

Ветеринарная медицина

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№2
2014



Сайт журнала <http://www.veterinarymedicine.ru>

issn 2073-1108

Общество с ограниченной ответственностью «Агровет»
Продукция ООО «Агровет» -
надежная защита животных
от инфекций и паразитов



г.Москва, ул.Ташкентская, д.34,к.5
Тел.: 7-495-377-69-97, 7-495-638-52-74
Факс: 7-495-377-69-87
Email: agrovvet@agrovvet.ru, info@agrovvet.ru
Сайт: www.agrovvet.ru

Содержание

Патология и терапия болезней животных

А.С. Жимбуева, Н.В. Мантатова
Энтеросорбентная терапия при мочекаменной болезни стандартных темно-коричневых норок в условиях прибайкалья..... 2

Эпизоотология и инфекционные болезни животных

П.М. Кабахова, С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов, Э.А. Яникова
Сравнительное изучение разных питательных сред для промышленного культивирования бруцелла abortus 19 6

Иванова О.Е., Скородумов Д.И.
Видовой состав кампилобактерий, контаминирующих тушки убойных кур..... 8

Иванова О.Е., Скородумов Д.И.
Результаты идентификации кампилобактерий, выделенных от убойных кур методом масс-спектрометрии 10

О. Ю. Юсупов, С. Г. Хаиров, С. Ш. Кабардиев, М.Г. Газимагомедов, Д.А. Девришов, О.Д. Складаров, А. И. Климанов
Оценка эффективности вакцины против бруцеллеза овец из штамма brucella melitensis rev-1 12

Паразитология

Х.Г. Омарова
Анализ эндемичных и субэндемичных видов саранчовых дагестана 24

Э.И. Ахмедов
Биохимическая оценка лечебной эффективности байкокса при кокцидиозе цыплят местных черных пород азербайджана 26

Иммунология и биотехнология

Д.А. Девришов, Т.П. Жарова, Г.Н. Печникова
Иммунологическая реактивность собак и кошек, больных хроническим пиелонефритом 30

Д.А. Девришов, Г.Н. Печникова, Жарова Т.П.
Характеристика клеточных факторов врожденного и адаптивного иммунитета у больных хроническим пиелонефритом собак..... 34

П.М. Кабахова, С.Г. Хаиров, О.Ю. Юсупов, Г.М. Шехилалиева, Э.А. Яникова
Питательная среда для выращивания культуры Brucella abortus 19 с целью изготовления антигена для РНГА..... 37

Фармакология, токсикология, радиобиология

Е.М. Мозолин, В.Я. Саруханов, В.О. Кобялко, С.И. Спиридонов, Н.И. Санжарова
Разработка баз данных по результатам исследований воздействия ионизирующих излучений и тяжелых металлов на сельскохозяйственных животных..... 40

Денисенко В.Н., Смирнов А.А., Климов П.В.
Фармакокинетические параметры атипамезола при применении препаратов «Антиседан» (Pfizer Animal Health, США) и «Антимедин» (ООО «Апи-Сан», Россия) собакам..... 43

Л.Н. Семенкова, Г.М. Соболева, И.В. Дудич, Ю.И. Остроумов, А.Ю. Остроумова
Моделирование радиационного поражения кожи в культуре клеток мышинных фибробластов nih3t3: протективный эффект бутилгидрокситолуола и дигидрохверцетина..... 48

Учредитель и издатель: ООО «Агровет»

ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина»

Редакционная коллегия:

Василевич Ф.И. — академик РАН (главный редактор ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

Гулюкин М.И. — академик РАН (ГНУ ВИАВ)

Панин А.А. — академик РАН (ФГБУ ВГНКИ)

Самуйленко А.Я. — академик РАН (ГНУ ВНИИТБП)

Уша Б.В. — академик РАН (Институт ветеринарной экспертизы, санитарии и экологии ФГБОУ ВПО МГУП)

Девришов Д.А. — член-корр. РАН (заместитель главного редактора, председатель редакционно-экспертного совета (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ))

Джавадов Э.Д. — член-корр. РАН (ГБНУ ВНИИВП)

Дорожкин В.И. — член-корр. РАН (ГБНУ ВНИИВГСЭ)

Иванов А.И. — член-корр. РАН (ФГБУ ФЦТРБ-ВНИИ)

Кочис И.И. — член-корр. РАН (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

Стекольников А.А. — член-корр. РАН

Непоклонов Е.А. — профессор (Россельхознадзор)

Редакционно-экспертный совет:

Тихонов И.В. — профессор: заместитель председателя (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

Балакирев Н.А. — академик РАН (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

Антипов В.А. — член-корр. РАН (Краснодарский НИВИ)

Мирзаев М.Н. — профессор (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

Обухов И.Л. — профессор (ФГБУ ВГНКИ)

Складаров О.Д. — профессор (ФГБУ ВГНКИ)

Волков М.Ю. — профессор (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

Гаврилов В.А. — профессор (ФГБОУ ВПО МГАВМиБ)

Ответственный редактор — Девришова Ю.Д.

Дизайн, верстка — В.В. Котов

Корректура — В.А. Мальцева

Адрес редакции:

109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23
Тел. редакции: (495) 376-70-01.

Факс: (495) 377-69-97, (495) 377-69-87

E-mail: vetmed@agrovet.ru, sci@mgavm.ru,

WWW-адрес: vm.agrovet.ru

Подписной индекс: 209064 ("Пресса России")

Рукописи не возвращаются и не редактируются.

Подписано в печать 30.06.2014 г.

Формат 70x108 1/16, печать офсетная.

Заказ № 129, тираж 3000 экз.

© «Ветеринарная медицина», 2014 г.

Индексирование журнала: РУНЭ

УДК 619:616.6:636.934.57

А.С. ЖИМБУЕВА, Н.В. МАНТАТОВА

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия имени В.Р. Филиппова»

ЭНТЕРОСОРБЕНТНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ СТАНДАРТНЫХ ТЕМНО-КОРИЧНЕВЫХ НОРОК В УСЛОВИЯХ ПРИБАЙКАЛЯ

Мочекаменная болезнь норок занимает одно из ведущих мест среди заболеваний обменных процессов, при этом наносит серьезный экономический ущерб звероводству.

Клиническими и лабораторными исследованиями было установлено, что при применении энтеросорбента Цеовит-био в комплексной терапии мочекаменной болезни у больных зверей отмечается быстрая динамика купирования симптомов болезни по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, стандартные темно-коричневые норки, энтеросорбция, энтеросорбент, сыворотка крови, общий белок, креатинин, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза.

A.S. ZHIMBUYEVA, N.V. MANTATOVA

Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov"

BIOCHEMICAL INDICATORS OF SERUM OF BLOOD OF STANDARD DARK BROWN MINKS AT UROLITHIASIS

Urolithiasis mink is one of the leading diseases of metabolism, thus causing severe economic damage to fur farming.

Clinical and laboratory studies have found that the application of bio-enterosorbent Tseovit in complex therapy of urolithiasis in patients with fast dynamics of animals marked relief of symptoms compared with the control group.

Keywords: urolithic illness, standard dark brown minks, blood serum, creatinine, glucose, albumine, urea, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase.

Введение

В пушном звероводстве одной из важнейших задач является получение высококачественного сырья, что в значительной степени определяет рентабельность отрасли. Качество сырья во многом зависит от условий содержания и кормления животных, и в целом от состояния их здоровья. (Кухарская А.Г., 2008; Мантатова Н.В., 2012).

На сегодняшний день широкое распространение получили болезни норок, связанные с нарушением обменных процессов, обусловленные несбалансированным, нерегулярным кормлением и отрицательным влиянием на мочевыводящую систему различных заболеваний других органов и систем. Болезни обмена веществ могут приводить к

возникновению явных или скрытых дефектов кожной ткани, волосяного покрова и шкурки в целом. Достаточно мало изученными, с точки зрения влияния морфологических, биохимических и функциональных изменений в организме норок на качество шкурок, остаются болезни мочевыделительной системы, в том числе мочекаменная болезнь (Школа Т.С., 2000), которая является одной из широко распространенных болезней у норок. Мочекаменная болезнь (Urolithiasis) плотоядных — хронически протекающее заболевание, характеризующееся нарушением кислотно-щелочного равновесия, минерального, эндокринного и витаминного обменов и образованием мочевых камней, которые отлагаются в почечной лоханке, мочевом

пузыре и уретре (Беркгофф П.К., 2001; Новосадюк Т.В., 2003; Камышко В.Е., 2003; Дубровина В.Е., 2005). Данная патология наносит большой экономический ущерб пушному звероводству, из-за получения низкокачественного сырья. Поэтому поиск новых и совершенствование общепринятых методов коррекции уролитиаза у норок имеют огромное значение.

В настоящее время в ветеринарной практике успешно применяется активный метод терапии — энтеросорбция. Это метод лечения различных заболеваний, основанный на способности энтеросорбентов связывать и выводить из организма различные экзогенные вещества, микроорганизмы и их токсины, эндогенные промежуточные и конечные продукты обмена. Энтеросорбенты — препараты, обладающие высокой сорбционной емкостью, не разрушающиеся в желудочно-кишечном тракте и способные связывать экзо- и эндогенные вещества, которые входят в состав химуса и выделяются в полость желудочно-кишечного тракта через его стенки, путем абсорбции, ионообмена или комплексообразования (Гусейнов М.М., 2012).

Цель исследований — определить влияние Цеовита-био на биохимические показатели крови стандартных темно-коричневых норок при мочекаменной болезни.

Материал и методы исследований.

Клинические и лабораторные исследования были проведены в ветеринарных клиниках Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова, структурном подразделении НВК «Академия» и ЗАО «Большереченское» Иркутской области.

Объектом исследования служили здоровые и больные самцы стандартного темно-коричневого окраса в возрасте 12 месяцев с живой массой от 1,3 кг до 1,8 кг. Для определения эффективности энтеросорбентной терапии сформировали две опытных группы клиниче-

скими признаками болезни и одну контрольную группу — клинически здоровые звери по 7 голов в каждой. Материалом исследования служили взятые пробы крови. Кровь для исследований брали из поверхностной вены предплечья (*V. cephalicaantebrahii*), утром до кормления.

Для биохимического исследования кровь набирали в вакуумные пробирки в объеме 5 мл. Анализ крови проводили на гематологическом анализаторе Biochem 200.

В исследуемых пробах крови определяли основные показатели белкового, углеводного и минерального обмена, имеющие отношение к патогенезу уролитиаза (уровень общего белка, общего кальция, фосфора, щелочной фосфатазы, мочевины, креатинина, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и глюкозы).

Животных 1-ой опытной группы лечили по первой схеме, животных 2-ой опытной группы — по 2-ой схеме (таблица 1, 2).

Результаты исследования.

Клиническая картина у животных 1-ой и 2-ой опытных групп до лечения протекала с характерными симптомами мочекаменной болезни: припухлость в области мочеиспускательного канала, следы кровянистой жидкости и гнойного экссудата на волосяном покрове вокруг отверстия мочеиспускательного канала, при этом животные передвигались с широко расставленными задними конечностями. Наблюдался синдром мочевых колик, который проявлялся неестественным изгибанием спины, искусственным напряжением мышц брюшного пресса, периодическим пищанием, подтягиванием тазовых конечностей к животу, нежеланием менять места положения и частым принятием поз для мочеиспускания. При пальпации мочевого пузыря отмечали болезненность, скопление мочи. Мочеиспускание было частое, произвольное, болезненное, вследствие чего у зверька намокал мех в области брюшка (рисунок 1).

Таблица 1

Схемы лечения больных животных по группам

| Группы | Лекарственные препараты, дозы, способы их введения и кратность |
|--------------|---|
| 1-ая опытная | - Стоп-цистит по 120 мг 1 раз в день, внутрь - Катозал 10 % раствор по 2,0 мл 1 раз в день, внутримышечно |
| 2-ая опытная | - Стоп-цистит по 120 мг 1 раз в день, внутрь - Катозал 10 % раствор по 2,0 мл 1 раз в день, внутримышечно - Цеовит-био по 1,2 г/кг 1 раз в день, внутрь вместе с кормом |

Фармакологические свойства лекарственных препаратов

| № п/п | Лекарственный препарат | Фармакологические свойства |
|-------|------------------------|---|
| 1 | Стоп-цистит | Комплексное уросептическое, противовоспалительное, антимикробное, спазмолитическое и мочегонное действие, способствует выведению токсических продуктов и мочевых камней из организма. |
| 2 | Катозал 10 % раствор | Тонизирующее действие на организм животных, оказывает стимулирующее действие на процессы обмена веществ (белковый, углеводный и жировой), повышает резистентность организма к неблагоприятным факторам, способствует росту и развитию животных. |
| 3 | Цевит-био | Обладает большой адсорбционной способностью, противовоспалительным, гепатопротекторным действием, восполняет потребность организма в минералах и витаминах. |

Цвет выделяемой мочи варьировал от темно-желтого до желто-бурого. Заболевание носило хронический характер.

