changes. Of all the pathological processes in the thyroid gland most frequent nodal goiters. A special feature is the focal nodular goiters proliferation of the follicular epithelium and parafollicular. The proliferation of the follicular epithelium is characterized by the formation of intrafollikular papillae of different sizes and shapes. With the proliferation of epithelial parafollikular Sanderson's pads formed with the formation of small secondary follicles. For thyroid nodular goiters cows are characterized by secondary changes: sclerosis, hyalinosis, cyst, petrification, hemorrhage, hemosiderin deposits. In the thyroid gland in nodular goiter are areas proliferation of connective tissue, often with hyaline deposits. Thyroid function at the nodal goiters often lowered and the picture of hypothyroidism. But in some cases, cancer is not compromised function (euthyroid state). In our submission also identified the following types of adenomas: embryonic (trabecular) adenoma, an adenoma microfollicular, onkocitic (adenoma of the B-cell), papillary adenoma and adenoma mixed. Histopathological changes in the thyroid gland caused by cows, sheep and pigs are a reflection of the influence of environmental factors mountain foothill zone of Kabardino-Balkaria, characterized by a deficiency of iodine and other trace elements. It is found that increasing the

average diameter of the follicles of the thyroid gland of animals reduced their functional activity. The article illustrated with photomicrographs different forms of goiter.

Key words: hyalinosis, hemosiderin, proliferation, hyperplasia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алешин В.Б. Изменения соединительнотканного остова и тканевого давления при узловатых образованиях щитовидной железы // Тр.: Всероссийской науч.-пр. конф. хирургов. Пятигорск. -1999. -225с.
2. Браун А.А. О морфологическом индексе функциональной активности щитовидной железы // Тез. II научной конф. Андижанского отд. ВНОАГ. -Андижан. -1986. -С. 20-22.
3. Плохинский Н.А., Меркурьева Е.К.

Руководство по биометрии. -М. -1983. -С. 7-24.

4. Гребенщиков А.В. Функциональная морфология щитовидной железы телят в условиях экологического неблагополучия: Автореф.дис... канд.биол.наук. - Воронеж. -2001.

5. Мужикян А.А. Иммуногистохимические исследования и морфология с-клеток щитовидной железы свиней // Ветеринарная патология. -2014. -№3-4. -С.54-61.

6. Федотов Д.Н. Возрастные и индивидуальные морфологические особенности строения артериального кровоснабжения и иннервации щитовидной железы у свиней // В сб.: Уч. записки Витебской гос. академии вет. медицины. -Витебск. - 2011. -Т.47. -Вып.1. -С.308-313.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК:619

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РЕПАРАТИВНОМ ОСТЕОГЕНЕЗЕ У КРОЛИКОВ

Уша Б.В. – профессор, зав. кафедрой, Концевая С.Ю. - д.в.н. профессор,
Луцай В.И. - д.в.н., Фатеева Е.И. - к.в.н.
Московский государственный университет пищевых производств



РЕФЕРАТ

При исследовании процессов репаративного остеогенеза после дефекта ребер у кроликов, было обнаружено, что применение аутогенного костного мозга снижает процентное содержание ретикулоцитов в крови до 4,12% (от общего количества эритроцитов). В контрольной группе этот показатель составил 17,08%, и в группе, получавшей лечение аллогенными мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками – 18,14%. Повышение количества ретикулоцитов способствует угнетению эритропоэза, и приводит к снижению интенсивности поглощения кислорода тканью костного мозга. В результате ослабевает интенсивность репаративного процесса.

Полученные данные коррелируют с клинической картиной и согласуются с результатами, опубликованными в литературных источниках. Таким образом, аутогенный костный мозг обладает наилучшим терапевтическим эффектом при остеогенезе, по сравнению с применением аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток.

Ключевые слова: эритроциты, аутогенный костный мозг, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, остеогенез, кролики.

ВВЕДЕНИЕ

Реологические свойства крови определяются функциональным состоянием ее форменных элементов, и эритроцитам принадлежит ключевая роль. Поэтому мы, в первую очередь, уделяли внимание подвижности, деформируемости, агрегационной активности эритроцитов. Вязко-эластические свойства эритроцитов не только зависят от функционального состояния целого ряда органов, но и сами оказывают влияние на жизнедеятельность отдельных структур организма.

В зависимости от степени тяжести травмы, в срок от 18 до 24 часов после операции происходит генерализация реологических сдвигов: повышается вязкость крови, увеличивается адгезивно-агрегационная активность ее элементов, и снижаются пластические свойства эритроцитов, что резко ухудшает кровообращение в системе микроциркуляции и к развитию полиорганной недостаточности. Нарушения периферического кровообращения и вызывают повреждение структурных элементов эритроцитов и их ферментных систем.

В связи с этим, нам представлялось весьма важным провести детальное изучение морфологии эритроцитов в процессе репаративного остеогенеза при дефекте ребер, с последующим применением стволовых клеток и аутогенного костного мозга. В этом исследовании мы отмечали полиморфность эритроцитов в послеоперационный период. Степень деформации эритроцитов всегда зависит от тяжести травмы и вводимых в организм веществ. Обширная и длительная травма, как правило, сопровождается активацией и выделением в кровотоки медиаторов воспаления и цитокинов, которые обуславливают появление различных гемопатий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на кроликах (n=30) породы шиншилла, в возрасте 18 месяцев, массой 2,5-3,5 кг. Кролики были получены из питомника РАМН "Белый мох", и содержались в стандартных условиях вивария. Было сформировано три аналогичных, однородных группы, по десять голов в каждой: одна контрольная и две экспериментальные. Во всех группах кроликам проводили одинаковые операции: под наркозом (комбинация золегила и ксилазина) удаляли фрагмент костной ткани в области пятого ребра, длиной 8 мм и шириной 1,5 мм. Затем дефект закрывали брезентовой тканью. В область дефекта экспериментальным группам вводили аутогенный костный мозг (группа №1) и аллогенные мультипотентные мезенхимальные стромальные (стволовые) клетки (группа №2). До операции, а также через 4 и 15 суток после операции у кроликов брали кровь для гематологического исследования, методом нативных мазков.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На 4-е сутки после операции во всех группах выявлена умеренная гиперсегментация сегментоядерных нейтрофилов.

Мы считаем, что это связано с развитием эндогенной интоксикации после оперативного вмешательства. В течении всего послеоперационного периода во всех группах мы наблюдали наличие ретикулоцитов, что является, по нашему мнению, косвенным маркером активности репаративного процесса.

Нами была так же установлена следующая закономерность. На 4-е сутки после операции, у кроликов группы №1 (введение аутогенного костного мозга) было отмечено уменьшение количества ретикулоцитов до 4,12% от общего количества эритроцитов, в то время как в контрольной группе этот показатель составлял 17,08%, а в группе №2 (введение стволовых клеток) - 18,14%.

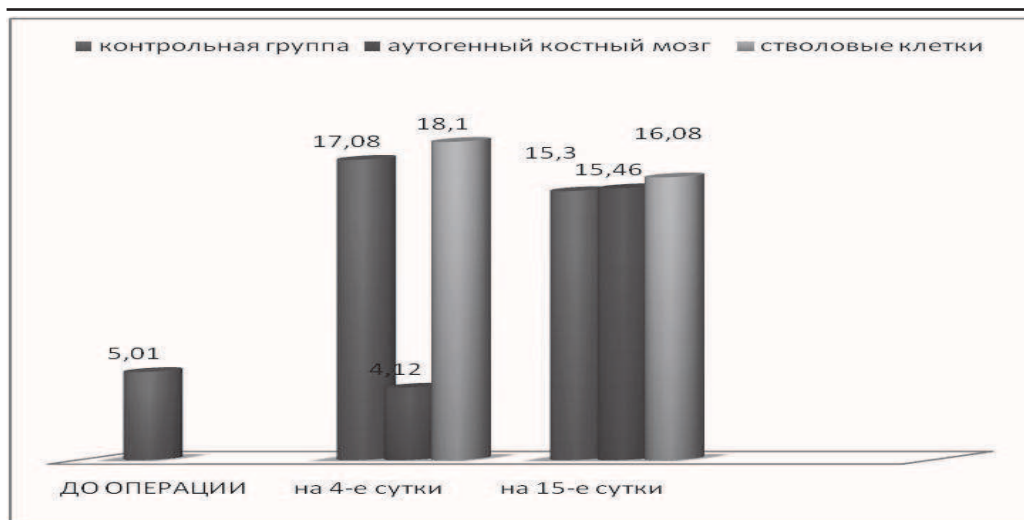


Рис. 1. Изменение процентного содержания ретикулоцитов в крови кроликов в течение 15 суток после операции

Значительная разница между контрольной и экспериментальной группой №1 служит доказательством того, что введение аутогенного костного мозга в первые дни после травмы угнетает эритропоэз. Однако, на 15-е сутки количество ретикулоцитов восстанавливалось до 15,46% в контрольной группе, до 15,13% в группе №1, и до 16,08 % в группе №2 (рис. 1).

Аналогичная морфологическая картина наблюдалась в отношении макроэритроцитов и микросфероцитов: в среднем их количество составляло 2,01% при применении аутогенного костного мозга (группа №1), что в 2 раза больше, чем в контрольной группе (1,00%) и в 2,87 раза больше (0,70%), чем группе, получавшей стволовые клетки (группа №2). (таб. 1).

Эритроциты (овалоциты) встречались в начальный послеоперационный период. На 4-й день в контрольной группе их количество достигало, в среднем, 1,04%, тогда как у кроликов группы №1 этот показатель составлял 0,90%, а в группе №2 – 0,20%. До операции мы не обнаруживали овалоциты в крови животных. На 15-е сутки после операции овалоциты

регистрировали у кроликов контрольной группы в количестве 0,02%.

Процентное соотношение сфероцитов у кроликов контрольной группы и группы №2 (после введения стволовых клеток в область дефекта) было умеренно повышено, по сравнению с до операционным уровнем, и составляло соответственно 1,5% и 0,8%.

Однако, в группе №1, у животных, которым вводили аутогенный костный мозг, наблюдался значительный сфероцитоз – 21,7%. Сфероциты – клетки, готовые к гемолизу. Они являются конечной стадией превращений других патологических форм клеток.

Так, на 15-е сутки после операции и последующего применения костного мозга (группа №1) содержание сфероцитов в крови составило 13,55%, при этом в контрольной группе – всего 1,00%, а при введении стволовых клеток (группа №2) – 0,20%.

По нашим наблюдениям, у кроликов имеется существенный эритроцитоз на всем протяжении послеоперационного периода. Так, количество эритроцитов до операции составляло 5,09%. На 4-е сутки

Таблица 1

Структурно-функциональные изменения свойств эритроцитов у кроликов

Морфология эритроцитов, %	ИД n=30	4-е сутки после операции			15-е сутки после операции		
		Контрольная n=10	Группа №1 (аутогенный костный мозг) n=10	Группа №2 (ММСК) n=10	Контроль- ная n=10	Группа №1 (аутогенный костный мозг) n=10	Группа №2 (ММСК) n=10
Полихроматофилы (ретикулоциты)	5,0±0,1	17,1±0,4***	4,1± 0,3**	18,1±0,4***	15,1±0,3***	15,5±0,3***	16,1±0,3***
Макроциты	0,01±0,01	4,0±0,2	3,2± 0,1	1,0± 0,0	0,2±0,0	0,3± 0,0	0,0±0,1
Макроэритроциты и микросфероциты	0	1,0±0,0	2,0±0,1	0,7± 0,0	0,08±0,01	1,1± 0,0	0
Сфероциты	0	1,5± 0,1	21,7±0,4	0,8±0,0	1,0± 0,0	13,6± 0,3	0,2± 0,0
Эхиноциты	5,1±0,0	39,9±0,4***	31,1±0,4***	23,1±0,4	30,6±0,5***	30,4±0,4***	7,1±0,2
Акантоциты	0,2±0,0	21,1±0,8***	35,1±0,6***	3,1±0,1***	12,5±0,3***	20,9±0,4***	0,5±0,0*
Дегматоциты	0	15,9±0,3	21,1±0,7	6,0±0,1	5,1±0,1	10,3±0,2	0
Эллиптоциты	0	1,0±0,0	0,9±0,0	0,2±0,0	0,02±0,01	0	0
Стоматоциты	0,2±0,0	17,3±0,2	15,0±0,3	6,4±0,1	11,3±0,2	12,4±0,2	2,1± 0,1
Кодоциты	0,3±0,0	13,9±0,2***	19,0 ± 0,4*** 67% у погибших	10,6±0,2***	11,1±0,2***	14,0±0,2***	1,1±0,0*
Шистоциты	1,1±0,0	21,0±0,4***	28,5±0,4***	11,0±0,2***	11,7±0,2***	21,1±0,3***	2,1±0,0*
Дрепаноциты	0	7,1±0,1	11,5±0,2	3,0±0,04	1,0±0,0	3,8±0,1	0
Дакриоциты	0	2,4±0,1	3,0±0,1	0	0,1±0,0	1,5±0,0	0

Примечание: * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ достоверно по отношению к ИД

после операции в контрольной группе оно возрастало до 39,87%, в группе №1 - 31,09%, и в группе №2 - 23,06%. На 15-е сутки после операции в крови обнаруживали следующее процентное содержание эритроцитов: в контрольной группе - 30,62%, в группе №1 - 30,44%, и в группе №2 - 7,14%.

При инвагинации плазмолеммы эритроцита образуются стоматоциты, конечной стадией которых также является микросфероцит. Стоматоциты - эритроциты, у которых центральное просветление имеет линейную или другую форму. В нашем исследовании, на 4-е сутки после операции стоматоциты составляли: 17,30% в контрольной группе, 15,0% - в группе №1 (после введения аутогенного костного мозга), и 6,36% в группе №2 (после введения стволовых клеток). Через 15 суток после оперативного вмешательства процент стоматоцитов по группам был следующим: в контрольной группе - 11,31%, в группе №1 - 12,43%, и в группе №2 - 2,1%.

Акантоцитов в контрольной и экспериментальных группах на 4-е сутки после операции составил: в контрольной группе 21,06%, в группе №1 - 35,11%, и в группе №2 - 3,09%. На 15-е после операционные сутки отмечено снижение количества акантоцитов до 12,54% в контрольной группе и до 20,90% в группе №1, что в 41,8 раз больше, чем при применении стволовых клеток: в группе №2 наблюдалось только 0,5% акантоцитов.