У самцов норок на 14-е сутки применения лекарственных препаратов 1-ой и 2-ой опытных групп улучшилось общее состояние (рисунок 2). Следует отметить, что у животных 2-ой опытной группы улучшение клинического состояния протекало быстрее, чем у животных 1-ой группы. Так, на 3-ий день лечения наблюдали значительное уменьшение подмокания области брюшка, уменьшение припухлости области мочеиспускательного канала, восстановление двигательной активности, аппетита, и исчезновения синдрома мочевых коликов. Тогда как у зверей 1-ой опытной группы отсутствие этих клинических признаков наблюдали на 7-е сутки. Полная ремиссия у животных 1-ой опытной группы наступила на 14-е сутки, у животных 2-ой опытной группы — на 9-е сутки.

Результаты биохимического исследования крови норок представлены в таблице 1.

Анализируя данные таблицы 1 следует, что биохимические показатели сыворотки крови у животных 2-ой опытной группы после проведенного лечения соответствовали показателям физиологической нормы. Так концентрация общего белка у животных 1-ой опытной группы после проведенного лечения уменьшилась на 82,6% ($P \leq 0,001$), у животных 2-ой группы — на 91,7% ($P \leq 0,01$). Содержание креатинина после лечения уменьшилась у самцов 1-ой опытной группы на 78,8% ($P \leq 0,001$), у самцов 2-ой группы — на 88,1% ($P \leq 0,05$). Ферментативная активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) нормализовалась у зверей 1-ой группы на 90,3% ($P \leq 0,01$) и 58% ($P \leq 0,001$) Ед/л, зверей 2-ой группы — на 91,8% ($P \leq 0,05$) и 91% ($P \leq 0,01$) Ед/л.

На основании проведенных клинических и лабораторных исследований было установлено, что у животных 2-ой опытной группы процессы восстановления и ремиссии протекали значительно интенсивнее, чем у живот-



Рисунок 1 — Подмокание норки



Рисунок 2 — После лечения

**Биохимические показатели сыворотки крови
стандартных темно-коричневых норок ($M \pm m$, $n=7$)**

| № п/п | Показатели | Группы животных | | | | |
|-------|--------------------------|---|---------------|-------------------------|---------------|-------------------------|
| | | Контрольная (клинически здоровые) | 1-ая опытная | | 2-ая опытная | |
| | | | До лечения | На заключительном этапе | До лечения | На заключительном этапе |
| 1 | Общий белок, г/л | 63,8±1,23 | 79,2±1,37*** | 77,2±1,36*** | 78,9±1,37*** | 69,5±1,28** |
| 2 | Общий кальций, ммоль/л | 2,4±0,24 | 2,7±0,24 | 2,3±0,22 | 2,8±0,26 | 2,6±0,23 |
| 3 | Фосфор, ммоль/л | 1,4±0,17 | 2,5±0,24** | 1,6±0,20 | 2,8±0,26*** | 1,7±0,20 |
| 4 | Щелочная фосфатаза, Ед/л | 110,0±1,62 | 117,0±1,67* | 112,0±1,63 | 120,0±1,69** | 110,0±1,62 |
| 5 | Мочевина, ммоль/л | 7,7±0,42 | 15,7±0,61*** | 7,3±0,41 | 10,5±0,50** | 6,5±0,39 |
| 6 | Креатинин, мкмоль/л | 73,2±1,32 | 121,0±1,69*** | 92,9±1,49*** | 100,8±1,56*** | 83,1±1,41* |
| 7 | АЛТ, Ед/л | 56,0±1,15 | 85,0±1,42*** | 62,0±1,21** | 89,0±1,45*** | 61,0±1,20* |
| 8 | АСТ, Ед/л | 71,0±1,30 | 150,0±1,88*** | 122,0±1,71*** | 120,0±1,69*** | 78±1,36** |
| 9 | Глюкоза, ммоль/л | 5,2±0,34 | 7,9±0,43*** | 5,8±0,37 | 8,3±0,43*** | 5,6±0,36 |

Примечание. Данные достоверны между контрольной и опытными группами: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

ных первой опытной группы. Так снижение концентрации общего белка, креатинина, ферментативной активности АЛТ и АСТ свидетельствуют о снятии воспалительного процесса, интоксикации, восстановлении минерального, белкового, углеводного, жирового обменов, восстановлении функций почек, печени, кишечника.

Заключение

1. При применении биологически-активной кормовой добавки Цеовит-био в комплексном лечении уролитиаза стандартных темно-коричневых норок у животных отмечены быстрая динамика купирования симптомов воспаления, интоксикации, нормализация обменных процессов и исчезновение клинических признаков болезни.

2. На фоне проводимой терапии в исследуемой группе достигнуты наиболее близкие к норме биохимические показатели сыворотки крови.

3. Лечебное действие препарата Цеовит-био в дозе 1 г/кг связано с сокращением длительности течения заболевания за счет его адсорбционных свойств и низкой стоимостью, препарат не обладает токсическими свойствами, нетравматичен для слизистых оболочек, имеет хорошие сорбционные свойства, не вызывает дисбактериозов, имеет удобную лекарственную форму.

Библиографический список

1. Беркгофф, П.К. Мелкие непродуктивные животные, болезни и лечение / П.К. Беркгофф. — М.: Аквариум, 2001. — С.387
2. Гусейнов, М.М. Энтеросорбция при острых кишечных инфекциях молодняка крупного рогатого скота // Ветеринарная медицина. М., 2012. — № 3-4. — С. 70-71.
3. Дубровина, Е.В. Болезни и лечение кошек // Ветеринарный форум/ Е.В. Дубровина. — М.: Аквариум, 2005. — 773 с.
4. Камышко, В.Е. Хирургическая помощь при мочекаменной болезни. 2003. Режим доступа: <http://www.vitus-plus.ru>.
5. Кухарская, А.Г. Патологические аспекты уролитиаза норок и пути их коррекции. 2008. Режим доступа: <http://www.klass.refernax.ru>
6. Мантатова, Н.В. Функциональная активность желудка пушных зверей при V_1 — гиповитаминозе и пути его коррекции: автореф. дис. на соиск. учен. степ. д.в.н.: специальность 16.02.01 — диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных / Н.В. Мантатова — Улан-Удэ, 2012. — 39 с.
7. Новосадюк, Т.В. Лечение мочекаменной болезни котов. Клиника ООО «Поливет». 2003. Режим доступа: <http://www.bolen-kot.ru>.
8. Школа, Т.С. Морфо-функциональные изменения при мочекаменной болезни у норок. 2000. Режим доступа: <http://www.dissercat.com>

Контактная информация:
E-mail: amoha@rambler.ru

УДК 619:579.841.93

**П.М. КАБАХОВА, С.Г. ХАИРОВ,
О.Ю. ЮСУПОВ, Э.А. ЯНИКОВА***ГНУ «Прикаспийский зональный научно-исследовательский
ветеринарный институт», Республика Дагестан, Махачкала*

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РАЗНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БРУЦЕЛЛА АБОРТУС 19

Проведено сравнительное изучение разных питательных сред для промышленного культивирования Бруцелла абортус 19. Для выращивания штамма 19 наиболее эффективные результаты дала казеиновая среда, из которой получают хорошее накопление бактериальной массы бруцелл.

Ключевые слова: Республика Дагестан, питательная среда, штамм Бруцелла абортус 19, агар.

P.M. KABAKHOVA, S.G. HAIROV, O.YU. YUSUPOV, E.A. YANIKOVA*Kaspian zonal research veterinary institute, Republic of Dagestan, Makhachkala*

COMPARATIVE STUDY OF DIFFERENT NUTRIENT MEDIA FOR THE INDUSTRIAL CULTIVATION OF BRUCELLA ABORTUS 19

Conducted a comparative study of different nutrient media for the industrial cultivation of Brucella abortus 19. For growing strain 19 the most effective results gave kazein medium from which get the good accumulation of bacterial mass Brucella.

Key words: Republic of Dagestan, nutrient medium, strain Brucella abortus 19, agar.

При массовом серийном производстве диагностических препаратов большое значение приобретает унификация технологии изготовления и использования питательных сред для получения накопления бактериальной массы культур.

Накопление микробных клеток бруцелл для изготовления антигена для РНГА в существенной мере зависит от качества питательных сред.

В настоящее время для приготовления диагностических препаратов из штамма 19 используется плотная агаровая среда в четвертях или матровых колбах культивирования микроорганизмов конструкции Шестеренко А.Ф. Эта технология требует больших экономических затрат. Изготовление питательной среды на основе высокоценного пищевого продукта мяса и печени экономически не оправдано, добавление дефицитной и дорогостоящей сыворотки крови вызывает дополнительные трудности, связанные со стерильным внесением ее в готовую среду и возможностью загрязнения культуры посторонней микрофлорой.

Цель и задачи исследований. Основная цель заключалась в проведении сравнитель-

ного испытания различных сред для промышленного культивирования вакцинного штамма *B. abortus 19*.

Материал и методы. Для выращивания культуры вакцинного штамма 19 применяли следующие среды: картофельный агар на переваре Хоттингера или мясной бульон, мартеновский агар с печеночным экстрактом, мясопептонно-печеночный агар, а также казеиновый агар и глубинное выращивание бруцелл штамма 19 в жидкой питательной среде.

Картофельный агар с переваром Хоттингера готовили по следующей прописи: на 1 литр среды брали перевара Хоттингера столько, чтобы в зависимости от его качества, содержание аминного азота в готовой среде составило 130-150 мг%, глицерина — 30 мл и картофельного экстракта доливали до 1 литра, поваренной соли — 5 г, пептона — 10 г, глюкозы — 10 г, агар-агара — 30 г, pH среды перед стерилизацией — 7,3-7,6.

Печеночно-мартеновский агар. Для изготовления одного литра брали 50 мл фильтрованного мартеновского пептона, 250 мл фильтрованного печеночного экстракта, 250 мл питьевой воды, 5 г (0,5%) поваренной

соли. Устанавливали pH 7,8–8,0, кипятили 20 минут, после чего фильтровали и добавляли 4,5% агар-агара, снова кипятили 40–50 минут, после чего фильтровали, добавляли 3% глицерина, 1% глюкозы, разливали в матровые колбы и стерилизовали при 1 атм. 20 мин., pH после стерилизации 6,8–7,1.

Для глубинного выращивания бруцелл штамма 19 была использована рецептура среды: перевар Хоттингера (20–25%), глицерин (1%), глюкоза (1%), хлорид натрия (0,5%), дрожжевой экстракт (0,25%) и нативная сыворотка крупного рогатого скота (1%). Содержание аминного азота составляло 150–170 мг%, pH — 6,9–7,1.

Стерилизацию питательной среды осуществляли через стерилизующий фильтр.

Мясопептонный печеночный глюкозо-глицериновый агар. Для изготовления одного литра брали 500 мл мясного экстракта, 500 мл печеночного экстракта, 3% агар-агара, пептона — 1%, поваренной соли — 0,5%. Устанавливали pH 7–7,6, кипятили 30 минут, после чего фильтровали, добавляли 2% глицерина, 1% глюкозы, разливали в матровые колбы и стерилизовали при 1 атм. 30 мин., pH после стерилизации 6,8–7,1. Накопление бруцелл хорошее, но эта среда очень дорогостоящая.

Обратоказеиновый агар, который готовили по следующей прописи: на 1 литр среды брали гидролизат в соотношении 1:1 из обраты и казеина столько, чтобы в зависимости от содержания в них аминного азота в готовой среде содержалось 110–120 мг% аминного азота, пептона — 5 г (0,5%), поваренной соли — 5 г (0,5%), глицерина — 20 мл (2%), глюкозы — 10 г (1%), агар-агара — 30 г (3%), дистиллированной или водопроводной воды — до одного литра.

Все компоненты питательной среды по прописи, кроме глюкозы и агар-агара, смешивали и кипятили. Когда среда закипит, ее подщелачивали 10%-ным раствором едкого натра до pH 7,3–7,4, затем добавляли агар-агар согласно прописи и снова кипятили при помешивании до полного расплавления (15–20 мин.).

После расплавления агар-агара снова устанавливали pH 7,2–7,3 и измеряли объем среды; к среде добавляли недостающее количество горячей дистиллированной или питьевой воды до первоначального уровня. Среде давали отстояться 15–20 минут, после чего фильтровали через стерильный ватно-марлевый фильтр. К фильтрату добавляли 1% глюкозы, разливали в стерильные матровые колбы. После стерилизации pH 6,3–7,1.

Результаты исследований. По методу приготовления картофельного агара с переваром Хоттингера было изготовлено 3 серии питательных сред. Накопившиеся бруцеллы нас не удовлетворяли.

Рост вакцинного штамма 19 при использовании печеночно-мартеновского агара удовлетворительный, приготовили 2 серии антигена для РНГА.

При выращивании на питательной среде с обратоказеиновым агаром достигался лучший рост бруцелл штамма 19, больший выход бактериальной массы в 1 см³, а также высокие антигенные свойства.

Данная питательная среда намного дешевле, так как не используются высокоценные пищевые продукты — мясо и печень, нет необходимости добавления дефицитной и дорогостоящей сыворотки крови крупного рогатого скота.

Из бакмассы полученного штамма *V.abortus* 19 глубинным методом выращивания изготовили бруцеллезный эритроцитарный антиген для РНГА следующим образом: бакмассу осаждали путем центрифугирования при 14–15 тыс. об./мин. в течение 35–40 минут, затем из нее готовили 80–100 млрд микробную суспензию в 1 см³, в качестве растворителя использовали 12%-ный раствор хлорида натрия. После этого бакмассу бруцелл автоклавировали при 1 атм. (115°C) в течение 20–30 минут. После автоклавирования в остуженную до 45–50°C бакмассу добавляли 2% вторичного алкилсульфата натрия и внесли в водяную баню при температуре 45°C в течение 40 минут, периодически перемешивали. Затем бакмассу бруцелл центрифугировали при 14–15 тыс. об./мин. в течение 45 минут. Полученный надосадочный экстракт бруцелл использовали для сенсibilизации формализированных эритроцитов барана.

Заключение. Таким образом, в наших условиях наиболее пригодной, дешевой, простой для выращивания штамма 19 является обратоказеиновая среда, из которой получают хорошее накопление бактериальной массы бруцелл.

Список литературы

1. Коротич, А.С. Питательные среды, ускоряющие рост бруцелл / А.С. Коротич. // ЖМЭ, 1960. — Вып. 3.
2. Объединенный Комитет экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу (1970) рекомендовал в качестве основной питательной среды сывороточно-декстрозный агар.

3. Питательная среда для выделения и культивирования бруцелл, сухая (эритрит агар), микробиологические питательные среды. Каталог, Махачкала, 2001. С-47.

4. Триленко П.А, Для выращивания бруцелл рекомендует плотный печеночно-глюкозо-глицериновый агар. Кн. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Ленинград «Колос», 1976. С. 250-253.

5. С успехом применяется разработанная Плоскировым Н.В. сухая среда «Д», основу которой составляют рыбный и дрожжевой гидролизаты для

выращивания бруцелл. Книга Жованик П.Н., 1975, Издательство «Урожай». С. 19. Киев.

6. Шумилов К.В., Климанов А.И., Малахов Т.Н. Для изготовления единого бруцеллезного антигена для РА, РСК РДСК рекомендуют для выращивания штамма *B.abortus* 19 картофельный и мартековский агар с добавлением перевара Хоттингера. Справочник «Ветеринарные препараты», 1981 г., Москва, «Колос». С. 181-183.

Контактная информация:

УДК 637.075

ИВАНОВА О.Е., аспирант,
СКОРОДУМОВ Д.И. д.в.н. МГУПП

ВИДОВОЙ СОСТАВ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ, КОНТАМИНИРУЮЩИХ ТУШКИ УБОЙНЫХ КУР

У 30 % тушек убойных кур контаминированы кампилобактериями, относящиеся к группе термотолерантных. Видовой состав выделенных культур был представлен *C.jejuni* (58,8 %), в том числе *C.jejuni ssp jejuni* — 26,7 %, *C.jejuni ssp doylei* — 32 %, *C.coli* присутствовал в 21,4 %, *C.lari* — 15,2 % и *C.upsaliensis* — 4,5 % случаев.

Ключевые слова: кампилобактерии, тушки кур.

O.E. IVANOVA. D.I. SKORODUMOV

CAMPYLOBACTER SPECIES COMPOSITION, CONTAMINATING THE CARCASS OF SLAUGHTERED CHICKENS

In 30 % of carcasses of slaughtered chickens contaminated with campylobacter, belonging to the group of thermotolerant. Species composition of isolated cultures was presented *C.jejuni* (58,8 %), including *C.jejuni ssp jejuni* — 26,7 %, *C.jejuni ssp doylei* — 32 %, *C.coli* present in 21,4 %, *C.lari* — 15,2 % and *C.upsaliensis* — 4,5 % of cases.

Keywords: *Campylobacter*, chicken carcasses.

По данным ВОЗ на долю кампилобактериоза приходится от 5 до 15% всех кишечных инфекций человека. Передача возбудителя от человека к человеку явление крайне редкое. Основными источниками возбудителя для человека являются различные виды сельскохозяйственных животных и, в первую очередь, птица. Факторами передачи кампилобактерий служат продукты убоя животных, а также вода. Доминирующий клинический симптом кампилобактериоза у человека — гастроэнтерит, возможны осложнения в виде менингита, эндокардита, перитонита и т.д. [1]

Одно из основных направлений в профилактике пищевых кампилобактериозов — минимизация уровнями контаминации возбудителями продуктов убоя животных. [2]

Целью наших исследований было определение уровня контаминации кампилобактериями тушек убойных кур в некоторых птицеперерабатывающих предприятиях Московского региона, а также изучение видового состава выявляемых кампилобактерий.

Материалы и методы

Исследования осуществляли в рамках программы эпизоотического мониторинга животноводческих комплексов и птицеперерабатывающих предприятий Московского региона по кампилобактериозу проводимых ФГБУ ЦНМВЛ.

Объектом для микробиологического исследования служили смывы с тушек убойных кур. В 2013г было исследовано 800 материалов — тушек птицы, отобранных на птицеводческих предприятиях Московской об-

Таблица 1.

Видовой состав кампилобактерий, контаминирующих тушки убойных кур.

| Исследуемый материал, количество образцов | Количество выделенных культур кампилобактерий | | Видовая принадлежность кампилобактерий | | | | |
|---|---|------|--|-------------------------------|---|------|------|
| | | | Вид и подвид кампилобактерий | Количество выделенных культур | % от общего количества выделенных культур кампилобактерий | | |
| | Всего | % | | | | | |
| Смывы с тушек убойной птицы, (800 образцов) | 243 | 30,4 | C.upsaliensis | | 11 | 4,5 | |
| | | | C.jejuni | всего | | 143 | 58,8 |
| | | | | в т.ч. ssp jejuni | | 65 | 26,7 |
| | | | | ssp doylei | | 78 | 32 |
| | | | C.coli | | 52 | 21,4 | |
| C.lari | | 37 | 15,2 | | | | |

ласти в весенний, осенний, летний и зимний периоды.

Для выделения кампилобактерий в данной работе использовали в качестве среды обогащения бульон Preston (Himedia). Посевы первоначально инкубировали в микроаэрофильных условиях в течение 4ч при 37°C, затем 20ч при температуре 41,5°C. После чего, производили пересев со сред обогащения на плотную питательную среду, основу которой составлял агар Мюллер-Хинтон в нашей модификации, содержащей селективную добавку Campylobacter Supplement-I (Blaser-Wang) и аэротолерантную добавку Campylobacter Growth Supplement. Посевы инкубировали в микроаэрофильных условиях при 37°C в течение 48ч. Для дальнейшего изучения отбирали не менее 5 подозрительных колоний с каждой чашки Петри.

Изолированные чистые культуры бактерий идентифицировали с использованием ари Campy (Biomerieux) и масспектрометра MALDI Biotyper Microflex (Bruker Daltonics).

Результаты исследований

Как следует из данных таблицы 1, около 30% тушек убойных кур были контаминированы различными видами кампилобактерий. Все виды выделенных кампилобактерий относятся к группе термотолерантных, что определяется температурным режимом культивирования посевов. Количественно преобладал вид C.jejuni (58,8%), в том числе C.jejuni ssp jejuni — 26,7%, C.jejuni ssp doylei — 32%, C.coli присутствовал в 21,4%, C.lari — 15,2% и C.upsaliensis — 4,5% случаев.

Корреляции между видовым составом кампилобактерий в смывах с поверхности

тушек убойных кур выявить не удалось. Возможно это в определённой степени связано с отбором тех и других материалов для исследования методом случайной выборки, а также видовой гетерогенностью колоний в посевах, которая не нашла полного отражения при изучении ограниченного числа колоний из каждого положительного образца.

Все изолированные кампилобактерии известны как возможные этиологические агенты острых кишечных инфекций человека. [3] Уровень контаминации кампилобактериями тушек убойных кур был ниже, чем по данным других авторов [4], что видимо свидетельствует о достаточно высокой санитарной культуре на обследованных птицеперабатывающих предприятиях Московской области.

Список литературы:

1. Пожалостина Л.В. Этиологическая структура острых кишечных инфекций в России в начале XXI века. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Саратов, 2004.
2. Кирик Д.Л., Шабловская Е.А., Васильченко А.А. Некоторые современные параметры эпидемиологического процесса кампилобактериоза // ЖМЭИ. 1996. — № 5. — С. 29 — 32.
3. Минаева Н.З., Чекалина К.И., Минаев В.И., Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Под ред. Н.Н. Костюковой, С.М. Ивановой) Москва, БИНОМ, 2010, с.622-645.
4. Шурышёва Ж.Н. автореферат диссертации. Оценка риска загрязнённости пищевых продуктов бактериями рода Campylobacter., Москва, 2007, с.16.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ УБОЙНЫХ КУР МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Мясо птицы часто подвергается обсеменению *Campylobacter*. Тест-системы *api Campy* без использования дополнительных дифференцирующих тестов на первичном этапе позволяет достоверно идентифицировать до 36,6 % культур кампилобактерий. Метод масс-спектрометрии с использованием системы MALDI Biotyper Microflex, Bruker daltonics идентифицирует 100 % выделенных культур кампилобактерий

Ключевые слова: кампилобактерии, обсеменение, мясо кур, идентификация, метод, масс-спектрометрия

IVANOVA O.E., A GRADUATE STUDENT,
SKORODUMOV D.I., D.VET.S.

THE RESULTS OF THE IDENTIFICATION OF CAMPYLOBACTER ISOLATES FROM CHICKENS SLAUGHTERED BY MASS SPECTROMETRY

Poultry is often subjected to colonization *Campylobacter*. Test systems *api Campy* without additional differentiating tests at the initial stage can reliably identify up to 36.6 % of the cultures of *Campylobacter*. By mass spectrometry system using MALDI Biotyper Microflex, Bruker daltonics identifies 100 % *Campylobacter* strains

Keywords: *Campylobacter* colonization, chicken, identification method, mass spectrometry

Известна роль кампилобактерий в инфекционной патологии сельскохозяйственных животных и человека [1]. Сырьё животного происхождения нередко является источником возбудителей при пищевых кампилобактериозах людей. Из пищевых продуктов наиболее частому обсеменению кампилобактериями подвержено мясо птицы [1]. Ряд видов кампилобактерий являются этиологическими агентами пищевых инфекций, поэтому актуальна проблема совершенствования методов идентификации кампилобактерий на видовом и подвидовом уровнях. [2].

Сравнительно недавно предложена принципиально новая методика идентификации микроорганизмов с помощью масс-спектрометрии (MALDI Biotyper), которая включает в себя анализ экспрессии константных белков бактериальной клетки с помощью масс-спектров. [3]. В результате проводится сравнение спектров исследуемых бактерий со спектрами эталонных штаммов микроорганизмов, имеющимися в базе данных прибора. [3].

Метод имеет ряд преимуществ, важнейшим из которых является простота исследования с минимальной затратой времени, что в свою очередь позволяет осуществить бы-

струю и надёжную видовую идентификацию, изолированных микроорганизмов.

Цель нашей работы заключалась в сравнительной оценке идентификации кампилобактерий при помощи тест-системы *api Campy* (*biomerieux*) и методом масс-спектрометрии MALDI Biotyper Microflex (*Bruker daltonics*).

Материалы и методы.

Исходным материалом для исследования служили смывы с тушек убойной птицы. Было исследовано 800 материалов, отобранных на птицеводческих предприятиях Московской области (Истринский р-н, Наро-Фоминский р-н, Сергиево-Посадский р-н).

Результаты исследований.

В процессе исследований было выделено 243 штамма кампилобактерий.

При работе с тест-системой *api Campy* в случае некорректной идентификации изолятов применяли дополнительные тесты, позволяющие уточнить видовую принадлежность изучаемой бактериальной культуры. В качестве дополнительных тестов использовали:

- NaCl 1,5 % — рост в присутствии NaCl 1,5 %;
- NaCl 3,5 % — рост в присутствии NaCl 3,5 %;
- Ana+ТМОА — рост ванаэробных условиях в присутствии 0,1 % триметиламиноксида как акцептора электронов;

- CFTR — устойчивость к цефалотину;
- Anaero. — рост в анаэробных условиях;
- 25°C — рост при 25°C;
- Glycine 1% — рост в присутствии глицина 1%;
- Aero. — рост в аэробных условиях;
- NO₃ → NO₂ — восстановление нитратов.