Шистоциты (каскаобразные клетки) до операции составляли 1,08%. На 4-е сутки после оперативного вмешательства в контрольной группе их процентное соотношение достигало 13,92%, а при введении аутогенного костного мозга (группа №1) и стволовых клеток (группа №2), соответственно, 19,04% и 10,6%. На 15-е сутки после операции уровень шистоцитов в крови уменьшился и составил: в контрольной группе - 11,12%, в группе

№1 - 13,99%, и в группе №2 - 1,09%.

Дегматоциты (листоподо клетки), согласно нашим исследованиям, обнаруживаются в периферической крови кроликов. На 4-е сутки после операции их процентное количество составило: в контрольной группе - 15,94%, в группе №1 - 21,07%, в группе №2 - 6,02% (таб.1).

Однако, к 15-м постоперационным суткам отмечалась существенная тенденция к снижению их числа. У животных, которым в область дефекта вводили стволовые клетки (группа №2), дегматоцитов не регистрировали. При введении аутогенного костного мозга (группа №1) наблюдалось 10,3% дегматоцитов, а в контрольной группе - 5,13%.

Дрепано (серповидные клетки) у кроликов группы №1 составляли 11,5% на 4-е сутки, и 3,81% на 15-е сутки после операции. У животных группы №2, на 4-е сутки было выявлено 3,04% дрепаноцитов, а к 15-м суткам они исчезли. В контрольной группе содержание этих клеток на 4-е сутки составило 3,04%, и на 15-е сутки - 1,01%.

Мы обнаруживали дакриоциты у кроликов на 4-е сутки после операции: в контрольной группе - 2,37%, и в группе №1 - 2,98%. На 15-е сутки их процентное содержание составило, соответственно, 1,01% и 3,81%. У животных, которым в область дефекта вводили стволовые клетки (группа №2) дакриоцитов не обнаруживали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате наших исследований установлено, что пунктат аутогенного костного мозга, введенный кроликам сразу после оперативного вмешательства, снижает процентное количество ретикулоцитов до 4,12% общего количества эритроцитов, по сравнению с их соотношением в контрольной группе - 17,08%, и в группе, получавшей аллогенные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки - 18,14%. Повышение количе-

ства ретикулоцитов способствует угнетению эритропоэза, и приводит к снижению интенсивности поглощения кислорода тканью костного мозга. В результате ослабевает интенсивность репаративного процесса. Полученные данные коррелируют с клинической картиной и согласуются с результатами, опубликованными в литературных источниках. Таким образом, аутогенный костный мозг обладает наилучшим терапевтическим эффектом при остеогенезе, по сравнению с применением аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток.

Morphological study of erythrocytes shape changes through osteogenesis in rabbits.

B. Usha, S. Concevay, V. Lutsay, E. Fateeva.

ABSTRSCT

In our study was found that autogenic bone marrow, applied after rib surgery in rabbits, reduces the percentage of reticulocytes to 4.12% (of the total number of red blood cells), as compared to control group - 17.08%, and the group applying allogenic multipotent mesenchymal stromal cells - 18.14%. This could lead to reducing in oxygen consumption by bone marrow tissue and, so, to weakening of reparation process. This data are in accordance with clinical sings and other studies reports.

Key words: red blood cells, autogenic bone marrow, allogenic multipotent mesenchymal stromal cells, osteogenesis, rabbits

ЛИТЕРАТУРА

1. Уша Б.В., Вишневский А.А., Луцай В.И. Стимуляция репаративного остеогенного процесса мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками при замещении костных дефектов реберного каркаса в эксперименте // Аграрная наука. -2012. -№10. -С. 20-23.
2. Луцай В.И. Ананьев Л.Ю. Динамика фагоцитарной активности нейтрофилов у кроликов при экспериментальном исполь-

зовании клеточных технологий после остеосинтеза ребер грудной клетки. // Материалы международной научно-практической конференции. -Уфа. -2014. -Ч.1. -С. 214-215.

3. Уша Б.В., Луцай В.И., Вишневский А.А. Экспериментальное применение аутогенного костного мозга для стимуляции репаративного остеогенеза при дефекте ребер грудной клетки: учебно-методическое пособие. -М.: изд-во "МГУПП". -2013. -40с.

4. Уша Б.В., Луцай В.И., Вишневский А.А. Экспериментальное применение клеточных технологий для стимуляции репаративного остеогенеза при дефекте ребер грудной клетки. -М.: изд-во "МГУПП". -2012. -50с.

5. Уша Б.В., Луцай В.И., Вишневский А.А. Применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в ветеринарной медицине. // Материалы международного конгресса "Биотехнологии и перспективы развития". - Москва. - 2013. -467с.

ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ

Калатанова А.В. - токсиколог группы общей токсикологии, Селезнева А.И. - к.м.н, руководитель группы общей токсикологии, Макарова М.Н. - д.м.н., профессор, Макаров В.Г. - д.м.н., профессор



РЕФЕРАТ

Оценка острой токсичности лекарственных средств является одним из основополагающих этапов для последующего изучения и внедрения в клиническую практику. Существуют разные подходы к планированию и объемам проведения исследований токсичности. Однако на сегодняшний день существуют основополагающие принципы планирования и проведения доклинических исследований безопасности лекарственных средств, принятые во всем мире.

Исследования острой токсичности чрезвычайно важны, поэтому должны характеризоваться максимальной достоверностью и информативностью. В 2014 году был принят ряд ГОСТов, идентичных OECD, что позволило токсикологам в России основываться на методологию, предложенную этими международными стандартами.

В данной статье представлен опыт сравнительного исследования острой токсичности препарата X по 2-м методам: согласно Руководству по доклиническим исследованиям (2012) и по методу Up-and-Down Procedure - OECD TG 425. Оба исследования в равной степени позволили определить ЛД50, необходимую для присвоения веществу одной категории токсичности. Однако без результатов исследования по методу OECD TG 425 при широком разбросе литературных данных о летальных дозах препарата X для определения ЛД50 в рамках исследования острой токсичности по Руководству потребовалось бы расширить и/или повторить эксперимент, так как стартовые дозы были бы далеки от ЛД50. Важнейшим аспектом также стало использование 18 животных в эксперименте по методу OECD TG 425, в то время как при реализации метода по Руководству было использовано 60 животных.

Ключевые слова: доклинические исследования, острая токсичность, летальная доза, OECD, Up-and-Down Procedure.

ВВЕДЕНИЕ

Неотъемлемой частью разработки лекарственных средств является исследование острой токсичности, по результатам которого лекарственным средствам присваивается класс токсичности.

Существуют разные подходы к планированию и объемам проведения исследований токсичности. Однако на сегодняшний день существуют основополагающие принципы планирования и проведения доклинических исследований безопасности лекарственных средств, принятые во всем мире.

Так, одним из регламентирующих стандартов для проведения доклинических исследований является принцип «3R» - усовершенствование, сокращение, замена (Refinement, Reduction, Replacement), который предполагает использование минимального количества животных в исследовании [1]. Первоочередными задачами для обеспечения гуманного использования животных в эксперименте являются: применение точных и информативных методов оценки токсичности лекарственных средств с использованием минимального числа животных, предот-

Таблица 1

Литературные данные о ЛД50 препарата X

Значение LD50	Источник
200 мг/кг	(Cayman Chemical Company, 1996)
1124 мг/кг	(VHG Labs, Inc, 2013)
1480 мг/кг	(Bayer inc., 2013)
1500 мг/кг	(SigmaAldrich, 2014)

вращение и уменьшение боли и дистресса, применение современного безопасного оборудования для манипуляций в процессе эксперимента, применение гуманных методов эвтаназии, использование технических навыков компетентного персонала.

Согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [2] оценка острой токсичности, включающей в себя определение ЛД50 (средней дозы вещества, вызывающей гибель 50% животных исследуемой группы), проводится на нескольких видах животных, в группах минимальным количеством 5-6 особей каждого пола и вида на каждую исследуемую дозу и способ введения. Данный метод является общепринятым и наиболее часто используется на территории Российской Федерации для определения острой токсичности препарата.

В международных руководствах для оценки острой токсичности применяют метод фиксированной дозы (Fixed Dose Procedure - OECD TG 420; [3]), классовый метод (acute Toxic Class method - OECD TG 423 [4]) и процедуру Вверх-и-Вниз (Up-and-Down Procedure - OECD TG 425; [5]), которые позволяют уменьшить количество подопытных животных.

Целью данной работы было сравнить имеющийся опыт изучения острой токсичности препарата X согласно Руководству по доклиническим исследованиям (2012) и по методу Up-and-Down Procedure - OECD TG 425 с описанием их преимуществ и недостатков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании в качестве тест-системы были использованы аутбредные крысы обоих полов. Возраст животных к началу эксперимента составил 8 - 12 недель, масса тела не отклонялась от среднего по группе больше чем на 10 %.

Методы исследования

Объектом исследования являлся препарат X, предназначенный для перорального применения в качестве анальгезирующего, жаропонижающего, противовоспалительного, антиагрегационного лекарственного средства.

Литературные данные о средних летальных дозах (ЛД₅₀) действующего вещества препарата X при внутрижелудочном введении аутбредным крысам представлены в таблице 1.

В связи с широким разбросом данных о ЛД50 было принято решение о проведении эксперимента по методу Up-and-Down Procedure - OECD TG 425 с целью определения точной летальной дозы с использованием минимального числа животных. После проведенного исследования по OECD TG 425 на основании полученных данных проводили исследование острой токсичности препарата X согласно руководству по доклиническим исследованиям (2012).

Метод исследования острой токсичности препарата X согласно Up-and-Down Procedure - OECD TG 425

В эксперименте согласно OECD TG 425 было использовано 18 животных (9 самцов и 9 самок). Руководствуясь методом OECD TG 425, первое животное каждого пола получало дозу препарата X на

один шаг ниже предполагаемой ЛД₅₀.

Согласно методологии, описанной в OECD TG 425, был выбран шаг между дозами, равный 3,2. Таким образом, в исследовании острой токсичности по этому методу животным вводили препарат X в дозах 62,5/200/640/2000 мг/кг. Каждому животному препарат X вводили последовательно в каждой дозе. Период наблюдения для выбора следующей дозы составлял 48 часов.

Общая продолжительность эксперимента составила 36 дней.

ЛД₅₀ рассчитывалось методом максимальной вероятности с помощью компьютерной программы «АОТ 425 StatPgm» [6].

Метод исследования острой токсичности препарата X согласно Руководству по доклиническим исследованиям (2012) [2].

Общее количество животных в эксперименте – 60: 25 самцов, 25 самок составили пять групп животных для исследования острой токсичности препарата X в пяти исследуемых дозах, 5 самцов и 5 самок составили группу плацебо. Дозы препарата X были обоснованы результатами исследования по методу OECD TG 425 и составили 518/720/1000/1391/1934 мг/кг.

Введение осуществлялось однократно, после чего за животными производилось наблюдение в течение 15 дней. На протяжении этого времени осуществлялся ежедневный осмотр животных, оценивалось их общее состояние. ЛД₅₀ определяли по методу пробит-анализа [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При выполнении исследования острой токсичности препарата X согласно Up-and-Down Procedure - OECD TG 425 с помощью компьютерной программы «АОТ 425 StatPgm» была определена ЛД₅₀. Для самцов ЛД₅₀ составила 1041 мг/кг (640÷2000), для самок – 1193 мг/кг (640÷2000).

При выполнении исследования острой токсичности согласно Руководству по проведению доклинических исследований методом пробит-анализа была определена ЛД₅₀, для самцов равная 1520±330 мг/кг, для самок – 1240±154 мг/кг.

Не смотря на то, что диапазоны ЛД₅₀, полученные при использовании обоих методов исследования, различались, полученные в обоих исследованиях данные позволили отнести препарат X к IV классу слабо токсичных веществ (500<ЛД₅₀ (в/ж)<5000 мг/кг) по классификации Hodge и Sterner [8]; классу умеренно опасных веществ для крыс (151<ЛД₅₀ (в/ж, крысы)<5000 мг/кг по ГОСТ 12.1.007-76).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оба исследования в равной степени позволили определить ЛД₅₀, необходимую для присвоения веществу одной категории токсичности. Однако без результатов эксперимента по методу OECD TG 425 при широком разбросе литературных данных о летальных дозах препарата X для определения ЛД₅₀ в рамках исследования острой токсичности по Руководству потребовалось бы расширить и/или повторить эксперимент, так как стартовые дозы были бы далеки от ЛД₅₀.

По результатам исследования острой токсичности препарата X согласно руководству по доклиническим исследованиям (2012) и методом OECD 425 Up-and-Down-Procedure можно сделать следующие выводы, схематично представленные в виде таблицы.

Таким образом, не смотря на различия методов оценки, каждый из предложенных методов может быть эффективно использован для исследования острой токсичности. Метод оценки острой токсичности по Руководству (2012) целесообразно выбирать при исследовании препарата с достоверно известными данными о ЛД₅₀. Этот метод требует значительных затрат с точки зрения количества

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2015г.

Метод	OECD 425 Up-and-Down-Procedure	Острая токсичность в 5-ти дозах (Руководство по доклиническим исследованиям 2012)
Количество животных	Использование минимального количества животных в эксперименте с тремя исследуемыми дозами Возможность использования только самок или наиболее чувствительного пола	Использование большого количества животных, 2-х полов
Содержание животных	Индивидуальное содержание	Групповое содержание
Выбор доз	За счет подбора доз в динамике риск неправильного выбора доз минимален	Исследование токсичности препарата в широком диапазоне доз. Риск неправильного выбора доз при отсутствии достоверной информации о токсичности препарата и необходимости повтора эксперимента при неправильном подборе доз
Планирование исследования	Возможность запланировать точную продолжительность эксперимента	Возможность запланировать точную продолжительность эксперимента
Детальное наблюдение за 1-м животным	Индивидуальное детальное наблюдение развития интоксикации непосредственно после введения в течение 48 часов	Отсутствие индивидуального наблюдения картины интоксикации. В виду большого количества животных есть возможность наблюдения всех вариантов индивидуальных реакций на препарат.
Оценка поведенческих реакций	Неравные условия оценки поведенческих реакций в виду одновременного введения препарата животным, что может привести к отличиям данных, не связанным с эффектами препарата	Достоверная оценка поведенческих реакций, поскольку все исследования проводятся в один день и при равном действии внешних факторов, что обеспечивает более достоверную статистическую оценку.
Расчет ЛД50 Статистическая обработка	Автоматический расчет ЛД50 с учётом данных об отсроченной гибели Возможность определения ЛД50 при отсутствии достоверных данных о летальных дозах с использованием минимального количества животных Невозможность достоверного расчета средних значений и статистического анализа массы тела, массовых коэффициентов органов и других параметров в виду малой выборки	Возможность определения ошибки среднего значения ЛД50 Достаточная величина выборки для статистической оценки влияния однократного введения препарата на такие параметры, как масса тела и органов, реакции на раздражители, индивидуальные поведенческие реакции по сравнению с контрольной группой

животных, времени, а также трудозатрат. Исследование согласно OECD Test Guideline 425 предпочтительно в случае отсутствия достоверных литературных данных о ЛД50 или их разноречивости. Этот метод лучше выбирать при планировании более развернутого изучения хронической токсичности препарата, так как в этом случае будут в полном объеме статистически оценены все биометрические и физиологические параметры. Метод OECD Test Guideline 425 позволяет получить достоверные данные о ЛД50 препарата с наименьшими трудозатратами и вовлечением минимального количества животных.