Результаты идентификации бактериальных изолятов сравниваемыми методами представлены в таблицах 1 и 2.

Как следует из данных таблицы 1, с помощью тест-системы аri Camru без использования дополнительных дифференцирующих тестов на первичном этапе достоверно удалось идентифицировать 36,6% выделенных культур кампилобактерий. Путём использования дополнительных тестов удалось идентифицировать все изоляты кампилобактерий, но это потребовало дополнительного времени.

Таблица 1.

Результаты идентификации кампилобактерий при помощи системы аri Camru

| Общее количество исследованных кампилобактерий | Результаты определения видовой принадлежности кампилобактерий на первичном этапе идентификации при помощи тест-системы аri Camru | | | | | Результаты идентификации кампилобактерий с использованием дополнительных тестов | | | | | | |
|--|--|------|-------------------------|----------------------------|------|---|---|-----|----------------------------|---------------------|---|------|
| | Корректно идентифицировано культур | | | Некорректная идентификация | | Корректная идентификация | | | Некорректная идентификация | | | |
| | К-во штаммов | | Идентифицированные виды | К-во штаммов | | Возможные виды | абс | % | Виды | абс | % | Виды |
| | абс | % | | абс | % | | | | | | | |
| 243 | 89 | 36,6 | C.coli (38) | 154 | 63,4 | C.coli, C.upsaliensis, C.lari (комбинация I) | 14 | 9 | C.coli | - | - | - |
| | | | | | | C.jejuni ssp doylei, C.upsaliensis (комбинация II) | 11 | 7,1 | C.upsaliensis | - | - | - |
| | | | | | | C.lari (37) | C.jejuni ssp jejuni, C.upsaliensis, C.lari (комбинация III) | 78 | 50,6 | C.jejuni ssp doylei | - | - |
| C.jejuni ssp jejuni | 51 | 20,9 | C.jejuni ssp jejuni | - | - | | - | | | | | |

Таблица 2.

Результаты идентификации кампилобактерий методом масс-спектрометрии

| Результаты идентификации кампилобактерий | | | | | |
|---|--------------------|------|----------------------------|--------------------|------|
| При помощи тест-системы аri Camru с применением дополнительных тестов | | | Методом масс-спектрометрии | | |
| Идентифицированные виды | Количество штаммов | | Идентифицированные виды | Количество штаммов | |
| | абс | % | | абс | % |
| C.coli | 52 | 21,4 | C.coli | 52 | 21,4 |
| C.upsaliensis | 11 | 4,5 | C.upsaliensis | 11 | 4,5 |
| C.jejuni ssp doylei | 78 | 32 | C.jejuni ssp doylei | 78 | 32 |
| C.jejuni ssp jejuni | 65 | 26,7 | C.jejuni ssp jejuni | 65 | 26,7 |
| C.lari | 37 | 15,2 | C.lari | 37 | 15,2 |

Метод масс-спектрометрии с использованием системы MALDI Biotyper Microflex, Bruker daltonics позволил в один этап идентифицировать 100 % выделенных культур кампилобактерий (таблица 2) с минимальными затратами времени и расходных материалов. Получено полное совпадение результатов идентификации кампилобактерий при помощи тест-системы ари Camру и системы MALDI Biotyper Microflex.

Список литературы:

1. Шумилов К. В., Скляр О. Д., Мельниченко Л. П. и др., Кампилобактериоз животных // Ветеринария. 1999. — № 9. — С.7-12.
2. Минаева Н.З., Чекалина К.И., Минаев В.И., Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Под ред. Н.Н. Костюковой, С.М. Ивановой) Москва, БИНОМ, 2010, с.625-645.
3. MALDI Biotyper 3.0 Руководство пользователя, Bruker daltonics GmbH, 2011г с. 11 — 13.

УДК 579.66

**О. Ю. ЮСУПОВ, С. Г. ХАИРОВ, С. Ш. КАБАРДИЕВ,
М.Г. ГАЗИМАГОМЕДОВ**

*ГНУ Прикаспийский зональный научно-исследовательский
ветеринарный институт*

Д.А. ДЕВРИШОВ

*Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии*

О. Д. СКЛЯРОВ, А. И. КЛИМАНОВ
ФГБУ «ВГНКИ»

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ
ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА ОВЕЦ
ИЗ ШТАММА BRUCELLA MELITENSIS REV-1**

Вакцинный штамм Brucella melitensis Rev-1 получен в 1953 г. в США (Калифорния) Херцбергом и Эльбергом (Herzberg, Elberg).

В первоначальных опытах М. Herzberg, S.Elberg (1955), S. Elberg и W.K. Faunse (1957), L.M. Jones, P.D. Thomson, G.G. Alton (1958) показали, что штамм Rev-1 слабовирулентен для белых мышей, морских свинок и коз и сообщает им выраженный иммунитет к заражению бруцеллезом, что вызвало у исследователей во многих странах большой интерес к его изучению.

По рекомендации ФАО/ВОЗ изучение культурально-морфологических, вирулентных, антигенных, иммуногенных и других свойств штамма B. melitensis Rev-1 проводили в США, на о. Мальта, во Франции, Италии, Испании, Аргентине, Португалии, Кипре и ряде других стран. В Советском Союзе изучение штамма Rev-1 и разработка системы мер борьбы с бруцеллезом овец с применением вакцины из этого штамма были начаты в 1958 г.

Многочисленные исследования, проведенные за рубежом и в нашей стране, показали, что штамм Rev-1 обладает пониженной вирулентностью, высокой иммуногенностью

для морских свинок, коз и овец, безопасен, стабилен, не повышает свою вирулентность и по своим свойствам отвечает всем требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам бруцелл.

По данным П.С. Уласевич (1965), S. S. Elberg и W.K. Faunse (1962), G.G. Alton, S.S. Elberg, D.Grouch (1967) и др., вирулентные, иммуногенные и другие биологические свойства штамма Rev-1 не изменились при серийных пассажах через организм морских свинок, суягных коз и овец.

Штамм Rev-1 был 6 раз серийно пассирован на беременных козах и 6 раз — на суягных овцах без каких-либо признаков повышения вирулентности (Пятый доклад Объединенного комитета экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу, 1970). Живая вакцина Rev-1 при подкожном введении козам в возрасте 3-8 месяцев, в дозе от 1 до 2-х 10⁹ м.к., не вызвала продолжительной инфекции или длительного образования антител (Четвертый доклад Объединенного комитета экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу, 1963).

В опытах S. S. Elberg и W.K. Faunse (1957) штамм Rev-1 вызывал у коз генерализован-

ный процесс, который отличался от инфекции, обуславливаемой вирулентными культурами *Brucella melitensis*. Вакцинированные животные освобождались от бруцелл штамма Rev-1 через 14 недель (98 дней) после иммунизации.

Такие же результаты получены при изучении вакцинального процесса у овец, привитых штаммом Rev-1 (Е.С. Орлов, П.С. Уласевич, М.М. Иванов, 1962; К.В. Шумилов, 1973; Б.А. Аманжолов, 1977, О.Ю. Юсупов, П.Д. Устарханов, Д.А. Алиева, 1980, О.Ю. Юсупов, 1986; L.M. Jones, J. Marly, 1975 и др.).

По результатам исследований А.В. Акулова (1971), заселение организма овец и морских свинок культурой Rev-1 не сопровождалось образованием патоморфологических изменений, характерных для вирулентных штаммов бруцелл.

М.П. Альбертян, К.В. Шумилов (1980), К.А. Каткинбаев, А. Аманбаев (1983) установили, что иммуноморфологические реакции, развивающиеся у овец, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1, носят доброкачественный характер без глубоких дистрофических, некробиотических изменений в органах и тканях животных.

Безвредность и безопасность вакцины из штамма Rev-1, при использовании ее для иммунизации ярок и овцематок за 2-3 месяца до случки, была подтверждена и исследованиями, проведенными во многих научно-исследовательских учреждениях нашей страны и стран ближнего зарубежья (ВИЭВ, Прикаспийский ЗНИВИ, СКЗНИВИ, Киргизский НИИЖВ, Казахский НИВИ, Туркменский НИИЖВ и др.).

При совместном содержании здоровых суягных овец с овцами, абортировавшими вследствие прививки вакцины из штамма Rev-1 в период суягности, L. Neeman, 1963 (цит. по G. Alton a S. Elberg, 1967) не наблюдала передачи бруцелл вакцинного штамма от одних овец другим, несмотря на то, что инфицированный материал от абортировавших овец, с целью усиления опасности заражения, искусственно наносился на конъюнктиву невакцинированных овец.

Многочисленные опыты по изучению иммуногенных свойств вакцины из штамма Rev-1, проведенные в разных странах по рекомендации и при поддержке ФАО/ВОЗ, показали, что эта вакцина способна защищать беременных и небеременных коз и овец от контрольного заражения вирулентной культурой *Brucella melitensis* как при подкожном или конъюнктивальном ее введении, так и

при содержании вакцинированных животных в искусственно созданном очаге инфекции вместе с абортировавшими козами и овцами — донорами инфекции (Е.С. Орлов, П.С. Уласевич, 1962, 1965; М.М. Иванов, Л.В. Кириллов, 1962; Т.М. Глонти, 1969; Н.В. Софронов, Ю.А. Кузнецов, 1971; О.Ю. Юсупов, 1971, 1976, 1997; К.В. Шумилов, 1973, Н. Шевченко, Т. Малахова, М. Абиджанов, 1978; S.S. Elberg, W.K. Faunse, 1957; G. Renoux, 1958; L. Jones, P.D. Thomson, a G.G. Alton, 1958; L.M. Jones, F. Entessar, A. Ardalán, 1964; G.G. Alton, 1961, 1973; G.G. Alton, S.S. Elberg, 1967; W.I.B. Morgan, 1974).

По результатам исследований G. Renoux (1958), резистентность к бруцеллезной инфекции у вакцинированных коз, определяемая путем конъюнктивального заражения их возрастающими дозами вирулентной культуры *B. melitensis* 53N38 по JD50, увеличилась в 89-110 раз.

Высокая эффективность применения вакцины из штамма Rev-1 для иммунизации коз была показана S.S. Elberg (1959) и в опыте, проведенном в Испании с целью проверки напряженности иммунитета, путем искусственного заражения вакцинированных и контрольных животных. При этом у вакцинированных коз ИД50 была примерно в 2000 раз больше, чем у контрольных.

Е.С. Орлов, П.С. Уласевич, М.М. Иванов (1962) проверили иммунитет у овец через 6 месяцев после иммунизации их вакцинами штаммами *V.abortus* 19, 104-М, *B. suis* 61, *B. melitensis* Rev-1 и вакциной ЛенНИВИ П.А. Триленко путем искусственного заражения их вирулентной культурой *Brucella melitensis*. При этом наиболее иммуногенной оказалась вакцина из штамма Rev-1. Все овцы, привитые ею, противостояли заражению, в то время как среди овец, привитых другими вакцинами, заразилось значительное количество (37,5-75%) животных.

Аналогичные результаты при сравнительном изучении иммуногенных свойств вакцин из штаммов Rev-1 и 19 на овцах получили А.А. Клочков, 1965; Ю.К. Третьяков, 1968; Т.М. Глонти, 1969; Н.В. Софронов, Ю.А. Кузнецов, 1971; М.М. Иванов, А.И. Климанов, Г.Г. Попова, Р.В. Складчиков, 1972; А.Х. Шевченко, Т.И. Малахова, М.С. Абиджанов, 1978; L.M. Jones, F. Entessar, A. Ardalán, 1964; W.J. Morgan, 1974 и др.

В эксперименте, проведенном в Иране F.Entessar, A. Ardalán, E. Ebadi и J.M. Jones (1967), проверили длительность иммунитета у 29 овец, привитых вакциной из штамма Rev-

1 в возрасте 4-х месяцев, во время их первой беременности, спустя 18 месяцев после иммунизации и у 16 овец, вакцинированных в возрасте 22-х месяцев в период лактации, через 20 месяцев после иммунизации, а также у 38 овец, привитых в возрасте 15 месяцев, спустя 2,5 года после иммунизации.

Овцы всех трех групп оказались хорошо защищенными от заражения *Brucella melitensis*, несмотря на высокую инфицированность овец контрольных групп.

В опыте, проведенном в Турции, S. Unel, R. Erden, C.F. Williams a. Stableforth (1969), установили, что у ярок, привитых в возрасте 4-6 месяцев, при искусственном заражении вирулентными культурами *B. melitensis* в период первой суягности, спустя 18 месяцев после вакцинации сохраняется иммунитет высокой напряженности.

В другом опыте S. Unel и S. Durikan (1978) показали, что у ярок, однократно привитых вакциной из штамма Rev-1, иммунитет сохраняется и в период четвертой суягности.

Во Франции вакцину из штамма Rev-1, по сообщению G. Andre-Fontaine, готовят в 8-ми лабораториях, ее применяют при бруцеллезе овец и коз. Иммунитет у них сохраняется до 4-5 лет.

Весьма обнадеживающие результаты применения вакцины из штамма Rev-1 для массовой иммунизации овец и коз получены в Монголии. В тяжелых условиях кочевого скотоводства в этой стране число новых случаев заболевания бруцеллезом среди населения сократилось с 500-700 случаев в год в период начала оздоровительной кампании (1975) до 38 случаев в 1980 и 31 случая в 1981 г. Число абортосов у овец и коз сократилось в 3-5 раз (J. Kolar, 1984).

Вакцина из штамма Rev-1, по данным J. Kolar (1984), является наиболее эффективной из всех испытанных в различных странах в течение последних двух десятилетий противобруцеллезных вакцин. Эта вакцина обеспечивает надежную защиту овец и коз против инфекции *B. melitensis*, по меньшей мере, в течение 5 лет. По мнению автора, широкое применение на практике указанной вакцины является новой вехой в борьбе с бруцеллезом овец.

Обобщая накопленные за рубежом данные по изучению длительности иммунитета, сообщаемого вакциной из штамма Rev-1, в Пятом (1970 г.) и Шестом (1986 г.) Докладах Объединенного комитета экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу отмечается, что "иммунитет, вызванный у коз, сохраняется неизменным в

течение 4,5 лет после вакцинации — самого длительного изученного периода времени и, вероятно, сохраняется в течение всей жизни".

У овец — ... "контролируемые лабораторные опыты показали, что вакцина Rev-1 создает лучший иммунитет, чем вакцина из штамма 19".

"Дополнительные опыты, поставленные для определения длительности иммунитета, показали, что овцы в возрасте 15 месяцев, иммунизированные вакциной Rev-1 до первой беременности, были резистентны к тяжелой природной инфекции при третьей беременности, а овцы, вакцинированные в возрасте 4-х месяцев — во время второй беременности".

Продолжительность иммунитета у коз составляет, по крайней мере, 4,5 года. У ярок иммунитет длится до второй или третьей беременности.

"Козам и овцам обычно вводят в возрасте 4-6 мес. дозу вакцины (Rev-1), содержащую рекомендованное количество жизнеспособных бактерий. Одна инъекция защищает коз в течение 4-5 лет. В результате введения вакцины животные оказываются защищенными в течение всего последующего периода жизни...

Овцы, которые в возрасте 15 мес. до первого спаривания были привиты ... Rev-1, оказались устойчивыми к естественному заражению во время 3-ей беременности (через 3 года), ягнята, вакцинированные в 4-х мес. возрасте — во время второй беременности (через 3 года) с понижением иммунитета к моменту наступления 3-ей беременности (через 4 года).

... Наиболее эффективным методом достижения контроля за бруцеллезной инфекцией является обычная вакцинация всех коз и овец в неполовозрелом возрасте полной дозой Rev-1 (10^9 кл.), хотя на первом этапе прививочной кампании может оказаться полезной вакцинация взрослых коз пониженной дозой (напр. 10^5 микробных клеток = 100 тыс. м.к. или $1/_{10}$ полной дозы).

По данным зарубежных исследователей и опытов, проведенных в нашей стране, вакцина из штамма Rev-1 является наиболее иммуногенной из всех известных бруцеллезных вакцин.

Отмечая высокие иммуногенные свойства вакцины из штамма Rev-1, Объединенный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по бруцеллезу в своих Четвертом (1963) и Пятом (1970) докладах рекомендовал применять ее в борьбе с бруцеллезом овец и коз.

В 1966-1970 гг. ВИЭВ и Дагестанский НИВИ, впервые в нашей стране, испытали вакцину из штамма Rev-1 в производственных условиях в 3-х стационарно неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах Республики Дагестан на поголовье более 20 тыс. ярок. Из них в одном хозяйстве в контролируемом опыте проводили сравнительное изучение эпизоотической эффективности вакцин из штаммов *B. melitensis* Rev-1 и *B. abortus* 19. В данном опыте вакцинированных животных содержали в одной отаре с неблагополучными по бруцеллезу овцематками и периодически исследали на бруцеллез.

За время нахождения в неблагополучной по бруцеллезу маточной отаре (3 года) в группе овец, привитых вакциной из штамма Rev-1, заболела одна овца, а среди привитых вакциной из штамма 19 — в 10 раз больше, что свидетельствовало о более высокой эпизоотической эффективности вакцины из штамма Rev-1, по сравнению с вакциной из штамма 19.

В двух других хозяйствах (колхозы им. Ленина и «Красный Октябрь») изучали целесообразность иммунизации ярок вакциной из штамма Rev-1 в системе мероприятий по оздоровлению овцеголовья от бруцеллеза.

В колхозе им. Ленина, неблагополучном по бруцеллезу более 18 лет, насчитывалось более 20 тыс. овец породы «Грозненский меринос». В маточных отарах хозяйства выделяли до 10-16,8% больных бруцеллезом овец, наблюдались аборт бруцеллезной этиологии. Среди чабанов, сакманщиков и другого обслуживающего персонала отмечались случаи заболевания людей бруцеллезом.

Широкое распространение имел бруцеллез и в колхозе «Красный октябрь». В хозяйстве имелось около 7,5 тыс. овец породы «Дагестанская горная». Система ведения овцеводства — отгонно-пастбищная. Пораженность маточных отар бруцеллезом до начала применения вакцины из штамма Rev-1 составляла в среднем 5,3%.

Исследования, проведенные в процессе испытания вакцины из штамма Rev-1, показали безопасность массовых прививок овец вакциной из указанного штамма и высокую эффективность применения ее для иммунизации ярок и переярок в системе противобруцеллезных мероприятий.

В хозяйствах со значительной пораженностью овец бруцеллезом в отарах, сформированных из иммунизированных ярок, не наблюдались аборт и другие клинические проявления болезни, а также случаи

заражения бруцеллезом вакцинированных животных.

Ярки, привитые однократно вакциной из штамма Rev-1, противостояли заражению естественным бруцеллезом в течение 4-5 лет после иммунизации (срок наблюдения), хотя они имели постоянный контакт с овцами неблагополучных по бруцеллезу отар на пастбищах, водопое, пунктах искусственного осеменения, а часть из них длительное время содержалась совместно с ними в одних и тех же отарах. От овцематок, выращенных из вакцинированных ярок, получали здоровый молодняк.

Путем проведения ежегодной иммунизации нарождающихся ярок вакциной из штамма Rev-1 в комплексе с ветеринарно-санитарными мероприятиями и постепенной замены ими и полученным от них молодняком неблагополучных по бруцеллезу взрослых овец в течение 4-5 лет хозяйства были оздоровлены от бруцеллеза.

Высокие иммунизирующие свойства вакцины из штамма Rev-1 были подтверждены и в экспериментальных условиях в опытах, проведенных в Прикаспийском зональном НИВИ по проверке длительности иммунитета у овец, сообщаемого этой вакциной.

В первом опыте через 3 и 5 лет после вакцинации искусственному заражению вирулентной культурой *B. melitensis* подвергалось 19 овцематок породы «Грозненский меринос». Через 3 года иммунитет установлен у 11 овец из 15 (73%), через 5 лет — у 3-х из 4-х (75%).

Во втором опыте через 2,5 года после иммунизации заражению противостояло 33 овцы из 41 (80%). У заразившихся 8 овец установлена незначительная обсемененность организма бруцеллами и ни в одном случае не выделена культура заражающего штамма из матки и плода, что свидетельствует о частичном иммунитете. У овец контрольной группы установлена генерализованная инфекция.

В третьем опыте, проведенном на 100 ярках породы «Дагестанская горная», установлен иммунитет к заражению 100-кратной инфицирующей дозой *B. melitensis* через 3 года и 3 месяца после иммунизации у 80%, через 4 года и 2,5 месяца — у 70% животных.

Особенно убедительно иммуногенные свойства вакцины из штамма Rev-1 были иллюстрированы в комиссионном опыте по сравнительному изучению на овцах и морских свинках иммуногенных свойств 7 вакцинных штаммов бруцелл, проведенном в

1969-1970 гг. по заданию ГУВ МСХ СССР 5 научно-исследовательскими ветеринарными институтами (ВИЭВ, ВГНКИ, ЛенНИВИ, ДагНИВИ, УзНИВИ) с участием ведущих ученых-специалистов по бруцеллезу с целью отбора штамма, наиболее пригодного для использования при изготовлении вакцины против бруцеллеза мелкого рогатого скота. В данном опыте овцы, привитые вакциной из штамма Rev-1, проявили наиболее высокую степень защиты к искусственному заражению вирулентной культурой *B.melitensis*, по сравнению со всеми другими испытываемыми противобруцеллезными вакцинами (табл. 1).

Как видно из таблицы 1, в группе овец, привитых вакциной из штамма Rev-1, иммунитет установлен у 92% животных, а от заразившихся 2-х овец из лимфатических узлов выделено только 4 культуры бруцелл заражающего штамма и за период, прошедший после искусственного заражения до убоя (4 месяца и 23 дня), ни одна овца не абортировала на почве бруцеллеза. В то же время из числа, привитых вакциной из штамма 19, противостояло заражению только 37,1% овец, а у 17 заразившихся животных установлена высокая обсемененность организма бруцеллами (выделена 81 культура) и 3 овцы (13,6%) абортировали.

Результаты комиссионного испытания вакцинных штаммов бруцелл были рассмотрены на специальном совещании, состоявшемся при ГУВ МСХ СССР 12 января 1971 г.

На этом совещании комиссия констатировала, что в распоряжении ветеринарной службы имеются вакцинные штаммы бруцелл, более пригодные для применения в хозяйствах в качестве вакцины для овец, чем

вакцина из штамма *B.abortus* 19 и рекомендовала ГУВ МСХ СССР провести широкое испытание в производственных условиях вакцин из наиболее иммуногенных штаммов, в том числе из штамма Rev-1. Вместе с тем, на совещании членами комиссии ведущими учеными страны, профессорами Е.С. Орловым, П.С. Уласевичем, П.А. Триленко и А.А. Аливердиевым было внесено предложение о прекращении применения вакцины из штамма *B.abortus* 19 для иммунизации овец. Однако, необходимо было шире испытать в производственных условиях на мелком рогатом скоте наиболее перспективные вакцинные штаммы, в том числе штамм *B.melitensis* Rev-1 с тем, чтобы как можно быстрее заменить вакцину из штамма 19 более пригодной для практики вакциной.

С этой целью с 1971 г., в соответствии с приказом ГУВ МСХ СССР, под научно-методическим руководством ВИЭВ и Дагестанского НИВИ, в Республике Дагестан проводилось испытание вакцины из штамма Rev-1 для иммунизации ярок в порядке широкого производственного опыта. За период с 1971 по 1977 г. этой вакциной в 317 хозяйствах 34 районов республики было привито 1 млн. 743 тыс. ярок.

При изучении эффективности применения вакцины из штамма Rev-1 в Дагестане было установлено, что в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах в отарах, сформированных из вакцинированных ярок, не отмечались аборты бруцеллезной этиологии и случаи заражения вакцинированных овец.

Наблюдения и исследования, проведенные в целом ряде хозяйств, показали, что овцы, иммунизированные вакциной из штам-

Таблица 1

Результаты проверки иммуногенных свойств вакцинных штаммов бруцелл на овцах

| Штамм | Количество овец | | Установлен иммунитет | | Заразилось | | Выделено культур (обсемененность организма бруцеллами) | Абортировало | |
|----------|-----------------|----------------------|----------------------|------|------------|-------|--|--------------|------|
| | всего | в том числе сукягных | К-во | % | К-во | % | | К-во | % |
| 19 | 27 | 22 | 10 | 37,1 | 17 | 62,9 | 81 | 3 | 13,6 |
| 89/23 | 27 | 24 | 22 | 81,5 | 5 | 18,5 | 9 | 1 | 4,6 |
| 104М | 26 | 23 | 20 | 76,9 | 6 | 33,1 | 21 | 1 | 4,0 |
| Rev-1 | 25 | 22 | 23 | 92,0 | 2 | 8,0 | 4 | - | - |
| К-24 | 26 | 22 | 16 | 61,5 | 10 | 38,5 | 16 | 1 | 5,0 |
| Н-12 | 28 | 21 | 5 | 17,8 | 23 | 82,2 | 76 | 2 | 9,5 |
| 56 | 28 | 22 | 11 | 39,3 | 17 | 60,7 | 52 | 4 | 18,2 |
| Контроль | 28 | 22 | - | - | 28 | 100,0 | 106 | 6 | 27,3 |

ма Rev-1, не заражались бруцеллезом даже при совместном содержании их в течение длительного времени (2-3 лет и более) в одних и тех же отарах с неблагополучными по бруцеллезу овцами.