Advantages and disadvantages of some methods of evaluating acute toxicity.

A. Kalatanova, A. Selezneva, M. Makarova, V. Makarov.

ABSTRACT

Assessment of acute toxicity of drugs is one of the fundamental steps for further study and implementation into clinical practice. There are different approaches to planning and the volume of toxicity studies. However, to date, there are fundamental principles of planning and conducting pre-clinical safety studies of drugs made worldwide.

Acute toxicity studies are extremely important, therefore, must be characterized by maximum reliability and informative. In 2014, it adopted a number of state standards identical to OECD, allowing toxicologists in Russia based on the methodology proposed by these international standards.

This article describes the experience of a comparative study of the acute toxicity of the drug X for the 2nd method: according to the Guidelines for preclinical studies (2012) and the method of Up-and-Down Procedure - OECD TG 425. Both studies is equally possible to determine the LD50 necessary for assigning one category of substance toxicity. However, without the results of the study by the method of OECD TG 425 in a

wide spread of published data on lethal doses of the drug X to determine the LD50 in a study of acute toxicity by the Guidelines would be required to expand and / or repeat the experiment as the starting dose would be far from the LD50. The most important aspect was to use as 18 animals in the experimental method OECD TG 425, while the implementation of the Guidelines on the method was used 60 animals.

Key words: pre-clinical study, acute toxic, lethal dose, OECD , Up-and-Down Procedure.

ЛИТЕРАТУРА

1. Russell W.M.S., Burch R.L. The Principles of Humane Experimental Technique // Methuen. London. -1959.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. -М. -2012. -944с.
3. OECD (2001). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure, Paris, France: Organization for Economic Cooperation and Development. 14pp.
4. OECD (2001). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 423: Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method, Paris, France: Organization for Economic Cooperation and Development. 14pp.
5. OECD (2001). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 425: Acute Oral Toxicity - Up-and-Down Procedure, Paris, France: Organization for Economic Cooperation and Development. 26pp.
6. Acute Oral Toxicity (OECD Test Guideline 425) Statistical Programme (AOT 425 StatPgm). Version:1.0,2001.
7. Прозоровский В.Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентраций биологически активных веществ. - Байкальск. -1994. -46с.
8. Hodge H.C., Gosselin R.E., Smith R.P. Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning. Ed. IV. -Baltimore. - 1975. -P.427.

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ПРИ ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Мужикян А.А. - к.в.н., с.н.с., Макарова М.Н. - д.м.н., профессор
ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации»



РЕФЕРАТ

В обзоре рассмотрены возможности применения компьютерной томографии (КТ) при проведении исследований на лабораторных животных. Компьютерная томография органов и тканей экспериментальных животных представляет собой одно из наиболее перспективных направлений инструментальной диагностики, как с точки зрения получения более полной картины патологии, так и с позиций гуманного обращения с животными. КТ позволяет проводить прижизненную оценку патологических очагов, изучить динамику развития патологии и эффективности лечения без необходимости проведения эвтаназии животных на всех интересующих контрольных точках эксперимента. В то же время, применение КТ значительно расширяет представления о локализации тех или иных патологических очагов, степени их выраженности и патогенезе заболевания, позволяет получать достоверные данные, соотносящиеся с результатами общепринятых морфологических методов исследования в режиме реального времени. Применение КТ показывает положительные результаты при диагностике патологических состояний опорно-двигательного аппарата, сосудов, опухолевых процессов у лабораторных животных. К числу преимуществ КТ следует отнести неинвазивность метода, отсутствие применения контрастного вещества (за исключением высокоразрешающего имиджинга), скорость выполнения исследования, диагностическую точность, возможность визуализации всей внутренней трехмерной структуры объекта с полным сохранением образца для других видов исследований. Разработки в области КТ лабораторных животных позволяют проводить изучение фармакодинамики *in vivo*, визуализацию биoluminesценции и биохимических изменений в живых клетках животных, морфометрические исследования, скрининг PET и SPECT проб, использование, разработку и валидацию проб и биомаркеров, слежение за миграцией клеток *in vitro* и *in vivo*, что позволяет рекомендовать КТ в качестве одного из основных методов морфологического анализа и оценки органов и тканей животных в области доклинических исследований лекарственных препаратов.

Ключевые слова: доклинические исследования, компьютерная томография, лабораторные животные.

ВВЕДЕНИЕ

Компьютерная томография — метод неразрушающего послойного исследования внутренней структуры объекта, основанный на измерении и сложной компьютерной обработке разности ослабления рентгеновского излучения различными по плотности тканями. Метод был предложен в 1972 году Годфри Хаунсфил-

дом и Алланом Кормаком, удостоенными за эту разработку Нобелевской премии. Метод аналогичен медицинской томографии, но обладает значительно более высоким пространственным разрешением.

В современной научно-исследовательской и медицинской практике методы компьютерной томографии (КТ) вызывают все больший интерес как у врачей кли-

нистов, работающих с пациентами, так и у специалистов, занимающихся вопросами морфологии человека и животных в норме и при различных патологиях. Высокая востребованность КТ объясняется, прежде всего, ее преимуществами по отношению к традиционным инструментальным диагностическим методам исследования, таким как эндоскопия, ультразвуковое исследование (УЗИ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и ангиография (МРА), что позволяет применять КТ в качестве одного из основных методов при комплексной оценке поврежденных органов и тканей. К числу преимуществ КТ следует отнести неинвазивность метода, отсутствие применения контрастного вещества (за исключением высоко-разрешающего имиджинга), скорость выполнения исследования, диагностическую точность, возможность визуализации всей внутренней трехмерной структуры объекта с полным сохранением образца для других видов исследований [24,25].

Несмотря на то, что основной областью применения КТ является изучение костной или кальцифицированной ткани, хрящевой ткани и скелетных мышц [20, 21,22,30], в литературе неуклонно возрастает количество работ, посвященных применению КТ для визуализации поврежденных мягких тканей [13,25]. С практической точки зрения КТ является атравматичной и успешно применяется при диагностике сосудистых патологий, тогда как стандартная ангиография имеет ряд недостатков, в частности необходимость пункции магистральных артерий, что увеличивает риск геморрагических осложнений в раннем послеоперационном периоде на фоне агрессивной терапии антикоагулянтами [2,14]. КТ успешно применяется при дифференциальной диагностике васкулитов и вазоспазмов [13], тромбоза и эмболии сосудов [2]. В то же время при помощи КТ визуализируются такие признаки ишемии кишечника, как дилатиро-

ванные кишечные петли, диффузное или локальное утолщение стенки кишки, асцит, отек брыжейки, инфаркты печени, селезенки, плевральный выпот [7,14,29]. Широкое применение методы КТ нашли в диагностике послеоперационных повреждений миокарда [17]. Согласно данным Кудрявцевой Ю.А. и соавторов за грудные экстраперикардальные спайки четко визуализировались как на изображениях РКТ (рентгеновской компьютерной томографии), так и на изображениях МРТ [3].

Вместе с тем, КТ не всегда обладает высокой чувствительностью и нередко характеризуется довольно низкой специфичностью при оценке признаков ишемических повреждений органов [23], а также обладает более низким разрешением по сравнению с МРТ и методами оптического имиджинга [4], что связано, прежде всего, с техническими характеристиками используемого оборудования.

Таким образом, методы КТ имеют важное диагностическое значение не только для практической гуманной и ветеринарной медицины, но и в сфере доклинических и токсикологических исследований лекарственных препаратов, в связи с чем, в настоящей работе освещены некоторые аспекты применения КТ при моделировании и изучении патологий лабораторных животных.

Применение КТ при изучении органов животных

Очевидно, что КТ органов и тканей экспериментальных животных представляет собой одно из наиболее перспективных направлений инструментальной диагностики как с точки зрения получения более полной картины патологии, так и с позиций гуманного обращения с животными [5]. КТ позволяет проводить прижизненную оценку патологических очагов, изучить динамику развития патологии и эффективности лечения без необходимости эвтаназии животных на всех интересующих контрольных точках экспе-

римента [12]. В то же время, применение КТ значительно расширяет представления о локализации тех или иных патологических очагов, степени их выраженности и патогенезе заболевания [8].

Разработчиками и компаниями производителями, такими как SkyScan, Hitachi, Philips, Bruker и др. представлен большой спектр компьютерных томографов для исследований *in vivo* органов мелких лабораторных животных с высоким разрешением. Система физиологического мониторинга обеспечивает синхронизацию сканирования с дыханием и сердцебиением животных для получения более четких изображений и объемной реконструкции. Некоторые томографы, например LCT-200 (Hitachi) позволяют проводить количественный анализ изолированных костей, а также определять содержание жира в теле животных. Современные разработки Bruker позволяют проводить изучение фармакодинамики *in vivo*, визуализацию биолюминесценции и биохимических изменений в живых клетках животных в режиме реального времени, скрининг PET (positron emission tomography) и SPECTsingle photonemission computed tomography) проб, использование, разработку и валидацию проб и биомаркеров, слежение за миграцией клеток *in vitro* и *in vivo*.

Наиболее распространенным методом диагностики состояния органов лабораторных животных, обладающим высоким разрешением и дающим положительные результаты является микро-компьютерная томография (микро-КТ) [10]. Данный метод относится к КТ, которая проводится на лабораторных животных практически на микроскопическом уровне, что сопоставимо с достигаемыми результатами клинической КТ у человека [18,19].

Микро-КТ в настоящее время широко используется для оценки костных патологий животных, болезней сосудов и легких (рис. 1). В работах Kinney J.H. и соавторов микро-КТ применялось для изучения архитектоники трубчатой кости на модели остеопороза у крыс в естественных условиях [16]. Описаны возможности применения микро-КТ при мониторинге состояния губчатой кости тазовых конечностей беременных самок крыс [11], причем данные гистоморфометрии, полученные на основании КТ хорошо согласовались с данными, полученными традици-

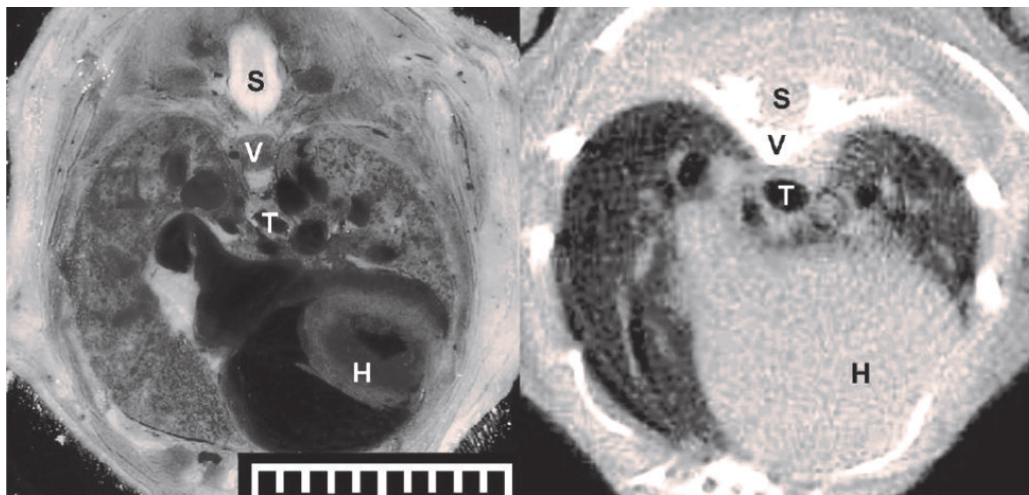


Рис. 1. Соотношение осевой гистопатологической блок-секции и микро-КТ изображения здоровой мыши. Н - сердце, Т - трахея, V - грудной позвонок, S - спинной мозг. Шкала слева 1 см с шагом 1 мм [10].

онными гистологическими методами на тех же образцах.

Сравнительные исследования изображений КТ, секционного материала и гистологических срезов во многих случаях показывают практически полное соответствие получаемых результатов [15]. Такие данные освещены, в частности, в работах, посвященных изучению опухолевых очагов в легких лабораторных крыс и мышей с применением микро-КТ для обнаружения опухолей легких у живых грызунов на ранней и более поздней стадиях развития [9,10]. Оценка опухолевого роста с применением КТ является востребованной по ряду причин. Известно, что некоторые модели рака изучаются на грызунах и используются в основном для оценки терапевтических методик, в том числе иммунотерапии, химио- и лучевой терапии. На сегодняшний день, большинство моделей ориентированы на измерения размеров внешних опухолей, локализующихся подкожно, или на гистологический анализ срезов ткани эвтаназированных

животных для контроля роста опухоли [9]. Тем не менее, важным остается вопрос о времени «убийства» опухолевых клеток до того как биологические процессы приведут к образованию некротических повреждений в опухолевом очаге. Таким образом, в современной доклинической практике все более широкое применение находят модели опухолей легких, диагностируемых, в том числе, методами КТ [27]. Исследователями отмечено, что сочетание высокого разрешения КТ-изображений, снижение стробирования и значительная инфляция легочной ткани приводит к увеличению контраста и, следовательно, заметно улучшают качество кадров, что хорошо подходит для серийного сканирования органа и визуализации опухолевых очагов размером порядка 1 мм и более [10]. Согласно данным Kennel S.J. и соавторов (2000) КТ оказалась наиболее информативной для обнаружения у мышей опухолей легких, расположенных в грудной полости и менее полезной для выявления опухолей, локализованных на

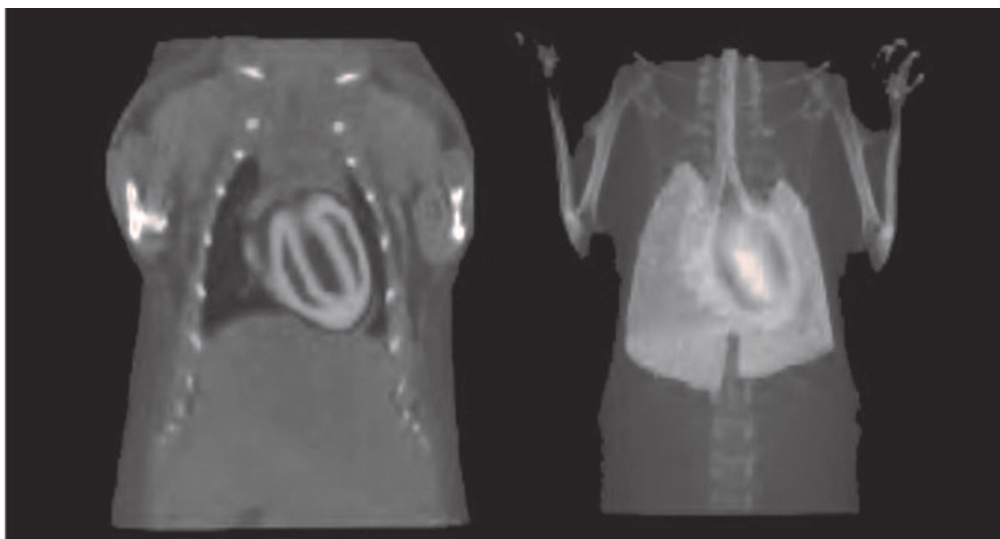


Рис. 2. Позитронно-эмиссионная КТ левого желудочка сердца крысы. Реагент – фтордезоксиглюкоза. Изображение заимствовано из каталога оборудования для КТ фирмы Hitachi. Данные предоставлены Department of Nuclear Medicine and Tracer Kinetics, Osaka University Graduate School of Medicine

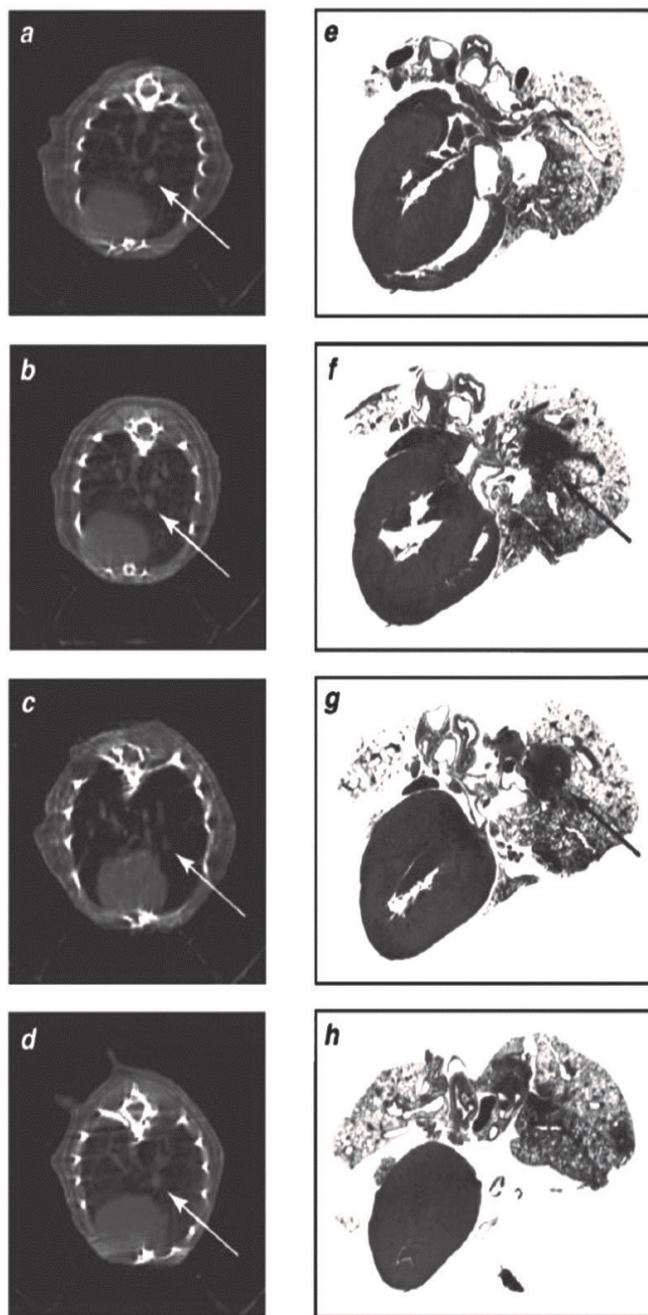


Рис. 3. Серийные КТ изображения органов грудной полости мыши с множественными опухолевыми очагами в легких. Соответствие КТ снимков и полученных от данного животного гистологических срезов (микрофотографий) [15].

серозных поверхностях (рис. 3). В целом, КТ-изображения живых животных показали опухоли в 2/3 случаев, выявленных в гистологических серийных срезах, что вероятно было связано с очаговым отеком легких, характеризующимся также более высокой плотностью на КТ-снимках [15].

Уникальные результаты получены при применении КТ в части высокоразрешающего имиджинга (рис. 2), получающего все большее распространение, как при *ex vivo*, так и при *in vivo* исследованиях в области изучения стволовых клеток, онкологии, неврологии и кардиологии [26, 28]. Прижизненная визуализация, характеристика и количественная оценка клеточного метаболизма, возможная в рамках высокоразрешающего имиджинга, позволяет исследовать структурно-функциональные нарушения, лежащие в основе заболеваний, индивидуализировать диагностику и контроль лечения, разрабатывать эффективные методы тестирования новых лекарств [31]. Наряду с МРТ и оптическим имиджингом к числу данных методов относят также методы радионуклидного имиджинга: однофотонную эмиссионную КТ (ОЭКТ, SPECT) и позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ, PET) [6]. В основе указанных методов лежит возможность при помощи специального детектирующего оборудования от-

слеживать распределение в организме радиоактивно меченых биологически активных соединений, которые позволяют изучать такие процессы, как метаболизм, транспорт веществ, лиганд-рецепторные взаимодействия, экспрессию генов. Данные методы имеют очень высокую чувствительность ($<10^{-9}$ М) и способны визуализировать биологически активные соединения при очень низких концентрациях [4]. В частности, при моделировании хронической обструктивной болезни легких у крыс была проведена перфузионная сцинтиграфия с радионуклидным анализом на однофонно-эмиссионном КТ, показавшем высокоинформативные результаты [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компьютерная томография (КТ) органов и тканей лабораторных животных стоит в одном ряду с наиболее информативными и достоверными методами прижизненной инструментальной диагностики патологий, позволяющими получать достоверные данные, соотносящиеся с результатами общепринятых морфологических методов исследования, в режиме реального времени. Применение КТ показывает положительные результаты при диагностике патологических состояний опорно-двигательного аппарата, сосудов, опухолевых процессов у лабораторных животных. К числу преимуществ КТ следует отнести неинвазивность метода, отсутствие применения контрастного вещества (за исключением высокоразрешающего имиджинга), скорость выполнения исследования, диагностическую точность, возможность визуализации всей внутренней трехмерной структуры объекта с полным сохранением образца для других видов исследований. Применение КТ позволяет проводить изучение фармакодинамики *in vivo*, визуализацию биoluminesценции и биохимических изменений в живых клетках животных, морфометрические исследования, скрининг ПЕТ и

SPECT проб, использование, разработку и валидацию проб и биомаркеров, слежение за миграцией клеток *in vitro* и *in vivo*, что позволяет рекомендовать КТ в качестве одного из основных методов морфологического анализа и оценки органов и тканей животных в области доклинических исследований лекарственных препаратов.

Using the CT scan for assessment of organs and tissues of laboratory animals.

A. Muzihikyan., M. Makarova.

ABSTRACT

Computed tomography (CT) of organs and tissues of the experimental animals is one of the most promising diagnostic tool both in terms of a more complete picture of the disease, and from the standpoint of the humane treatment of animals. CT allows evaluation of intravital lesions, to study the dynamics of the disease and the effectiveness of treatment without the need euthanasia of animals at all interested in the control points of the experiment. At the same time, the use of CT greatly enhances understanding of the localization of various lesions, their degree of severity and pathogenesis of the disease allows to obtain reliable data, correlated with the results of conventional morphological studies in real-time. The use of CT shows positive results in the diagnosis of pathological conditions of the musculoskeletal system, blood vessels, tumor processes in laboratory animals. The advantages of CT should include non-invasive methods, the lack of use of a contrast agent (except for high-resolution imaging), the speed of research, diagnostic accuracy, the ability to visualize the entire internal three-dimensional structure of an object with full model for other types of research. The use of CT allows the study of pharmacodynamics *in vivo*, imaging bioluminescence and biochemical changes in living cells of animals, morphometric studies, screening of PET and SPECT probes, use, development and validation samples and biomarker monitoring of cell migration *in vitro* and *in vivo*, which can

be recommended CT as a basic morphological analysis and evaluation of organs and tissues of animals in preclinical studies of drugs.

Key words: pre-clinical study, CT scan, laboratory animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Золотницкая В.П., Лебедева Е.С., Амосов В.И., Шумилов А.А. Клинико-экспериментальные параллели в оценке нарушений кровообращения при хронической обструктивной болезни легких // REJR. -2013. -№3. -С. 19-26
2. Кононенко Н.Г., Степанченко А.М., Кашенко Л.Г. и соавт. Возможности диагностики и лечения больных острыми нарушениями мезентериального кровообращения // Мат. Междунар. хирургического конгр. "Новые технологии в медицине". - Ростов-на-Дону. -2005. -380с.
3. Кудрявцева Ю.А., Насонова М.В., Журявлева И.Ю. Послеоперационные спайки в кардиохирургии: проблемы и решения // Патология кровообращения и кардиохирургия. -2011. -№1. -С. 100-104.
4. Мелешина А.В., Черкасова Е.И., Сергеева Е.А. и др. Исследование взаимодействия мезенхимных клеток и опухоли методами флюоресцентного биоимиджинга // Современные технологии в медицине. -2012. -№4. -С. 7-16
5. Рыбакова А.В., Макарова М.Н. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с европейской директивой 2010/63 // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№2. -С. 96-107.
6. Berard P., Pepin C.M., Rouleau D., Cadorette J., Lecomte R. CT acquisition using PET detectors and electronics. -2005. - Vol.52. -637p.
7. Bower T.C. Acute and chronic arterial mesenteric ischemia. // Comprehensive vascular and endovascular surgery. -Mosby. - 2004. -P. 285 - 292.
8. Boyde A., De Clerck N.M., Sasov A. MicroCT of bones and soft tissues. // Microscopy Anal. -2000. -№76. -70p.
9. Carreira M.J., Cabello D., Penedo M.G., Mosquera A. High resolution computed tomography and MRI for monitoring lung tumor growth in mice undergoing radioimmunotherapy: Correlation with histology. // Am. Assoc. Phys. Med.-2000. -Vol.27. -№5. -P.1101 - 1107.
10. Cavanaugh D., Johnson E., Price R.E., Kurie J., Travis E.L., Cody D.D. In Vivo respiratory-gated micro-CT imaging in small -animal oncology models. // Molecular Imaging . - 2004. -Vol. 3. -№1. -P.55 - 62.
11. David V., Laroche N., Boudignon B., Lafage-Proust M.H., Alexandre C., Ruegsegger P., Vico L. Noninvasive in vivo monitoring of bone architecture alterations in hindlimb-unloaded female rats using novel three-dimensional microcomputed tomography. // J. Bone Miner. Res. -2003. - Vol.18. -P.1622 - 1631.
12. De Clerck N.M., Van Dyck D., Postnov A.A. Non-invasive highresolution mCT of the inner structure of living animals. // Microsc. Anal. -2003. -Vol.81. -P.13 - 15.
13. Hatipoglu A., Koyuturc I. Serum levels of inorganic phosphorus and creatinin kinase in experimental occlusion of mesenteric artery. // Turkish J. of Sur. -1999. -Vol.15. - P. 348 -355.
14. Horton K.M., Fishman E.K. Computed tomography evaluation of intestinal ischemia. // Semin. Roentgenol. -2001. -Vol.36. P.118 -125.
15. Kennel S.J., Davis I.A., Branning J., Pan H., Kabalka G.W., Paulus M.J. High resolution computed tomography and MRI for monitoring lung tumor growth in mice undergoing radioimmunotherapy: Correlation with histology. // Med. Phys. -2000. - Vol.27. -P.1101-1107.
16. Kinney J.H., Lane N.E., Haupt D.L. In vivo, three-dimensional microscopy of trabecular bone. // J. Bone. Miner. Res. -1995. - Vol.10. -P.264 -270.
17. Lopes J., Dallan L.A., Moreira L.F., Carreiro M.C., Rodrigues F.L., Mendes Pde C., Stolf N.A. New quantitative variables to

- measure postoperative pericardial adhesions. Useful tools in experimental research // *Vestnil.* -2009. -Vol.4. -P.91-148.
18. Paulus M.J., Gleason S.S., Easterly M.E., Foltz C.J. A review of high-resolution X-ray computed tomography and other imaging modalities for small animal research. // *Lab. Anim.* -2001. -Vol.30. -P.36-45.
19. Paulus M.J., Gleason S.S., Kennel S.J., Hunsicker P.R., Johnson D.K.. High resolution X-ray computed tomography: An emerging tool for small animal cancer research. // *Neoplasia.* -2000. -Vol.2. -P.62-70.
20. Postnov A.A., De Clerck N.M., Sasov A., and Van Dyck D. 3D in vivo X-ray microtomography of living snails. // *J. Microsc.* -2002. -Vol.205. -№2. -P.201-205.
21. Postnov A.A., Van Dyck D., Saveliev S., Saso A., De Clerck N.M. Definition of local density in biological calcified tissues using X-ray microtomography. *Progress in biomedical optics and imaging.* // *Proc. SPIE.* -2002. -Vol.3. -№19. -P.749-755.
22. Postnov A.A., Vinogradov A., Van Dyck D., Saveliev S.V., De Clerck N.M. Quantitative analysis of bone mineral content by X-ray microtomography. // *Physiol. Meas.* -2003. -Vol.24. -№1. -P.165-178.
23. Rha S.E., Ha H.K., Lee S.H. et al. CT and MR imaging findings of bowel ischemia from various primary causes. // *Radiographics.* -2000. -Vol.20. -P. 29-42.
24. Shih M.C., Angle J.F., Leung D.A. et al. CTA and MRA in mesenteric ischemia: part 2, Normal findings and complications after surgical and endovascular treatment. // *Am. J. Roentgenol.* -2007. -Vol.188. -№2. -P. 462-471.
25. Smerud M.J., Johnson C.D., Stephens D.H. Diagnosis of bowel infarction: a comparison of plain films and CT scans in 23 cases. // *Am. J. Roentgenol.* -1990. -Vol. 154. -P. 99-103.
26. Solomon M., Liu Y., Berezin M.Y., Achilefu S. Optical imaging in cancer research: basic principles, tumor detection, and therapeutic monitoring. // *Med. Princ. Pract.* -2011. -Vol.20. -№5. -P. 397-415.
27. Stoner G. Lung tumors in strain A mice as a bioassay for carcinogenicity of environmental chemicals. // *Exp. Lung. Res.* -1992. -Vol.17. -P.405-423.
28. Subramanian S., Jaffer F.A., Tawakol A. (2010). Optical molecular imaging in atherosclerosis. // *J. Nucl. Cardiol.* -2010. -Vol.17. -№1. -P.135-144.
29. Van Beers B.E., Danse E.M. Vascular lesions of the liver and gastrointestinal tract. // *Acta Gastroenterol. Belg.* -2002. -Vol.65. -№ 4. -P. 226-229.
30. Waarsing J.H., Day J.S., van der Linde J.C., Ederveen A.G., Spanjers C., De Clerck N.M., Sasov A., Weinans H. (2003). Detecting and tracking local changes in the tibiae of individual rats: a novel method to analyse longitudinal in vivo micro-CT data. *Bone XX Q3, X-XX* (in press).
31. Weissleder R., Mahmood U. Molecular Imaging. // *Radiology.* 2001. -Vol.219. -№2. -P.316-33.