Применение вакцины предотвращало не только аборт на почве бруцеллеза и заражение вакцинированных овец, но и выделение полевых штаммов бруцелл вида мелитензис в период ягнения и с молоком, что в значительной степени уменьшало опасность распространения бруцелл во внешней среде и возможность заражения людей через овечье молоко, брынзу и другие продукты, а также при уходе за животными. В хозяйствах, где применяли вакцину из штамма Rev-1, не регистрировались случаи заболевания людей бруцеллезом.

Результаты бактериологических и массовых серологических исследований вакцинированных овец и полученного от них молока, а также баранов-производителей, проведенных с целью учета результатов применения вакцины из штамма Rev-1, показали, что использование ее в комплексе противобруцеллезных мероприятий позволяет оздоровить хозяйства со значительной пораженностью овец бруцеллезом, предупредить появление новых неблагополучных пунктов и обеспечить надежное благополучие оздоровленных хозяйств.

На основании большого фактического материала по изучению вакцины из штамма Rev-1 в экспериментальных условиях и производственному ее испытанию было установлено, что прививка этой вакцины молодняку овец и коз сообщает напряженный и длительный иммунитет, что позволяет использовать эту вакцину в системе мер борьбы, основанной на выращивании здорового, устойчивого к заражению поголовья в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах.

На практике было доказано, что путем ежегодной вакцинации нарождающихся ярок и постепенной замены ими неблагополучных по бруцеллезу взрослых овец достигается оздоровление хозяйств от бруцеллеза.

Применение вакцины с полным охватом всего поголовья ярок позволило оздоровить неблагополучные по бруцеллезу хозяйства и обеспечивало профилактику заболевания при угрозе заноса инфекции в благополучные хозяйства.

Материалы, полученные в процессе испытания вакцины из штамма Rev-1 в хозяйствах Дагестана и результаты изучения ее иммуногенных свойств в экспериментальных усло-

виях, послужили основанием для разработки системы мер борьбы с бруцеллезом овец с применением ее для иммунизации ярок (ВИЭВ и Дагестанский НИВИ).

С применением этой системы в крайне тяжелых условиях отгонного овцеводства Дагестана, где нет условий для изолированного содержания овец неблагополучных по бруцеллезу отар и обособленного выращивания молодняка, имеются большие трудности в проведении диагностических исследований и других мероприятий, впервые за всю историю борьбы с бруцеллезом в республике, овцеголовье было оздоровлено от бруцеллеза.

В процессе испытания вакцины из штамма Rev-1 было установлено, что большим преимуществом этой вакцины является и то, что система мероприятий по оздоровлению овцеголовья с ее применением не предусматривает поотарную замену неблагополучного по бруцеллезу поголовья овец и изолированное выращивание здорового иммунизированного молодняка, что является обязательной при использовании вакцины из штамма 19. Оздоровление неблагополучных хозяйств с применением вакцины из штамма Rev-1 достигается путем постепенного вытеснения неблагополучного поголовья вакцинированными ярками и полученным от них молодняком. Следует также отметить, что оздоровление ярок, полученных от неблагополучных по бруцеллезу маток с применением вакцины из штамма Rev-1 достигается в первом же поколении, в связи с чем значительно сокращаются сроки оздоровления хозяйств от бруцеллеза.

Опыт профилактики и ликвидации бруцеллеза овец с применением вакцины из штамма Rev-1 в Дагестанской АССР экспонировался на ВДНХ СССР.

После оздоровления овцеголовья от бруцеллеза в основных овцеводческих районах и хозяйствах, где ярок прививали вакциной из штамма Rev-1, прекратились случаи заболевания бруцеллезом чабанов, сакманщиков, ветеринарных специалистов и других работников, занятых по уходу за овцами.

В течение 50-летних наших наблюдений, включая и годы широкого применения вакцины из штамма V.abortus 19 для иммунизации и реиммунизации овец (20 лет), заболеваемость людей бруцеллезом в Дагестане не была столь низкой, как в этот период, когда овцеголовье было оздоровлено от этой болезни с применением вакцины из штамма Rev-1. По сравнению с предыдущими годами

заболеваемость людей бруцеллезом снизилась, примерно, в 2 раза. Так, если в течение 4-х лет до применения в широкой практике вакцины из штамма Rev-1 в республике было зарегистрировано 182 случая заболевания людей бруцеллезом, из которых в 116 случаях источником инфекции служили овцы, то за такой же период после оздоровления овцепоголовья, бруцеллез был установлен у 94 человек (23,5 случая в среднем за год). Из них только в 29 случаях источником инфекции служили овцы или в 7,25 случаях в среднем за год.

Новые случаи заболевания людей бруцеллезом имели место в отдельных районах, где среди коров и нетелей наблюдались абортс бруцеллезной этиологии или в мелких овцеводческих хозяйствах и в индивидуальных подворьях граждан, где овец не исследовали на бруцеллез и не иммунизировали вакциной из штамма Rev-1.

Следует отметить, что за годы широкого применения вакцины из штамма Rev-1 ни разу не была выделена культура вакцинного штамма от абортировавших овец или больных бруцеллезом людей.

В 1973-1974 гг. материалы по изучению вакцины из штамма Rev-1 в экспериментальных и производственных условиях были рассмотрены и одобрены:

- межведомственной научно-методической комиссией при Министерстве здравоохранения СССР и Министерстве сельского хозяйства СССР;
- учеными советами ВИЭВ и ВГНКИ;
- Ветеринарной секцией Научно-технического совета.

По рекомендации ВГНКИ и ВИЭВ, а также НТС, ГУВ МСХ СССР приняло решение о проведении в 9 союзных республиках широкого производственного испытания вакцины из штамма Rev-1 в комплексе ветеринарных мероприятий против бруцеллеза мелкого рогатого скота и об изготовлении сухой вакцины из штамма Rev-1 на Алма-Атинском биокомбинате.

Испытание вакцины проводилось с 1975 по 1980 годы в Казахской, Киргизской, Туркменской, Азербайджанской, Армянской, Грузинской, Таджикской, Узбекской ССР и РСФСР. Вакцину применяли для иммунизации ярок в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах при их оздоровлении от бруцеллеза и в благополучных — с профилактической целью при угрозе заноса инфекции. Всего за указанный период было иммунизировано 67,3 млн. ярок.

Для обеспечения широкого применения вакцины Алма-Атинский биокомбинат под научно-методическим руководством и при участии ВИЭВ и Дагестанского НИВИ освоил промышленную технологию производства сухой вакцины из штамма Rev-1 и к 1980 г. выпустил 122 млн. доз вакцины. Контроль качества вакцины осуществлял ВГНКИ.

По всеобщему признанию научно-исследовательских учреждений и руководителей ветеринарных служб, применение вакцины из штамма Rev-1 повышало эффективность противобруцеллезных мероприятий, позволяло оздоровить в сравнительно короткие сроки и с небольшими затратами неблагополучные хозяйства в районах со сложной эпизоотической ситуацией по бруцеллезу и обеспечить надежное их благополучие по этой болезни.

Установлена безвредность и безопасность иммунизации ярок вакциной из штамма Rev-1. Из молока, абортированных плодов и лимфатических узлов и органов овцематок, выращенных из ярок, привитых данной вакциной, ни разу не выделена культура штамма Rev-1.

При многолетнем применении ее для иммунизации многих миллионов животных, как за рубежом, так и в нашей стране не были установлены случаи заболевания бруцеллезом людей, вызванных вакцинной культурой.

По сообщению Горшенко В.В. (Минздрав СССР), заболеваемость людей бруцеллезом изучалась в зоне применения вакцины из штамма Rev-1; этот штамм ни разу не выделен от больных бруцеллезом людей (протокол заседания Ветсекции НТС МСХ СССР № 76 от 22.10.80г.).

Результаты широкого производственного испытания вакцины из штамма Rev-1 в системе противобруцеллезных мероприятий в октябре 1980 г. были обсуждены на заседаниях Ученого Совета ВГНКИ ветеринарных препаратов и Научно-технического Совета МСХ СССР.

На основании рекомендаций Ученого Совета ВГНКИ и НТС МСХ СССР, а также заключений главных управлений ветеринарии министерств сельского хозяйства союзных республик и научно-исследовательских ветеринарных учреждений приказом от 1 июля 1981 г. (№ 35) сухая вакцина из штамма Rev-1 *Brucella melitensis* была принята в ветеринарную практику для профилактики бруцеллеза мелкого рогатого скота в системе ветеринарных мер борьбы с этой болезнью животных.

Таким образом, до внедрения в ветеринарную практику вакцина из штамма Rev-1 изучалась в нашей стране в течение 23 лет.

В первые годы после внедрения в практику вакцины из штамма Rev-1 в наставлении по ее применению была предусмотрена иммунизация ею нарождающихся ярок и обособленное содержание взрослых овцематок, ранее привитых вакциной из штамма V.abortus 19 с проведением ежегодной реиммунизации их этой же вакциной до сдачи на убой по мере хозяйственной выбраковки или до полной групповой замены овцематками, выращенными из иммунных ярок, привитых вакциной из штамма Rev-1. Безопасность и целесообразность иммунизации и реиммунизации овцематок вакциной из штамма Rev-1 тогда была изучена еще недостаточно.

Применение вакцины из штамма Rev-1 для иммунизации ярок защищало вакцинированных животных от заражения бруцеллезом и при условии полного охвата всего поголовья ярок вакцинацией и комплектования из них отдельных отар, а также проведения санитарных мероприятий обеспечивало оздоровление хозяйств от бруцеллеза путем постепенной замены неблагополучного по бруцеллезу поголовья иммунными овцами, выращенными из ярок, привитых вакциной из штамма Rev-1.

Однако, вскоре выяснилось, что при осуществлении мер борьбы с бруцеллезом с применением двух разных вакцин во многих случаях оказалось невозможным соблюдать на практике основной принцип системы мер борьбы с бруцеллезом мелкого рогатого скота, регламентированный инструкцией по борьбе с бруцеллезом, заключающийся в изолированном содержании привитых вакциной из штамма 19 неблагополучных по бруцеллезу овцематок и групповой замене их обособленно выращенными иммунными ярками, привитыми вакциной Rev-1. В этих условиях, когда из-за недостаточно высокой культуры ведения овцеводства, не проводилась идентификация животных и не ввели учет поголовья, привитого вакциной из штамма Rev-1 и часть ярок оставалась невакцинированной, наблюдалась бесконтрольная миграция овец из одних отар в другие, происходило смешивание привитых вакциной из штамма Rev-1 овец с невакцинированными и непроверенными на бруцеллез или привитыми вакциной из штамма 19 животными, в ряде регионов наметилась тенденция осложнения эпизоотической обстановки, роста заболеваемости овец и людей бруцеллезом. Возникли

большие трудности в осуществлении контроля за ситуацией по бруцеллезу, особенно в выявлении источника возбудителя инфекции для людей.

Учитывая изложенное, с 1983 г. реиммунизация овцематок вакциной из штамма 19 была прекращена. Применялась только вакцина из штамма Rev-1 для ежегодной иммунизации нарождающихся ярок. Однако, при широком применении ее для массовой иммунизации ярок в масштабе всей страны, в целом ряде случаев допускались нарушения, которые в регионах со сложной эпизоотической ситуацией по бруцеллезу снижали эффективность проводимых мероприятий. В частности:

- не везде обеспечивали полный охват прививками ярок, оставляемых в хозяйстве для воспроизводства;
- в отары вакцинированных овец вводили непривитых и неисследованных на бруцеллез животных;
- допускали длительные перерывы (1-2 года и более) в проведении вакцинации ярок в хозяйствах;
- нередко вакцину применяли в хозяйствах, в которых установлен бруцеллез, но они не объявлены неблагополучными и в них не проводится комплекс оздоровительных мероприятий;
- имелись случаи неправильного хранения и транспортировки вакцины, в результате чего происходила гибель или снижение количества живых бруцелл в вакцине;
- в хозяйствах, где применяли вакцину, не всегда выполняли элементарные ветеринарно-санитарные мероприятия (изоляция, убой абортчек и положительно реагирующих животных и др.).

Отмеченные выше нарушения в применении вакцины привели в ряде случаев к обострению инфекции, появлению новых неблагополучных пунктов и росту заболеваемости людей бруцеллезом.

Для повышения эффективности системы мер борьбы с бруцеллезом овец возникла необходимость в проведении иммунизации и реиммунизации овцематок вакциной из штамма Rev-1 и в изучении безвредности, безопасности и эффективности применения этой вакцины для иммунизации овцематок.

В результате многочисленных исследований, проведенных в ВИЭВе, Прикаспийском ЗНИВИ, Казахском НИВИ, Киргизском и Туркменском НИИЖиВ, СКЗНИВИ, Азербайджанском НИВИ и других научно-исследовательских учреждениях, была установлена безвредность вакцины из штамма Rev-1 для

привитых несуклящих овцематок и безопасность ее для непривитых животных, содержащихся с ними в одних и тех же отарах, а также для людей и высокая эпизоотологическая эффективность ее применения для иммунизации всего маточного поголовья овец, имеющегося в хозяйстве, включая овцематок. В частности, в одном из опытов, проведенных в Республике Дагестан, в благополучном по бруцеллезу хозяйстве за 5-23 дня до осеменения вакциной из штамма Rev-1 было привито 17 овцематок. Все овцематки обьягнились нормально. Получено 19 ягнят. От овцематок в течение первых двух недель после ягнения исследовали на бруцеллез (прямым методом иммунофлуоресценции, бактериологически и постановкой биопробы на морских свинках) кусочки плаценты, вагинальные истечения и молоко. Культура вакцинного штамма не выделена.

Не выделены также бруцеллы штамма Rev-1 от 7 лактирующих овцематок, вакцинированных вскоре после ягнения в период наиболее интенсивного функционирования молочной железы.

Специальный опыт с целью испытания эффективности применения вакцины из штамма Rev-1 для иммунизации овцематок проводился по оздоровлению овцеводческой племенной фермы с острым течением инфекции и значительной пораженностью овцепоголовья (более 10% в маточных отарах) бруцеллезом.

Овцепоголовье данной фермы (около 6 тыс. голов) было оздоровлено в течение 3-х лет путем иммунизации всех овцематок и ярок в первый год применения вакцины и нарождающихся ярок — в последующие годы.

Эффективность вакцины из штамма Rev-1 была подтверждена и при использовании ее для иммунизации овцематок и в других хозяйствах, где отмечались острые вспышки бруцеллезной инфекции. Так, например, в Дагестане в хозяйствах отдельных районов (Агульский, Ахтынский, Рутульский, Гумбетовский, Казбековский, Ногайский) спустя 3-4 года после оздоровления от бруцеллеза с применением вакцины из штамма Rev-1 для иммунизации ярок стали появляться свежие очаги инфекции. Всего в указанных 6 районах в течение 4-х лет было зарегистрировано 7 новых неблагополучных пунктов по бруцеллезу овец, где наблюдались аборт бруцеллезной этиологии и случаи заболевания людей острым бруцеллезом.

При анализе причин появления острых очагов бруцеллезной инфекции было уста-

новлено, что в указанных районах допускались серьезные нарушения в проведении профилактических противобруцеллезных мероприятий. В частности, в одних хозяйствах в течение 3-4 лет после оздоровления их от бруцеллеза, несмотря на существовавшую угрозу заноса инфекции, перестали проводить иммунизацию ярок вакциной из штамма Rev-1, в других — не добивались полного охвата прививками молодняка, оставляемого для воспроизводства. Нередко, в течение нескольких лет овец частного сектора не только не вакцинировали, но и не исследовали на бруцеллез, в отары овец общественного сектора вводили непривитых и непроверенных на бруцеллез овец, принадлежащих чабанам или приобретенных в других областях и республиках. Имелись случаи, когда иммунизацию овец проводили вакциной, хранившейся длительное время при комнатной температуре, что не могло не привести к полной гибели или снижению количества живых бруцелл в вакцине и, следовательно, к потере ее иммуногенной активности.

Во всех этих хозяйствах овцепоголовье было оздоровлено от бруцеллеза в течение 3-х лет с применением вакцины из штамма Rev-1 для ежегодной иммунизации нарождающихся ярок. Из них в трех хозяйствах в первый год применения вакцины иммунизации подвергали также овцематок как общественного, так и частного секторов. Всего было иммунизировано 19,3 тыс. овцематок.

При диагностических исследованиях, проведенных перед иммунизацией, в этих хозяйствах было выявлено значительное количество больных бруцеллезом овец: в совхозе «Ахтынский» — 433 гол., в колхозе им. Энгельса — 337, в совхозе «Буртунайский» — 188.

После иммунизации овцематок и ярок в хозяйствах не наблюдались аборты на почве бруцеллеза, увеличился выход ягнят, прекратились случаи заболевания людей бруцеллезом.

Аналогичные результаты при испытании вакцины из штамма Rev-1 для иммунизации овцематок получены в Казахском и Азербайджанском НИВИ, Киргизском НИИЖВ и в Читинском филиале ИЭВС и ДВ.

Иммунизация овцематок вакциной из штамма Rev-1 была рекомендована Комитетом экспертов ФАО/ВОЗ еще в 1970 г. Через 10 лет эту рекомендацию эксперты повторили и вакцинация овцематок проводится во многих странах.

Таким образом, исследования, проведенные в нашей стране, подтвердили данные

зарубежных исследователей о целесообразности иммунизации овцематок вакциной из штамма Rev-1 при обострении инфекции или угрозе заноса бруцеллеза в хозяйства, где противобруцеллезные мероприятия проводятся с применением данной вакцины.

Реиммунизацию овец бруцеллезными вакцинами за рубежом не проводят и этот вопрос не изучается.

В нашей стране изучение возможности и целесообразности реиммунизации овцематок вакциной из штамма Rev-1 проводилось в ВИЭВе, Казахском НИВИ, Киргизском и Туркменском НИИЖВ, в Прикаспийском зональном НИВИ.

Анализируя результаты испытания вакцины из штамма Rev-1 на овцематках, в производственных условиях установлено, что иммунизация и реиммунизация овцематок за 1-2 мес. до осеменения не вызывает поствакцинальных аборт и не оказывает отрицательного влияния на воспроизводство. В отарах вакцинированных овцематок ни разу не была выделена культура штамма Rev-1 из абортированных плодов и мертворожденных ягнят.

В неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах после реиммунизации овцематок, как правило, прекращались аборты бруцеллезной этиологии и достигалось оздоровление от бруцеллеза.

В последнее время, из-за происшедших коренных изменений в традиционной технологии животноводства, обусловленных социально-экономическими преобразованиями и переходом АПК на путь рыночной экономики, созданием множества мелких крестьянских и фермерских хозяйств, сосредоточением большей части скота в частной собственности, неконтролируемой миграцией, отсутствием идентификации и учета животных, ранее применявшаяся система мер борьбы с бруцеллезом овец и коз оказалась недостаточно эффективной, вследствие чего обострилась эпизоотическая и эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу.

Немаловажное значение для обострения эпизоотической ситуации по бруцеллезу имело и то, что в современных условиях хозяйствования в крестьянских или фермерских хозяйствах и в частном подворье в небольших отарах содержатся овцы и козы разных половозрастных групп, где невозможно соблюдать один из главных принципов оздоровления, заключающийся в обособленном выращивании здорового молодняка и групповой поотарной замене ими овец

неблагополучных по бруцеллезу отар. В этих условиях исключительное значение приобрела профилактическая иммунизация овец с использованием вакцины, создающей у привитых животных напряженный и длительный иммунитет.

Учитывая важное значение специфической профилактики в системе мер борьбы с бруцеллезом овец, в Республике Дагестан в последние годы большое внимание уделяется проведению массовой иммунизации всего маточного поголовья овец. С этой целью после распада Советского Союза с 1991 г. вплоть до 2003 г., из-за отсутствия вакцины из штамма Rev-1, для иммунизации овец применялась вакцина из штамма 19 и за 12 лет ею было вакцинировано и ревакцинировано 9,8 млн. овец. Однако, применение этой вакцины в современных условиях не дало желаемых результатов.

Проведенный анализ показал, что в результате недостаточно высокой эффективности вакцины из штамма 19 и неудовлетворительных результатов противобруцеллезных мероприятий с ее применением, эпизоотическая ситуация по бруцеллезу овец в республике значительно осложнилась. В ряде районов были установлены скрытые очаги инфекции с высокой заболеваемостью людей и животных. Наблюдалась тенденция дальнейшего ухудшения эпизоотической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу. В связи с этим, возникла настоятельная необходимость в применении для профилактической иммунизации овец высокоиммуногенной вакцины. Для этого необходимо было организовать на одной из биофабрик производство и серийный выпуск сухой вакцины из штамма Rev-1, разработать новую технологию производства и инструкцию по применению вакцины, так как многие положения прежней инструкции, утвержденной Главным управлением ветеринарии МСХ СССР в 1988 г., устарели и аппараты для культивирования микроорганизмов (АКМ-Ш), которые использовались для изготовления вакцины из штамма Rev-1 на Алма-атинском биокombинате, были сняты с производства.

С учетом происшедших в АПК страны изменений и новых научных данных по вакцине Rev-1, Прикаспийским зональным НИВИ, ФГУ «ВГНКИ» и ООО «Агровет» была разработана новая инструкция по применению вакцины из штамма Rev-1, утвержденная Россельхознадзором. ООО «Агровет» была разработана и новая технология производства вакцины, а также налажен серийный ее выпуск, что дало

возможность широкого применения ее в практике. С 2007 г. этой вакциной в Республике Дагестан ежегодно прививают в среднем 4,0 — 4,5 млн. овец.

Массовая иммунизация овец указанной вакциной в условиях сложной эпизоотической ситуации, при существующем большом риске дальнейшего ухудшения эпизоотической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу, позволяет предупреждать появление новых очагов бруцеллезной инфекции и сдерживать распространение этой болезни.

В связи с массовой иммунизацией овец вакциной из штамма Rev-1 в республике наметилась тенденция улучшения эпизоотической и эпидемиологической обстановки по бруцеллезу. Так, если до применения вакцины из штамма Rev-1 в широких масштабах в ряде хозяйств и населенных пунктов имелись скрытые очаги бруцеллезной инфекции и заболеваемость овец бруцеллезом составляла в среднем 0,8-1,2% к числу исследованного поголовья, то в последние годы (2012-2013 гг.) процент положительно реагирующих овец, выявленных при диагностических исследованиях в РА и РСК, снизился до 0,2-0,3%.

Заболеваемость людей в республике уменьшилась с 486 и 402 случаев впервые зарегистрированного бруцеллеза в 2003 и 2004 гг. до 213 — в 2012 и 142 случаев — в 2013 г. За 1 кв. 2014 г. установлено лишь 12 случаев (в том числе острый бруцеллез — в 4-х случаях) против 36 случаев впервые зарегистрированного бруцеллеза за соответствующий период прошлого года.

По данным управления Роспотребнадзора по РД, из общего числа зарегистрированных в последние годы случаев заболевания на острые формы бруцеллеза падает только 28,2% (40 случаев), тогда как 62,7% людей оказались больными хроническим бруцеллезом. Значительное количество людей заразились бруцеллезом от большого крупного рогатого скота, что подтверждается результатами проведенного эпидемиологического расследования, показавшими, что удельный вес мелкого рогатого скота в заболеваемости людей бруцеллезом в 2013 г. составил 19%, крупного рогатого скота — 13,4%, крупного и мелкого рогатого скота — 16,2%. Заражение людей от мелкого рогатого скота имело место преимущественно в мелких фермерских и крестьянских овцеводческих хозяйствах и в индивидуальных подворьях, где не выполняли весь комплекс ветеринарно-профилактических мероприятий и санитарных правил.

В большинстве случаев люди заражались от животных, принадлежащих населению, которые исследованиям на бруцеллез и иммунизации не подвергались. Основными причинами заболевания являлись уход за больными животными, которые завозились из других районов без ветеринарных сопроводительных документов, без карантинирования и обследования на бруцеллез, участие в окотной кампании без средств индивидуальной защиты, а также употребление в пищу необезвреженных молочных продуктов, изготовленных в домашних условиях без соблюдения технологии. Однако, несмотря на наметившуюся положительную динамику, эпизоотическая и эпидемическая ситуации по бруцеллезу в республике остаются неудовлетворительными. Показатель заболеваемости впервые выявленного бруцеллеза в республике в 2013 г. составляет 4,85, против 2,23 в СКФО, хотя следует иметь в виду, что по количеству овец Дагестан занимает первое место среди всех республик, краев и областей Российской Федерации.

Заключение

Вакцина из штамма Rev-1 обладает высокими иммуногенными свойствами. Применение ее предотвращает заражение овец бруцеллезом и аборт, следовательно, выделение полевых штаммов бруцелл вида мелитензис при ягнении и с молоком, что в значительной степени уменьшает опасность рассеивания возбудителя во внешней среде и возможность заражения людей, особенно через овечье молоко и брынзу.

На основании большого фактического материала по изучению вакцины из штамма *V. melitensis* Rev-1 и испытанию ее в производственных условиях установлено, что применение этой вакцины для иммунизации ярок и козочек сообщает напряженный и длительный иммунитет, что позволяет использовать эту вакцину в системе мер борьбы, основанной на выращивании здорового, устойчивого к заражению поголовья в неблагополучных по бруцеллезу хозяйствах.

На практике доказано, что путем ежегодной вакцинации нарождающихся ярок и постепенной замены ими неблагополучных по бруцеллезу взрослых овец достигается оздоровление хозяйств от бруцеллеза. С применением вакцины из штамма Rev-1 в крайне тяжелых условиях отгонного овцеводства Дагестана, где нет условий для изолированного содержания овец неблагополучных по бруцеллезу отар и обособленного выращивания

молодняка, имеются большие трудности в проведении диагностических исследований и других мероприятий, овцепоголовье было оздоровлено от бруцеллеза, в связи с чем в республике значительно снизилась заболеваемость людей бруцеллезом.