САНИТАРНЫЙ КОНТРОЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КЛИНИК (ВИВАРИЕВ) В СООТВЕТСТВИИ С ЛОКАЛЬНЫМИ И МЕЖДУНАРОДНЫМИ ТРЕБОВАНИЯМИ

Рыбакова А.В. - к.в.н., Макарова М.Н. - д.м.н., профессор
ЗАО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»



РЕФЕРАТ

В соответствии со стратегией развития фармацевтической промышленности на период до 2020 года, сделан акцент на разработку отечественных лекарственных препаратов, как для медицины, так и для ветеринарии. Неотъемлемой частью внедрения новых лекарственных препаратов является проведение доклинических исследований, с использованием биологических тест-систем. Для проведения такого рода исследований необходим виварий, построенный и работающий на основании действующих стандартов, как локальных, так и международных. Соблюдение стандартов позволяет получать достоверные результаты исследований, на здоровом поголовье лабораторных животных, а также обеспечивает надлежащие условия труда и здоровье сотрудников. В настоящем обзоре рассмотрены основные аспекты действующих нормативных актов, а также представлен собственный опыт в этой области. Представлены практические аспекты отбора и обучения персонала работе в виварии, с лабораторными животными, с соблюдением этических принципов, а также с позиций соблюдения санитарно-гигиенических норм. Рассмотрены возможные регламенты по обеспечению санитарного состояния помещений – планирование, выполнение, контроль, с использованием высокотехнологичных экспресс-методов.

Ключевые слова: санитарный контроль, доклинические исследования, виварий, лабораторные животные.

ВВЕДЕНИЕ

Доклинические исследования с использованием лабораторных животных является одним из ведущих методов для определения безопасности и эффективности лекарственных препаратов, как для медицины, так и для ветеринарии.

Утвержденная Правительством России «Стратегия развития фармацевтической промышленности на период до 2020 года» предполагает переход на инновационную модель развития фармацевтической промышленности, что заявлено в целях проекта. В данном документе, наряду с переходом на использование отечественных воспроизведенных (дженерических)

лекарственных препаратов (ЛП), сделан акцент на применение инновационных лекарственных средств (ЛС). Программа призвана стимулировать разработки и производство инновационных лекарственных препаратов [1].

Также в соответствии с поручением Правительства Российской Федерации в «Стратегию» вошел перечень МНН (международных непатентованных наименований) лекарственных средств, не производящихся на территории Российской Федерации, производство которых должно быть налажено в стране [1].

Введение инновационного и дженерического продукта связано с проведением

доклинических и клинических исследований. Доклинические исследования проводятся с использованием лабораторных животных, в специализированных экспериментальных клиниках (вивариях).

В соответствии с международными и российскими требованиями GLP основной составляющей частью испытательного центра является виварий (vivarium) - место содержания и/или разведения, осуществляемое в соответствии с правовыми нормами использования животных при проведении доклинических исследований [2].

Одна из проблем российских центров доклинических исследований является отсутствие надлежащего материально-технического обеспечения для проведения доклинических исследований, то есть действующего вивария, соответствующего современным требованиям.

Лабораторные животные в процессе жизнедеятельности в виварии контактируют с различными элементами окружающей среды: с воздухом, кормом, с рабочими поверхностями, клетками, подстилом, кормами, элементами обогащения среды, персоналом.

Персонал

При размещении вивария в лабораторном корпусе организации помещения вивария изолируются от помещений иного назначения, в том числе административных и бытовых помещений организации. Виварий оборудуется отдельным входом и системой контроля доступа. Доступ посторонним лицам должен быть запрещен.

Руководитель вивария несет ответственность за прием на работу лиц, имеющих допуск к работе по состоянию здоровья. Все принимаемые на работу с лабораторными животными лица должны пройти медицинское обследование, включающее исследование на бациллоносительство возбудителей туберкулеза и всей группы кишечных инфекций. Больные туберкулезом, венерическими заболеваниями,

кожными и др. заразными заболеваниями к работе в виварии не допускаются. В соответствии с приказом Минздравсоцразвития РФ от 12 апреля 2011 г. N 302н «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда», все сотрудники вивария не реже чем один раз в год должны проходить медицинский осмотр.

Личная гигиена сотрудников вивария является чрезвычайно важным аспектом для надлежащего содержания и ухода за лабораторными животными. В связи с этим при проектировании вивария необходимо выделить достаточно большое место для санитарно-гигиенического блока персонала. Персонал должен иметь зону для смены повседневной одежды на рабочую. В связи с этим необходимо использовать душевые или воздушные шлюзы, для снижения риска контаминации и занесения новых микроорганизмов и вирусов. Дополнительно, прием душа в конце рабочего дня снижает риск приноса зоонозных инфекций домой. Особое внимание следует уделить дизайну помещений и грамотной расстановке мебели, важно создать комфортные условия для работы людей.

Спецодежда, используемая сотрудниками для работы в виварии не должна, выноситься сотрудниками из здания вивария. Для стирки или химической чистки необходимо предусмотреть прачечную, при отсутствии возможности разместить на данных площадях данного отделения необходимо заключить договорные взаимоотношения с фирмой по оказанию та-

кого вида услуг. Сотрудником ответственным за дезинфекцию оформляется журнал «Журнал сдачи спецодежды в химчистку», в котором указано когда и сколько комплектов спецодежды сдано.

Большое значение необходимо уделить безопасности персонала внутри помещений содержания животных. В помещениях вивария должны быть созданы условия для мытья рук персонала. Около раковин для мытья рук, в том числе в туалетах, должны быть постоянно мыло, дезинфицирующие средства для обработки кожных покровов и одноразовые бумажные салфетки. В соответствии с Санитарными правилами по устройству, оборудованию, и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (СП 2.2.1.3218-14) п. 4.11. помещения операционной, диагностической, по содержанию животных, для приготовления кормов, мойки и дезинфекции оборудования и инвентаря обеспечиваются дезинфицирующими растворами для обеззараживания рук с указанием срока изготовления дезинфицирующего раствора и окончания срока годности.

Персонал для повседневной работы должен использовать средства индивидуальной защиты (лицевые щитки, перчатки, маски и т.д.), которые должны быть в свободном доступе в каждом помещении.

Персонал, вовлеченный в работу вивария, должен проходить систематические тренинги, с последующим контролем знаний. Обучение направлено на информирование сотрудников о правилах работы в виварии, с гуманными принципами работы с лабораторными животными. Сотрудники должны быть ознакомлены с рисками возникновения инфекционных и аллергических реакций при несоблюдении правил внутреннего распорядка.

В соответствии с СП 2.2.1.3218-14 п. 1.4. Организация вивария должна быть согласована с органами санитарно-эпидемиологической и ветеринарно-

санитарной служб по месту размещения учреждений. В последующем эти органы должны осуществлять надзор за эксплуатацией и санитарным состоянием вивариев.

Надлежащее санитарное состояние помещений и инвентаря является наиболее важным и значимым аспектом в работе вивария. Контроль за санитарным состоянием необходимо осуществлять на всех точках ежедневной работы. Надлежащее санитарное состояние включает в себя мероприятия по дератизации, дезинсекции и дезинфекции, проводятся как собственными силами (внутренняя) так при участии сторонних организаций имеющих разрешение на данные виды деятельности (внешняя). Для четкой и координированной работы должен быть составлен план уборки и дезинфекции помещений. Примерный план отображен в таблице 1. В соответствии с п. 2.6.4. СП 2.2.1.3218-14 применяемые методы и режимы дезинфекции оборудования, инвентаря и материалов должны соответствовать требованиям санитарно-эпидемиологической безопасности и не оказывать влияния на результаты проводимых экспериментов. Пункт 4.6. СП 2.2.1.3218-14 описывает, что уборка всех помещений вивария производится ежедневно с применением моющих и дезинфицирующих средств.

Для организации четкой работы необходимо составить план мероприятий по проведению уборки и дезинфекции помещений вивария, в котором будет прописано время и ответственные лица, которые будут выполнять работу. Дополнительно, необходимо обратить внимание на отсутствие пересечения потоков. После проведения работ, сотруднику необходимо заполнить журнал или лист учета, в котором будут отражены проведенные манипуляции и будут стоять подписи выполнившего и проверившего.

Подробный порядок проведения чист-

Таблица 1

План проведения уборки и дезинфекции помещений вивария

Частота	Наименование помещений	Проводимые манипуляции
ежедневно	- комнаты содержания животных - душевые для персонала - комнаты переодевания - офисы - лаборатории, коридоры	- удаление мусора - обработка рабочих поверхностей и пола
еженедельно	- комнаты содержания животных - душевые для персонала - комнаты переодевания - офисы, столовую - лаборатории, коридоры	- дезинфекция
ежемесячно	- системы кондиционирования - замена ветоши для уборки	- чистка, дезинфекция, замена

ки и дезинфекции должен быть оформлен в виде стандартной операционной процедуры (СОП), где должны быть отражены пошаговые действия для сотрудника с четким указанием, как приготовить рабочий раствор дезинфицирующего средства, какова должна быть его концентрация, какой инвентарь должен использоваться при работе, описаны дальнейшие действия с инвентарем, последовательность действий. Дополнительно, эту информацию необходимо продублировать в инструкции, которая будет находиться на рабочем месте сотрудника, который будет выполнять приготовление рабочих растворов дезинфицирующих средств и уборку.

Для контроля расходования дезинфицирующих средств необходимо вести «Журнал учета расхода дезинфицирующих средств», где ответственное лицо за дезинфекцию в виварии должно учитывать, сколько потрачено дезинфицирующих средств и сколько рабочего раствора дезинфицирующего средства приготовлено.

Чистящие материалы и оборудование, используемое для уборки помещений не должны храниться в коридорах. Для уборки помещений содержания животных должен использоваться инвентарь, строго закрепленный за помещением, которое

запрещено перемещать из одного помещения в другое. Моющие средства и оборудование должны быть промаркированы и храниться в шкафах или в отдельной зоне.

Оценка эффективности санитарно-гигиенических мероприятий

Оценка эффективности выполнения программы санитарно-гигиенических мероприятий является частью повседневного контроля.

Контроль (мониторинг) — это запланированная последовательность наблюдений или измерений, которая необходима для гарантии:

- а) соответствие проводимых мероприятий
- б) четкое соблюдение временных рамок проведения контроля.

Верификация программы — это применение данных методов в течение продолжительного периода времени для определения ее соответствия требованиям программы санитарной обработки.

Для составления плана мониторинга необходимо проанализировать и учесть все риски, которые возникают в ходе работ, на основании, этого необходимо составить план с подробным указанием мест максимального риска, для выполнения адекватного контроля.

После выполнения и получения ре-

зультатов мониторинга необходимо провести ретроспективный анализ эффективности, который должен включать не только оценку эффективности, но например информацию об отсутствии аллергических реакций у персонала на используемое дезинфицирующее средство.

Мониторинг программы санитарной обработки осуществляется с помощью гигиенических методов контроля (физических, органолептических и химических экспресс - методов). Процедуры микробиологической проверки не настолько быстры, чтобы использовать их для мониторинга рутинных процессов [5].

В соответствии с пунктом 3.8. СП 2.2.1.3218-14 виварии должны обеспечиваться специальным оборудованием для дезинфекции клеток, инвентаря, оборудования, а также условиями для сбора, хранения, удаления (утилизации) отходов и трупов животных. Пункт 4.3. СП 2.2.1.3218-14 мойка и дезинфекция клеток, кормушек, поилок и другого инвентаря производится работниками вивария в помещении (отделении) для мойки и дезинфекции оборудования и инвентаря с применением моющих и дезинфицирующих средств.

Для оценки эффективности дезинфекции можно использовать несколько методов.

Визуальная оценка

Визуальная оценка обычно выполняется после каждого этапа программы санитарных мероприятий и включает визуальный контроль поверхностей при хорошем освещении, определение запаха, остатков различных следов загрязнений.

Гигиенические экспресс-методы — это методы мониторинга, дающие результат достаточно быстро, так, чтобы их можно было использовать для контроля технологических процессов (обычно в пределах около 10 мин).

Биологические индикаторы.

Биологические индикаторы (биоинди-

каторы) предназначены для подтверждения эффективности процесса стерилизации. Биоиндикатор представляет собой носитель (герметично укупоренный стеклянный или пластиковый флакон, пробирку, картридж, ампулу, или фильтровальную бумагу), в который помещен штамм контрольных микроорганизмов. Сам носитель должен быть инертным. Требования к биоиндикаторам установлены Европейской фармакопеей и стандартами серии ГОСТ Р ИСО 11138. Для каждого типа процессов стерилизации (паром, сухим жаром и пр.) выбирается вид микроорганизмов, наиболее устойчивый к данному процессу стерилизации. Таким образом, обеспечивается выполнение условий наихудшего случая для испытаний с помощью биоиндикаторов. Биоиндикаторы должны быть стандартными. Это означает, что биоиндикатор должен содержать строго определенное количество спор микроорганизмов данного вида в стандартно исполненной упаковке (носителе). Эта упаковка должна предохранять споры от внешних воздействий до использования биоиндикатора по назначению и обеспечивать контакт микроорганизмов со стерилизующим агентом. Упаковка должна сохранять свойства биоиндикатора неизменными в течение заданного срока хранения. Для оценки эффективности стерилизации биоиндикаторы следует помещать в точки, в которых условия стерилизации являются наихудшими. Эти точки должны быть определены при испытаниях процесса стерилизации. Если после инкубации наблюдается рост микроорганизмов, то режим стерилизации неэффективен, о чем можно судить по изменению цвета биоиндикатора. При росте микроорганизмов цвет биоиндикатора меняется от насыщенного голубого до ярко-желтого.

Требования к микроорганизмам, входящим в биоиндикатор: – устойчивость штамма к данному методу стерилизации

по сравнению с другими микроорганизмами, которые могут попасть в продукт; – отсутствие патогенности; – легкость культивирования.

Биоиндикаторы являются дополнительным средством подтверждения эффективности стерилизации как при проведении испытаний, так и в серийном производстве. Они не отменяют необходимость проведения полного цикла испытаний с анализом физических параметров и регистрации параметров при текущем контроле процесса стерилизации [3].

Биолюминесценция

Наиболее популярный и распространенный экспресс-метод гигиенического мониторинга основан на определении аденозинтрифосфата с помощью биолюминесценции (обычно его называют АТФ-тестированием). АТФ присутствует во всех живых организмах, включая микроорганизмы (микробная АТФ), в различных пищевых продуктах и может также присутствовать в виде свободной АТФ (немикробная АТФ). Система биолюминесцентного определения основана на реакции вещества, выделяемого из брюшка североамериканского светляка *Photinus pyralis*, протекающей с испусканием света. В этой реакции свет испускается при взаимодействии люциферина и люциферазы в присутствии АТФ. Для каждой присутствующей молекулы АТФ испускается один фотон. Фотоны обнаруживаются с помощью люминометра и записываются в относительных световых единицах (RLU). Реакция протекает очень быстро, и результаты могут быть получены через считанные секунды после помещения анализируемой пробы в люминометр. Результат (количество излученного света) непосредственно связан с уровнем присутствующих в пробе микробной и немикробной АТФ, и его зачастую называют «гигиеническим состоянием пробы».

АТФ около 15 лет успешно применяется для контроля гигиенического состоя-

ния поверхностей. Можно различить измерение микробной и немикробной АТФ, но в подавляющем большинстве случаев предпочтительнее измерять общую АТФ (микробную и немикробную). Большие количества АТФ, присутствующего на поверхности после очистки и дезинфекции (независимо от его источника) — это признак плохой очистки, и, следовательно, риска загрязнения (от микроорганизмов или материалов, которые могут способствовать их росту) [5].

Биуретовая проба

Белковые гигиенические тесты были усовершенствованы и недавно предложены в виде комплекта для гигиенического контроля. Этот тест определяет присутствие белка на поверхности с помощью усовершенствованной биуретовой пробы, дающей изменение цвета от зеленого до пурпурного. Оцениваемую поверхность протирают тампоном, который затем помещают в пробирку с жидкостью для получения суспензии, в которой присутствуют реагенты, необходимые для запуска биуретовой реакции. Через десять минут цветовые изменения сравнивают с поставленной в комплекте с прибором цветной таблицей; и интенсивность цветовых изменений используется как индикатор гигиенического состояния поверхности.

Цветовые индикаторы

Для проведения химического контроля на протяжении десятилетий применялись химические вещества, имеющие температуру плавления, близкую к температуре стерилизации. Такими веществами были: бензойная кислота - для паровой стерилизации; сахараза, гидрохинон и некоторые другие - для контроля воздушной стерилизации. Если происходило расплавление и изменение цвета указанных веществ, то результат стерилизации признавался удовлетворительным. Поскольку применение вышеуказанных индикаторов является недостаточно достоверным, в настоящее время внедрены в практику

контроля термических методов стерилизации химические индикаторы, цвет которых изменяется под воздействием температуры, адекватной для конкретного режима, для определенного времени, необходимого для реализации данного режима. По изменению окраски индикаторов судят об основных параметрах стерилизации - температуре и продолжительности стерилизации. С 2002 года в России введен в действие ГОСТ Р ИСО 11140-1 «Стерилизация медицинской продукции. Химические индикаторы. Общие требования», в котором химические индикаторы распределены на шесть классов:

К 1 классу отнесены индикаторы внешнего и внутреннего процесса, которые размещаются на наружной поверхности упаковки с медицинскими изделиями или внутри наборов инструментов и операционного белья. Изменение цвета индикатора указывает на то, что упаковка подверглась процессу стерилизации.

К 2 классу относят индикаторы, которые не контролируют параметры стерилизации, а предназначенные для применения в специальных тестах, например, на основании таких индикаторов оценивают эффективность работы вакуумного насоса и наличие воздуха в камере парового стерилизатора.

К 3 классу относятся индикаторы, при помощи которых определяется один параметр стерилизации, например, минимальная температура. Однако они не дают информации о времени воздействия температуры.

К 4 классу относят многопараметровые индикаторы, изменяющие цвет при воздействии нескольких параметров стерилизации.

К 5 классу относят интегрирующие индикаторы, реагирующие на все критические параметры метода стерилизации.

К 6 классу относят индикаторы-эмуляторы. Индикаторы откалиброваны по параметрам режимов стерилизации,

при которых они применяются. Эти индикаторы реагируют на все критические параметры метода стерилизации. Эмулирующие индикаторы являются наиболее современными. Они четко регистрируют качество стерилизации при правильном соотношении всех параметров - температуры, насыщенного пара, времени. При несоблюдении одного из критических параметров индикатор не срабатывает.

Оценку и учет результатов контроля проводят, оценивая изменения цвета начального состояния термоиндикаторной метки каждого индикатора, сравнивая с цветовой меткой Эталона сравнения. Если цвет конечного состояния термоиндикаторной метки всех индикаторов соответствует цветовой метке Эталона сравнения, это свидетельствует о соблюдении требуемых значений параметров режимов стерилизации в стерилизационной камере. Допускаются различия в интенсивности глубины окраски термоиндикаторной метки индикаторов, обусловленные неравномерностью допустимых значений температуры в различных зонах стерилизационной камеры. Если термоиндикаторная метка хотя бы одного индикатора полностью или частично сохранила цвет, легко отличимый от цвета эталонного состояния, это свидетельствует о несоблюдении требуемых значений параметров режимов стерилизации в стерилизационной камере. Индикаторы и Эталон сравнения должны совпадать по номерам партий. Запрещается оценивать результаты контроля стерилизации, используя индикаторы разных партий. Оценку соответствия изменения цвета термоиндикаторной метки в сравнении с Эталоном проводят при освещенности не менее 215 лк, что соответствует матовой лампе накаливания 40 Вт, с расстояния не более 25 см. Для проведения бактериологического контроля в настоящее время применяются биотесты, имеющие дозированное количество спор тест-культуры. Существующие

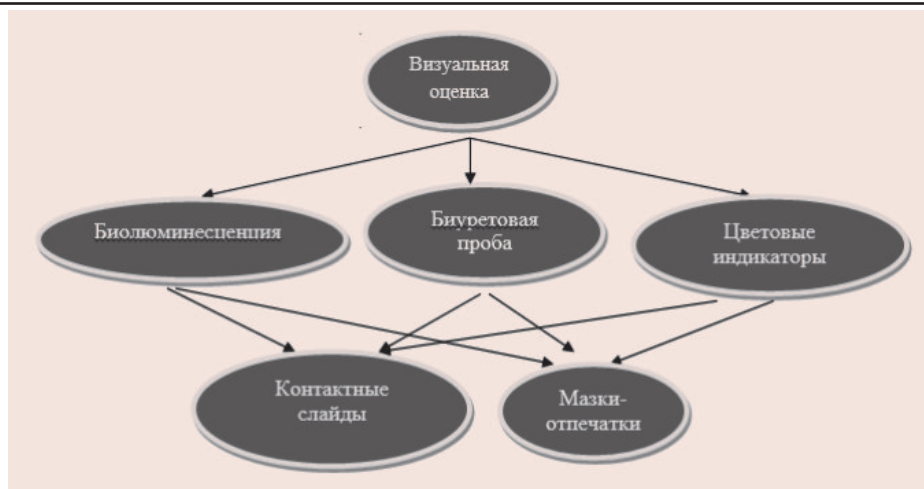


Рис.1. Алгоритм оценки эффективности дезинфекции

щая методика позволяет оценивать эффективность стерилизации не ранее чем через 48 часов, что не позволяет применять уже стерилизованные изделия до получения результатов бактериологического контроля.

Контактные слайды

Микробиологический контроль чистоты поверхности и жидкости проводится с помощью дипслайдов. Дипслайды (или контактные слайды) позволяют определять основные санитарно-значимые показатели - ОМЧ, энтеробактерии, колиформные бактерии, *Staphylococcus aureus*, дрожжи и плесневые грибы, листерии. Кроме того, с помощью дипслайдов возможно проведение контроля дезинфекции.

Дипслайд представляет собой пластинку, на которую с обеих сторон нанесен слой питательной среды (неселективной или селективной). Пластинки находятся в стерильных пробирках с крышками.

Мазки-отпечатки

Исследование методом проб отпечатков на тонкий слой плотной питательной среды. Метод отпечатков приемлем в условиях промышленного животноводства, на комплексах, птицефабриках, вивариях

и других объектах. Метод основан на использовании различных питательных сред для оценки роста микроорганизмов.

Валидация дезинфекции

Каждая процедура валидации оценки эффективности проводимых мероприятий должна быть документирована.

Процедуры валидации включают в себя:

а) оценку адекватности методов выделения микроорганизмов, если такое выделение является частью этих методов;

б) оценку адекватности методов определения числа выделяемых микроорганизмов, включая методы подсчета микроорганизмов и условий культивирования,

в) определение эффективности метода отбора с учетом рассчитанного корректирующего коэффициента.

Любое изменение применяемого метода подлежит анализу, который должен включать:

а) оценку изменения;

б) определение эффективности выделения микроорганизмов рассматриваемым методом. Примечание - Оценка изменения может означать, что предыдущая валидация и эффективность выявления до сих пор действительны.

Валидация и любые данные последую-

шей ревалидации должны периодически рассматриваться, объем ревалидации должен определяться и документироваться. Процедуры рассмотрения валидации и ревалидации должны документироваться, и протоколы ревалидации должны сохраняться.

Отчет о ревалидации подписывают те же лица (организации), которые готовили, рассматривали и принимали отчет о первичной валидации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современный виварий представляет собой не только набор помещений для содержания животных. Для работы вивария необходима разработка и внедрение ряда административных регламентов, менеджмент качества и осуществление постоянного контроля за выполнением тех или иных процедур.

Sanitary inspection of experimental clinic (vivarium) with using local and internation requirement.

A. Rybakova, M. Makarova.

ABSTRACT

In accordance with the strategy of development of the pharmaceutical industry for the period up to 2020, focuses on the development of domestic drugs for medical and veterinary. An integral part of the introduction of new medicines is to conduct pre-clinical studies, the use of biological test systems. To carry out this kind of research is needed vivarium, built and operated on the basis of existing standards, both local and international. Compliance with standards allows to obtain reliable results of research on animal health laboratory animals, as well as provide appropriate working conditions and health of employees. In this review the basic aspects of the existing regulations, and also presented its own experience in this field. Presents the practical aspects of selection and training of personnel to work in the vivarium, with laboratory animals, in compliance with ethical principles, as well as from the standpoint of compliance with hy-

giene standards. Possible regulations to ensure sanitary conditions of the premises - the planning, execution, control, using high-tech rapid methods.

Key words: sanitary control, preclinical research, vivarium, laboratory animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ «Об утверждении стратегии развития фармацевтической промышленности на период до 2020 г.». Министерство промышленности и торговли Российской Федерации. -М. -2009.
2. Меньшикова Л.А., Печенкина И.Г., Береза Н.С. Особенности доклинических исследований инновационных лекарственных препаратов (короткое сообщение) // НПЖ Разработка и регистрация лекарственных средств. -2013. - №1. -С.
3. Федотов Е.А. Методы стерилизации// Фармацевтические технологии и упаковка. -2014. - № 3.
4. Соколов Д.М., Соколов М.С. Экспресс-контроль гигиены на производстве // Молочная промышленность. -2012. - № 5. - С. 54-55.
5. Канунникова Е. Люминометр - определение качества гигиены за 30 секунд! // Молочная промышленность. -2008. -№ 10. -С. 89-90.
6. Мороз Б.Т., Мироненко О.В. Особенности дезинфекции и стерилизации в амбулаторной стоматологии. -СПб. -2008. - 128с.
7. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51 “Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)”

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕСТА «ПРИНУДИТЕЛЬНОЕ ПЛАВАНИЕ» ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ковалева М.А. - с.н.с., Макарова М.Н. – д.м.н., профессор,
Макаров В.Г. -д.м.н., профессор, Горячева М.А.
ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации»



РЕФЕРАТ

Представленный в статье литературный обзор содержит информацию о применении теста Портсолта при проведении доклинических исследований с целью выявления антидепрессантной и актопротекторной активности. Рассматриваются возможные модификации теста, отличия в методике выполнения, нацеленные на поиск наличия адаптогенной или антидепрессантной активности у тестируемого препарата. Описаны виды и линии лабораторных животных, наиболее часто используемых для выполнения теста.

Приведены параметры проведения теста: температура воды, размеры установок и продолжительность плавания животных. В случае выявления адаптогенной (актопротекторной) активности следует верно выбрать массу груза для лабораторного животного. Оптимальное сочетание всех факторов позволит получить адекватные данные и объективно интерпретировать полученные результаты.

Ключевые слова: тест Портсола, тест «принудительного плавания», антидепрессанты, адаптогены.

ВВЕДЕНИЕ

В 1977 году Roger D. Porsolt был предложен новый поведенческий тест, для моделирования «подавленного состояния» у лабораторных животных. Идея возникла на основании проводимых учебных экспериментов, выполненных в крестообразном водном лабиринте. Roger D. Porsolt, заметил, что большинство крыс, находят выход из лабиринта в среднем за 10 минут, при этом совершают множество усилий и движений. Некоторые крысы, напротив, не предпринимали попыток выбраться из установки и пассивно плавали, «лежали на воде» [13]. Так была предложена методика для тестирования веществ с антидепрессантной активностью. Необходимость разработки метода была обусловлена с одной стороны развивающимся направлением фармацевтической отрасли – поиск новых психотропных

препаратов, с другой отсутствием конкретной линии лабораторных животных с генетически запрограммированным психическим заболеванием. Несмотря на то, что существуют несколько убедительных моделей депрессии у экспериментальных животных [14, 15] потребность в простых рутинных тестах в настоящее время высока.

В российской интерпретации Porsolt test (тест Портсолта) обычно называют тест «принудительного плавания» (так же используются термины тест «поведения отчаяния»; в иностранных источниках тест может называться «Behavioural Despair test»). Изначально тест был предложен с целью проверки формирования депрессивноподобного статуса у лабораторных животных. Оборудование, предложенное Roger D. Porsolt для проведения теста, представляло собой прозрачный

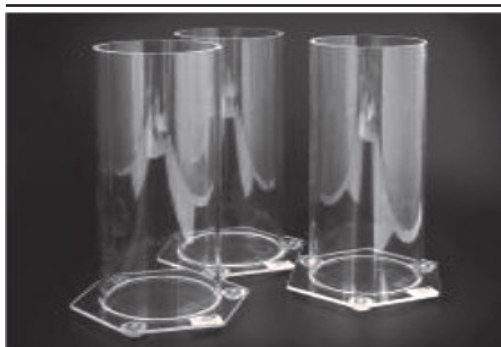


Рис. 1. Пример установки «принудительного плавания» по Porsolt (установка ООО «НПК Открытая Наука»)

цилиндр диаметром 18 см (для крыс 160 – 180 грамм). Со временем установка была усовершенствована, диаметр цилиндра был увеличен, поскольку чаще для проведения доклинического исследования используются крысы с массой тела 200 – 250 грамм.

При проведении теста оценивается время, когда животное от активных попыток найти выход из неприятного положения (погружение в воду и невозможности покинуть установку), переходит к неподвижности, «зависанию», которое исследователи ассоциируют с поведением отчаяния или так называемым «состоянием потери животным надежды - безысходность» [1,11]. Данный тест обладает самой высокой валидностью (в зарубежных статьях определяется термином predictive validity), то есть все эффективные антидепрессанты снижают время неподвижности животного, которое расценивается, как чувство безысходности, неспособности выбраться из сосуда с водой. Говоря о психофармакологии, тест «принудительного плавания» так же используется с целью поведенческого фенотипирования лабораторных грызунов для определения изначального уровня тревожности у животных [1] их эмоционального поведения (склонность к депрессии). Определить начальный уровень тревожности у лабораторных грызунов чрезвычайно важно

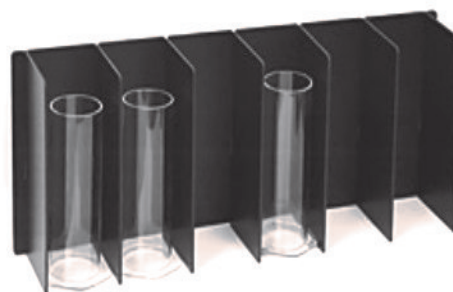


Рис. 2. Пример установки «принудительного плавания» по Porsolt, с перегородками (установка ООО «НПК Открытая Наука»)

при проведении доклинического исследования, поскольку при оценке эффективности антидепрессантов доказано, что ряд линий не восприимчивы к действию психотропных препаратов, что может привести к получению недостоверных данных. В работах ряда авторов [10,12,17] доказано, что линия мышей СВА оказалась не восприимчива к действию психотропных препаратов, а линии M76C и AKR более чувствительны к действию антидепрессантов, чем животные линии СВА.

В работах López-Rubalcava C. (2000) [9] доказано, что генетически разные линии Wistar-Kyoto (WKY) и Sprague-Dawley (SD) имеют разные начальные уровни эмоциональной активности. Так крысы WKY в 15 минутном исследовании продемонстрировали высокий уровень неподвижности, животные с первых минут после попадания в установку с водой прекращали активные движения и попытки выбраться из нее. У крыс SD иммобилизацию наблюдали только после 10-15 минут пребывания в установке. В работе было доказано, что крысы линии WKY в большей степени чувствительны к антидепрессантам трициклического ряда и практически не чувствительны к серотонинэргическим антидепрессантам, что позволяет использовать данную линию

животных для моделирования депрессивного поведения, характеризующего психомоторный ответ на стресс. Многие исследователи в качестве тест систем выбирают аутбредных (не линейных) лабораторных крыс, как для исследования препаратов психотропного действия [7], так и для оценки адаптогенной активности [3].

Первоначально тест Портсолта был предложен для крыс, но со временем был адаптирован для мышей [8], это позволило уменьшить стоимость исследований, увеличить пропускную способность скрининга новых соединений. Данные характеристики делают тест Портсолта важным инструментом в научных исследованиях при разработке лекарств. В литературе описан изначально разный эмоциональный статус для различных линий мышей, что находит отражения в большом разбросе времени иммобилизации у животных без введения препаратов (таблица 1).

Со временем тест «принудительного плавания» был адаптирован с целью выявления адаптогенной (актопротекторной) активности различных групп препаратов как природного [4,5,6], так и синтетического происхождения [2,3]. Адаптогенами называют лекарственные средства, повышающие неспецифическую сопротивляемость организма и увеличивающие его устойчивость к различным неблагоприятным воздействиям (холод, стресс, физическая нагрузка и прочие). Говоря о препаратах, повышающих физическую выносливость, обычно для описания данного эффекта используют термин актопротекторный. С целью выявления актопротекторной активности тестируемых объектов используют тест Портсолта в модификации. Как правило, в российской литературе используется термин тест «вынужденного плавания» (или тест «принудительного плавания»), в иностранных источниках тест может назы-

ваться «forced swim test»). Суть метода состоит в том, чтобы объективно оценить физическую выносливость лабораторных животных. С этой целью животное плавает с грузом от 5% до 15% от массы тела. Как правило, в качестве груза используют металлические цилиндры, зафиксированные на средней части хвоста лабораторных животных. В работах Каркищенко В.Н. и соавторов (2011) [6] доказано, что наиболее оптимальной модификацией теста Портсолта, для оценки физической выносливости крыс при изучении актопротекторных свойств является плавание животного с грузом 10% от массы тела (время плавания крыс линии WAG/GY около 100 сек.). Использование груза более 15% приводит к быстрому утомлению (время плавания крыс линии WAG/GY около 80 сек), а при плавании животных с грузом менее 5% время плавания крыс линии WAG/GY становится около 150 сек., что способствует обучению животных и может искажать первичные данные исследования. Температура воды при проведении исследования 20-22 °С. В литературе описаны и другие модификации теста Портсолта, так Dawson С.А. и Horvath S.А. в 1970 году было предложено с целью оценки физической выносливости использовать груз, составляющий 7% от массы тела при температуре воды 29,5±0,5°С.

Во всех случаях регистрируемым параметром является время плавания, указанное в секундах. Окончанием теста считают отказ животного от плавания, то есть его полное погружение под «водное зеркало» на 5 секунд. Примеры положений, занимаемых животным во время проведения теста Портсолта в модификации (груз 10% от массы тела), приведены на рисунках 3 – 5.

Тест «вынужденного плавания» представляет собой комбинированный метод, сочетающий в себе эмоциональный стресс и аэробно-анаэробную физиче-

Таблица 1

Сводная таблица возможных параметров теста Портоолта

Исследуемый эффект	Вид, линия животных	Размеры установки, см	Температура воды, °С	Груз, масса	Время плавания, сек	Ссылка
Антидепрессантный эффект	CBA/J	28,5x17,5x13	21-23	нет	60	Lucki I. et al., 2001
	Balb/cJ	28,5x17,5x13	21-23	нет	200	
	A/J	28,5x17,5x13	21-23	нет	180	
	CD-1	28,5x17,5x13	21-23	нет	160	
	C57BL/6J	28,5x17,5x13	21-23	нет	200	
	Крысы, Wistar-Kyoto	46x20	23-25	нет	900	López-Rubalcava C., Lucki I., 2000
Крысы, Sprague-Dawley	46x20	23-25	нет	900		
Адаптогенный эффект (актопротекторный эффект)	Мыши, аутбредные	Не указан	24-26	5%	460	Гаврев А.И. и др., 2010
	Крысы, Wistar	Не указан	Не указана	10 %	1020	Дадали В.А. и др., 2001
	Крысы WAG/GY	25x25x60	20-22	5%	150	Каркищенко В.Н. и др., 2011
	Крысы WAG/GY	25x25x60	20-22	10%	100	
	Крысы WAG/GY	25x25x60	20-22	15%	85	

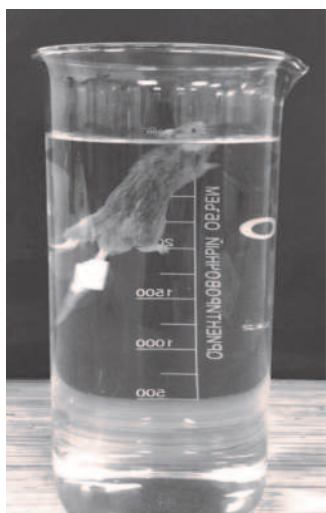


Рис. 3. Плавание животного



Рис. 4. Имобилизация животного («зависание», «неподвижность»)



Рис. 5. Погружение животного под водное зеркало (окончание теста)

скую нагрузку. Важным является и выбор тест систем для проведения доклинического исследования. При проработке литературных данных, посвященных обсуждаемому выше тесту, как для исследования антидепрессантов, так и для адаптогенов, чаще в качестве тест систем используют мышей (преимущественно самцов) и крыс (преимущественно самцов). Данных о применении других видов лабораторных животных (например, хомяки, морские свинки и кролики) в открытом доступе не встречается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время применение теста Портосолта и его модификаций чрезвычайно распространено при изучении антидепрессантов и адаптогенов. Следует отметить, что выявление фармакологической активности новых молекул напрямую зависит от адекватности выбора теста или его модификации, а также выполнения протокола исследования.

Application of «forced swimming» test for preclinical trials.

M. Kovaleva, M. Makarova, V. Makarov, M. Goryacheva.

ABSTRACT

The literature review presented in the article has the information on possible applications of Portsol test in preclinical studies aimed at determination of antidepressant and actoprotective activities. It includes different possible modifications of the test, different methods of testing, designed to discover the presence of antidepressant and actoprotective activities in a drug. The review describes different kinds and lines of laboratory animals often used for the test. The provided testing examples include: water temperature, installation size, and also animal swimming time. In case of detection of adaptogenic (actoprotective) activity, a correct mass of the weight used for lab animal must be chosen. The optimal combination of all factors will make it possible to obtain relevant data and objectively interpret the re-

sults.

Key words: Portsol test, forced swim test, antidepressants, adaptogens.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амикишиева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т. 13(№ 3). – С. 529-542.
2. Айрапетянц М.Г., Левшина И.П., Ноздрачева Л.В., Шуйкин Н.Н. Коррекция поведенческих и физиологических показателей невротоподобного состояния белых крыс введением янтарной кислоты // Журнал ВНД. — 2001. — Т. 51 (№3). — С. 360–367.
3. Гаврев А.И., Марышева В.В., Шабанов П.Д. Актопротекторное действие антигипоксантов тиазолоидинового ряда // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т.73(2). – С.25-30.
4. Дадали В.А., Павлова Р.Н., Голованова Н.Э., Смертина М.Н., Кулеба В.А., Агафонова О.А., Бейшебаева Ч.Р. // Исследование адаптогенных и антиоксидантных свойств БАД «Трансфер Фактора Эдвэнсд» // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011. – Т. №11. – С. 152-158.
5. Ивашев М. Н. Круглая А. А. Савенко И. А. Биологическая активность соединений из растительных источников // Фундаментальные исследования. – 2013. – Вып. № 10-7 С. 1482-1484.
6. Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Деньгина С.Е., Станкова Н.В. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов // Биомедицина. – 2011. – Вып. №1. – С 72-74.
7. Эпштейн О.И., Молодавкин Г.М., Воронина Т.А., Сергеева С.А. Антидепрессивные свойства пропротена и амитриптилина: сравнительное экспериментальное исследование // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Приложение 1. - С 34-36.

8. Can A., Dao David T., Arad M., Terrillion E., Sean C. Piantadosi, Todd D. Gould The Mouse Forced Swim Test // J. Vis. Exp. – 2012. – Vol. 59. – P. 3638.
9. López-Rubalcava C., Lucki I. Strain Differences in the Behavioral Effects of Antidepressant Drugs in the Rat Forced Swimming Test // Neu. psychopharmacol. – 2000. – Vol. 22. – P. 191–199.
10. Cervo L., Canetta A., Calcagno E., Burbassi S., Sacchetti G., Caccia S., Fracasso C., Albani D., Forloni G., Invernizzi R.W. Genotype-dependent activity of tryptophan hydroxylase-2 determines the response to citalopram in a mouse model of depression // J. Neurosci. – 2005. – Vol. 25 (N 36). – P. 8165–8172.
11. Dawson C.A., Horvath S.A. Swimming in small laboratory animals // Med. Sci. Sports. – 1970. Vol. 2 (2). – P. 51–78.
12. Lucki I., Dalvi A., Mayorga A.J. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice // Psychopharmacol. (Berl). – 2001. – Vol. 155.(N 3). – P. 315–322.
13. Porsolt R.D., Bertin A., Blavet N., Deniel M., Jalfre M. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity // Eur. J. Pharmacol. – 1979. – Vol. 57. – P. 201–210.
14. Scott, J.P., Stewart J.M., Deghet V.J., 1973, Separation in infant dogs: emotional response and motivational consequences, in: Separation and Depression: Clinical and Research Aspects // AAAS, Washington.- P. 3.
15. Seligman, M.E.P. Helplessness: on Depression, Development and Death //Freeman, San Francisco. – 1975.
16. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarova M.N., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Tikhonov V.P., Galambosi B., Hiltunen R. Examination of adaptogenic effect of infusions of *Bergenia crassifolia* black and fermented leaves in the forced swimming test // Pl. Med. – 2008. – Vol. 74. – P. 908.
17. Tikhonova M.A., Osipova D.V., Kulikov V.A., Popova N.K. Association between tryptophan hydroxylase-2 genotype and the antidepressant effect of citalopram and paroxetine on immobility time in the forced swim test in mice // Phamacol. Biochem. Behavior. – 2011. – Vol. 99. (N 4). – P. 683–687.

РЕДАКЦИЯ ИНФОРМИРУЕТ О ТОМ, ЧТО В №3 2015 Г., НА СТРАНИЦЕ 84 В СТАТЬЕ «МОДЕЛИРОВАНИЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ У ЖИВОТНЫХ» ПОРЯДОК АВТОРОВ СЧИТАТЬ КАК: КАШКИН В.А., ШЕКУНОВА Е.В., МАКАРОВА М.Н., МАКАРОВ В.Г., КАК ЭТО ВЫГЛЯДИТ В АНГЛИЙСКОМ АБСТРАКТЕ НА СТР. 89.

СПИСОК СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ В 2015 ГОДУ

<i>РУБРИКА</i>	<i>НАЗВАНИЕ СТАТЬИ, АВТОРЫ</i>	<i>№</i>	<i>СТРАНИЦЫ</i>
Опыт, проблемы, перспективы	Применение препарата «Эльвита» при воспалительных и опухолевых процессах у животных. <i>Кондаков С.Э., Кузьмин В.А., Фогель Л.С., Нуднов Д.А., Волкова Е.А., Полазюк С.В.</i>	1	7-12
Инфекционные болезни	Роль бактериальных болезней рыб в формировании эпизоотического состояния садковых хозяйств. <i>Кузнецова Е.В.</i>	2	7-10
	Определение оптимальных концентраций действующих веществ для препаратов серии Флайблок в производственных условиях. <i>Токарев А.Н., Енгашев С.В., Токарева О.А.</i>	2	10-15
	Профилактические мероприятия в садковых форелевых хозяйствах. <i>Кузнецова Е.В.</i>	3	7-9
Инвазионные болезни	Экономический эффект при применении отечественных противопаразитарных препаратов. <i>Токарев А.Н.</i>	4	7-10
Терапия	Этиология, распространение и экономический ущерб при заболеваниях печени у коров. <i>Кириллов А.А., Юшманов П.Н., Батраков А.Я.</i>	1	12-17
	Эффективность использования добавок, регулирующих катионно-анионный баланс рациона, для профилактики болезней и повышения продуктивности у коров в послетельный период. <i>Сенько А.В., Яшин А.В.</i>	3	10-13
	Препараты «Иммомаст-А» и «Иммомаст-Б» в лечении мастита лактирующих коров. <i>Блохин А.А., Исаев В.В., Гладкова Н.А.</i>	4	10-15
	Коррекция иммунодефицитов телят комбинированным применением препаратов «Иммуноветон-Кс» и «Фурор». <i>Исаев В.В. Блохин А.А., Бурова О.А.</i>	4	16-20
Хирургия	Диагностика и лечение эндогенных увеитов передней камеры глаза у собак. <i>Усольцева И.Б., Стекольников А.А.</i>	1	18-21
	Моно- и комплексная терапия ран у кроликов тромбocyтарной аутоплазмой. <i>Гусева В.А.</i>	2	16-19
	Хирургический метод лечения синуситов у телят. <i>Кукина О.В.</i>	3	13-18
Акушерство, гинекология	Современный способ профилактики гипокальциемии высокопродуктивных коров в послетельный период. <i>Корочкина Е.А., Племашов К.В., Виденин В.Н.</i>	1	21-25

РУБРИКА	СТАТЬЯ	№	СТРАНИЦЫ
Фармакология, токсикология, фармация	Влияние препарата «Мастинол» на иммунологический статус лактирующих коров. <i>Барышев В.А., Соколов В.Д., Племяшов К.В.</i>	1	25-28
	Определение остаточных количеств мирамистина в молоке и тканях коров с мас-титом и эндометритом. <i>Крутяков Ю.А., Кузьмин В.А., Лунегов А.М., Савенков К.С., Полякова О.Р. Нуднов Д.А.</i>	1	29-33
	Токсикологическая оценка комплексного антибактериального препарата Ципровентор. <i>Енгашев С.В., Филимонов Д.Н., Павленко Г.И.</i>	1	34-40
	Эффективность антиоксидантного препарата Эмидонол при болезнях кошек и собак. <i>Енгашев С.В., Новак М.Д., Мазитова О. Ю.</i>	1	40-44
	Профилактика гнойных послеоперационных осложнений с использованием шовного материала с антибактериальным покрытием, представленным наночастицами серебра. <i>Коптев В.Ю., Леонова М.А., Онищенко И.С., Шкиль Н.А., Бычков А.Л.</i>	2	20-23
	Эффективность Ципрофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят. <i>Заикина Е.Н., Скворцов В.Н., Балбуцкая А.А.</i>	2	24-28
	Токсикологическая оценка комплексного препарата для лечения и профилактики кокцидиозов животных. <i>Арисов М.В., Абрамов В.Е., Поселов Д.С.</i>	2	28-32
	Клинические испытания антигельминтика широкого спектра действия - Эпримек на лисицах. <i>Кузнецов Ю.Е., Смирнов А.А.</i>	2	33-35
	Изучение антибактериальной и антимикотической активности препарата Аргумистин. <i>Кузьмин В.А., Лунегов А.М., Крутяков Ю.А., Белкина И.В., Савенков К.С.</i>	2	36-39
	Изучение переносимости и субхронической токсичности препарата Иверсан на свиньях. <i>Енгашева Е.С., Новиков Д.Д.</i>	2	39-42
	Алгоритм разработки комбинированных антидиарейных средств. <i>Андреева Н.Л., Соколов В.Д.</i>	3	18-23
	Ветеринарные препараты на основе наночастиц серебра, модифицированных мирамистином: новые возможности в лечении кошек и собак. <i>Крутяков Ю.А., Климов А.И., Коробкова Е.А., Кузьмин В.А., Лунегов А.М.</i>	3	24-27
	Изучение аллергических свойств препарата Ципровет-пульмо. <i>Токарева О.А.</i>	3	27-30
	Распределение ципрофлоксацина в организме цыплят после перорального введения. <i>Заикина Е.Н., Скворцов В.Н., Юрин Д.В.</i>	3	30-34

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2015г.

РУБРИКА	СТАТЬЯ	№	СТРАНИЦЫ
	Переносимость и субхроническая токсичность препарата Ципроветтор на телятах. <i>Филимонов Д.Н., Павленко Г.И.</i>	3	35-39
	Строение наночастиц серебра препарата Арговит в зависимости от степени его разведения. <i>Шкиль Н.Н., Бурмистров В.А., Шкиль Н.А.</i>	3	39-43
	Применение ветеринарного препарата на основе наночастиц серебра для лечения телят с желудочно-кишечными болезнями. <i>Скрипнёва Т.А., Кузьмин В.А., Лунегов А.М., Забровская А.В., Крутяков Ю.А.</i>	3	43-48
	Применение митофена с кормом курам-несушкам и его влияние на показатели качества куриного яйца. <i>Святковский А.А., Андреева Н.Л.</i>	4	21-26
	Антитоксическая функция печени и местно-раздражающие свойства препарата Иверсан. <i>Мелнис Р.И., Новиков Д.Д.</i>	4	27-30
	Острая токсичность препарата Иверсан. <i>Мелнис Р.И.</i>	4	30-32
Зоогигиена, Санитария, Кормление	Влияние цеолитсодержащей добавки на яичную продуктивность и инкубационные свойства яиц. <i>Жилочкина Т.И.</i>	1	44-49
	Формирование состава воды, используемой для поения животных в северо-восточной биогеохимической зоне Украины. <i>Соколюк В.М.</i>	1	50-56
	Влияние пророщенного зерна на метаболические процессы у коров. <i>Батраков А.Я., Донская Т.К., Пилаева Н.В., Васильев Р. М., Васильева С.В., Трушкин В.А.</i>	2	42-46
	Метаболические эффекты у крыс при введении в рацион кормовой добавки с антибактериальными компонентами. <i>Белик С.Н., Горлов И.Ф., Крючкова В.В., Ранделин А.В., Мосолов А.А.</i>	2	47-49
	Содержание металлов в рыбах и среде их обитания в верховье р. Волхов. <i>Стекольников А.А., Иванов Д.И., Аршаница Н.М.</i>	2	50-55
	Использование кормовых компонентов с сальмонеллезным бактериофагом против пуллороза птиц. <i>Карамышева Н.Н., Барт Н.Г.</i>	3	48-51
	Лечение экспериментального колибактериоза цыплят. <i>Заикина Е.Н., Скворцов В.Н., Балбуцкая А.А.</i>	3	51-56
	Видовое разнообразие представителей рода <i>Staphylococcus</i> , выделенных от домашних и сельскохозяйственных животных с различными гнойно-воспалительными заболеваниями. <i>Балбуцкая А.А., Дмитренко О.А., Войтенко А.В., Скворцов В.Н.</i>	3	56-62
	Изучение антигенной активности изолята вариантного вируса инфекционного бронхита кур как компонента инактивированной вакцины. <i>Самусева Г.Н., Дубовой А.С.</i>	4	32-35
Повышение антигенной активности инактивированной эмульгированной вакцины против метапневмовирусной инфекции птиц. <i>Дубовой А.С., Самусева Г.Н., Сморгачева Т.Н.</i>	4	36-39	

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2015г.

РУБРИКА	СТАТЬЯ	№	СТРАНИЦЫ
Биохимия, анатомия, физиология	Клеточный состав периферической крови каспийского тюленя (<i>Phocaspica</i> , Gmelin, 1788). <i>Володина В.В., Грушко М.П., Федорова Н.Н.</i>	1	57-60
	Влияние сухого солевого аэрозоля на функциональную активность нейтрофилов лошадей при хронических obstructивных болезнях легких. <i>Романова О.В., Крячко О.В., Червинская А.В.</i>	1	61-64
	Изучение сорбционных свойств полисахаридов растительного происхождения. <i>Красочко П.А., Капуцкий Ф.Н., Красочко П.П., Зубец О.В., Аладьева Т.А.</i>	1	65-70
	Применение статистики в диссертациях по ветеринарии. <i>Ковалёнок Ю.К., Курдеко А.П., Карпенко Л.Ю.</i>	2	56-60
	Тромбоцитарная активность у телок на доращивании. <i>Завалишина С.Ю.</i>	2	60-64
	· Острая токсичность Прималактата и влияние его на биохимический статус коров. <i>Брюхова И. В., Шумский Н. И., Масьянов Ю.Н.</i>	3	62-66
	· Гематологические показатели и динамика естественной резистентности поросят после применения бете-каротина. <i>Городилова Л.И.</i>	3	66-69
	Физиологические механизмы компенсации кислородной задолженности при восстановлении функционального состояния в ходе интенсивных тренировок. <i>Алистратова Ф.И. Скопичев В.Г.</i>	4	40-46
	Опыт применения вакуум-градиентной терапии в ортопедии и неврологии мелких домашних животных. <i>Семёнова А.Е.</i>	4	47-51
	Материалы по возрастной морфологии гипофиза и семенника парнокопытных животных на примере овцы дагестанской горной породы. <i>Атагимов М.З., Хасаев А.Н.</i>	4	52-57
Гистопатология эндемического зоба. <i>Пилов А.Х.</i>	4	58-62	
Экспериментальная фармакология	Приобретение лабораторных животных: как выбрать питомник, исходя из российских реалий. Сообщение 2. Требования к поставщикам. <i>Фатеева Е.И.</i>	1	70-75
	Выбор оптимального метода индукции острой патологии печени у крыс. <i>Селезнева А.И., Столащук Н.В., Макарова М.Н.</i>	1	75-84
	Габапентин устраняет проявления депрессивноподобного поведения, индуцированные снижением уровня половых гормонов на фоне овариэктомии у крыс. <i>Шекунова Е.В., Белозерцева И.В.</i>	1	84-92
	Комплексная оценка степени развития патологии при моделировании адьювант-индуцированного артрита у крыс. <i>Кашкин В.А., Шекунова Е.В., Мужикян А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	1	92-103

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2015г.

РУБРИКА	СТАТЬЯ	№	СТРАНИЦЫ
Экспериментальная фармакология	Гармонизация исследований по проведению острой токсичности в соответствии с российскими и зарубежными требованиями. <i>Авдеева О.И., Макаренко И.Е., Макарова М.Н., Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макаров В.Г.</i>	1	103-109
	Иммуногистохимические маркеры С-клеток щитовидной железы животных. <i>Мужижян А.А.</i>	2	65-71
	Влияние сухого экстракта бадана на течение экспериментального метаболического синдрома, вызванного высококалорийной диетой. <i>Ковалева М.А., Макарова М.Н.</i>	2	72-78
	Модель острого воспаления: каррагениновый воздушный мешочек. <i>Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Мужижян А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	2	78-87
	Экспериментальные модели боли и ноцицепции. <i>Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	2	87-95
	Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с Европейской Директивой 2010/63. <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н.</i>	2	96-107
	Архивирование материалов доклинических исследований как элемент системы качества. <i>Зайцева М.А., Белостоцкий А.В., Пикалова Л.В., Марченко С.Д.</i>	3	70-76
	Получение диагностических антител, меченных пероксидазой хрена для определения антибиотиков тетрациклинового ряда методом ИФА. <i>Вылегжанина Е.С., Нестеренко И.С., Филиппова К.М., Добрякова Ю.В., Комаров А. А.</i>	3	76-83
	Моделирование алкогольной зависимости у животных. <i>Кашкин В.А., Шекунова Е.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	3	84-91
	Сравнительное токсикологическое изучение носителей для лекарственных средств, применяемых в доклинических исследованиях. <i>Гуцина С.В., Макарова М.Н., Пожарицкая О.Н.</i>	3	92-98
	Экспериментальная фармакокинетика, современные требования, исследования in vitro. <i>Карлина М.В., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н.</i>	3	98-102
	Морфологические изменения эритроцитов при репаративном остеогенезе у кроликов. <i>Уша Б.В., Концевая С.Ю., Луцай В.И., Фатеева Е.И.</i>	4	62-67
	Преимущества и недостатки некоторых методов оценки острой токсичности. <i>Калатанова А.В., Селезнева А.И., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	4	68-72
	Применение компьютерной томографии при оценке состояния органов и тканей лабораторных животных. <i>Мужижян А.А., Макарова М.Н.</i>	4	73-80
	Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями. <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н.</i>	4	81-89
Применение теста «принудительное плавание» при проведении доклинических исследований. <i>Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Горячева М.А.</i>	4	90-95	



МВВ

Редакция журнала
«Международный вестник
ветеринарии»
196084, Санкт-Петербург,
Черниговская 5, СПбГАВМ.
Телефон/факс (812) 387-11-58
Mail to: farm07@mail.ru