Опыт профилактики и ликвидации бруцеллеза овец с применением вакцины из штамма Rev-1 в Республике Дагестан экспериментировался на ВДНХ СССР, за что ряд научных сотрудников и практических ветеринарных специалистов был награжден медалями ВДНХ и ценными подарками.

По заключениям научно-исследовательских учреждений и руководителей ветеринарных служб о результатах широкого производственного испытания вакцины из штамма Rev-1 в системе противобруцеллезных мероприятий, поступившим в адрес НТС МСХ СССР, применение этой вакцины повышало эффективность мер борьбы с бруцеллезом овец, позволяло оздоровить в сравнительно короткие сроки и с небольшими затратами неблагополучные хозяйства в районах со сложной эпизоотической ситуацией по бруцеллезу и обеспечить надежное их благополучие по этой болезни.

Результаты изучения, производственного испытания и применения вакцины из штамма Rev-1 в нашей стране и за рубежом свидетельствуют о безвредности и эффективности иммунизации этой вакциной овцематок. При этом было установлено, что иммунизация овцематок вакциной из штамма Rev-1 до осеменения (случки) не оказывает отрицательного влияния на воспроизводство, не вызывает поствакцинальных абортос и не приводит к выделению бруцелл вакцинного штамма с молоком.

Проведенные исследования показали также, что при возникновении бруцеллеза в ранее благополучном хозяйстве или угрозе заноса возбудителя инфекции целесообразно подвергать иммунизации вакциной из штамма Rev-1 всех овцематок (за 1-2 месяца до случки) и ярок в первый год применения вакцины, затем ежегодно вакцинировать нарождающихся ярок. Такая система применения вакцины повышала эффективность противобруцеллезных мероприятий и позволяла значительно сократить сроки оздоровления хозяйств от бруцеллеза.

В условиях рыночной экономики, в связи с коренными преобразованиями, происшедшими в АПК страны, сосредоточением большей части скота в частной собственности, появлением множества мелких крестьянских

и фермерских хозяйств, где в небольших отарах содержатся овцы разных половозрелых групп, отсутствием точного учета и неконтролируемой миграцией животных, ранее проводившиеся мероприятия по профилактике и борьбе с бруцеллезом овец, оказались недостаточно эффективными, в связи с чем осложнилась эпизоотическая и эпидемиологическая обстановка по этой болезни.

В этих условиях возникла необходимость в создании сплошного иммунного фона с применением вакцины из штамма Rev-1 для иммунизации всего поголовья овцематок и ярок.

В Республике Дагестан, начиная с 2007 г., иммунизации вакциной из штамма Rev-1 ежегодно подвергалось 4,0-4,5 млн. овец.

В результате иммунизации овец в условиях сложной эпизоотической и эпидемиологической обстановки при существующем большом риске дальнейшего ухудшения ситуации по бруцеллезу удалось предупредить появление новых очагов бруцеллезной инфекции и снизить заболеваемость овец бруцеллезом с 0,8-1,2% в начале применения вакцины до 0,2-0,3% в 2012-2013 гг.

Заболеваемость людей в республике уменьшилась с 486 и 402 случаев впервые зарегистрированного бруцеллеза в 2003-2004 гг. до 213 в 2012 и 142 случаев в 2013 г. За 1 квартал 2014 г. установлено лишь 12 случаев (в том числе 4 случая острого бруцеллеза) против 36 случаев впервые зарегистрированного бруцеллеза за соответствующий период прошлого года.

Из указанного количества значительное число людей заразилось от больного бруцеллезом крупного рогатого скота, что подтверждается результатами проведенного службами Роспотребнадзора эпидемиологического расследования, которые показали, что удельный вес мелкого рогатого скота в заболеваемости людей бруцеллезом в 2013 г. составил 19%, крупного рогатого скота — 13,4%, крупного и мелкого рогатого скота — 16,2%.

Положительные результаты изучения и объем выполненных на протяжении 55 лет исследований в экспериментальных и производственных условиях дают основание рекомендовать вакцину из штамма Rev-1 для широкого практического применения для иммунизации не только ярок, но и вакцинации овцематок в зонах отгонного овцеводства и регионах со сложной эпизоотической ситуацией по бруцеллезу, где в последние 10-15 лет противобруцеллезные мероприятия малоэффективны.

АНАЛИЗ ЭНДЕМИЧНЫХ И СУБЭНДЕМИЧНЫХ ВИДОВ САРАНЧОВЫХ ДАГЕСТАНА

Цель исследования провести анализ эндемичных и субэндемичных видов саранчовых, разнообразность фауны саранчовых. Изучение разновидностей таксонов *Asiotmethis* Uv., *Nocarodes* F.-W., *Pachypodisma* Dohn., *Chortipus* Fieb., *Phlocerus* F.-W., *Eremippus* Uv., *Pseudocoles* Bol. Из семи известных здесь родов имеют ангарское и европейско — сибирское происхождение — 2 рода (28 %), кавказское — 3 рода (42 %), древнесредиземноморское — 1 род (14 %), туранское 1 род (14 %).

Ключевые слова: саранча, фауна, таксоны, род.

Kh. G. OMAROVA

Dagestan state university

ANALYSIS ENDEMIC AND SUBENDEMIC SPECIES LOCUTS DAGHESTAN

The purpose of the study to analyze endemic and sub-endemic species of grasshoppers, the diversity of the fauna of the locust. The study of species taxa *Asiotmethis* Uv., *Nocarodes* F. W., *Pachypodisma* Dohn., *Chortipus* Fieb., *Phlocerus* F.-W., *Eremippus* Uv., *Pseudocoles* Bol. Of the seven known genera have Angarsk and evropeisko — Siberian origin — 2 type (28 %), Caucasian — 3 of a kind (42 %), drevnechernomorskiy — 1 family (14 %), Turan 1 genus (14 %).

Keywords: locusts, fauna taxa, genus.

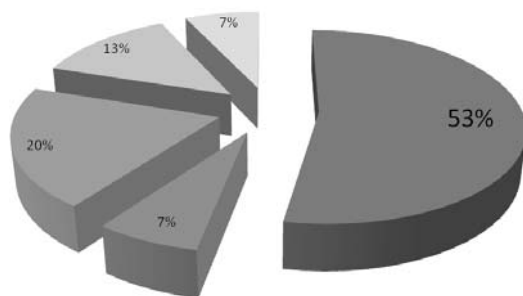
Пестрота и разнообразность элементов фауны, слагающих современную фауну саранчовых Дагестана, объясняется рядом причин и обстоятельств. В первую очередь этому способствовало позднее оформление юга России. Примитивные длинноусые прямокрылые существовали уже с карбона, а близкие к современным короткоусым появились в конце перьми, а наиболее древние исходные фауны насекомых, в том числе и прямокрылые, к этому периоду сформировались уже вне предела данной территории.

Обращает на себя внимание разнообразность фауны саранчовых Дагестана. Из семи известных здесь родов имеют ангарское и европейско — сибирское происхождение — 2 рода (28 %), кавказское — 3 рода (42 %), древнесредиземноморское — 1 род (14 %), туранское 1 род (14 %).

В приведенной ниже таблице представлены эндемичные и субэндемичные таксоны саранчовых Дагестана. Роды обозначены римскими, виды арабскими цифрами (табл. 1).

Характерной особенностью фауны саранчовых Дагестана оказалось небольшое количество выявленных для территории региона в целом или отдельных районов строго эндемичных таксонов.

В первую очередь обращает на себя внимание небольшое число эндемичных родов, что может свидетельствовать об относительно поздних сроках становления фауны юга России в целом. Об этом косвенно свидетельствует и наличие всего 17% эндемичных ви-



1. 53% голарктические
2. 7% древнесредиземноморское
3. 13% голарктическое
4. 20% кавказское
5. 7% переднеазиатское

Рис. 1. Эндемичные и субэндемичные саранчовые Дагестана

Эндемичные и субэндемичные саранчовые Дагестана

| Наименование таксона | Вероятное происхождение предковых форм | Современный ареал вида |
|--------------------------------|--|---|
| 1 | 2 | 3 |
| I. Asiotmethis Uv. | Древне - Средиземноморское | Сухие степи, предгорья и северные полупустыни |
| 1. <i>A. turritus</i> F.-W. | Кавказское | Южный Дагестан, Закавказье |
| II. Nocarodes F.-W. | Кавказское | Каменистые станции в горах Кавказа, Закавказья, Малой Азии и сопредельных Турции и Ирана |
| 2. <i>N. geniculatus</i> Uv. | Кавказское | Предгорья восточного Дагестана |
| 3. <i>N. dagestanicus</i> Uv. | Кавказское | Горы восточного Дагестана |
| 4. <i>N. loripes</i> Mistsh. | Кавказское | Южный Дагестан |
| III. Pachypodisma Dorn. | Кавказское | Два вида на восточном Кавказе |
| 5. <i>P. lezgina</i> Uv. | Кавказское | Юго-западный Дагестан и северо-восточная Грузия |
| 6. <i>P. crassa</i> Mist. | Кавказское | Южный Дагестан и северный Азербайджан |
| IV. Chortipus Fieb. | Голарктическое | Большинство видов этого рода, обитает в Евразии, встречаются в Северной Африке и Северной Америке |
| 7. <i>Ch. hirtus</i> Uv. | Кавказское | Горный Дагестан |
| V. Phlocerus F.-W. | Кавказское | Эндемик Кавказа |
| 8. <i>Ph. menetriesi</i> F.-W. | Кавказское | Юго-восточный Дагестан, северный Азербайджан |
| 9. <i>Ph. zaitzevi</i> Mistsh. | Кавказское | Юго-западный Дагестан, восточная Грузия |
| VI. Eremippus Uv. | Голарктическое | Большинство видов рода обитает в пустынях и сухих степях Евразии |
| 10. <i>E. sobolevi</i> Serg | Кавказское | Высокогорный Дагестан |
| VII. Pseudocoles Bol. | Переднеазиатское | Свыше 10 видов в Передней Азии |
| 11. <i>P. obscures</i> Uv. | Кавказское | Дагестан, северо-восточная Грузия |

дов, что для Дагестана с присущим там многообразием природных условий невелико.

Проведенный анализ эндемичных и субэндемичных таксонов показал, что фауна саранчовых Дагестана неоднородна (рис. 1). Как видно из приведенной таблицы доминирует группа кавказских и голарктических родов.

Список литературы

1. Абдурахманов Г.М., Калачева О.А. Краткая история изучения прямокрылых юга России. // Биологическое разнообразие Кавказа: материалы международной конференции — Нальчик, 2004. с. 139-142
 2. Абдурахманов Г.М., Калачева О.А. Видовой состав и зоогеографический анализ прямокрылых юга России.// Биологическое разнообразие Кавказа: материалы VII междунар. конф. —Домбай, 2005. — С. 140 -150

3. Бей — Биенко Г.Я. Acrididae. Саранчовые / Г.Я. Бей–Биенко, А.А. Штакельберг// Список вредных насекомых СССР и сопредельных стран. 1. Вредители сельского хозяйства. Тр. Защит. раст. Энтомолог. — 1932.- № 5 — С. 226 — 227
 4. Калачева О.А. Прямокрылые юга России / О.А. Калачева, Г.М. Абдурахманов –М.: Наука 2005.- С. 304
 5. Калачева О. А. К познанию фаунистических комплексов (саранчовых Orthoptera: Acridoidea) основных растительных формаций северо — западного Кавказа / О.А. Калачева// Сельскохозяйственная биология. — 2005 д. — № 5. — С. 81 — 85
 6. Омарова Х.Г. Особенности экологии и фауны надсемейства саранчовых Acridoidea: Orthoptera Дагестана. Автореф. дис. канд. биол. наук/ Х.Г. Омарова. — Махачкала, 2007. С. 12 -14
 7. Омарова Х.Г. Абрекова Л.К. Роль саранчовых в естественных и антропогенных экосистемах и перспективы развития фауны прямокрылых. Современные научные исследования. — Кисловодск. 2010. № 1. С. 72 -73

БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ БАЙКОКСА ПРИ КОКЦИДИОЗЕ ЦЫПЛЯТ МЕСТНЫХ ЧЕРНЫХ ПОРОД АЗЕРБАЙДЖАНА

20-дневных цыплят заражали *E.tenella*, лечили 2,5 % байкоксом в дозе 2 мл/л питьевой воды и изучали свободные аминокислоты ткани мышц бедра. При лечении зараженных цыплят байкоксом уровень свободных аминокислот восстанавливается в течение 10 дней. Лечение зараженных цыплят байкоксом восстанавливает обмен и других аминокислот, хотя и в разные сроки, однако оно мало эффективно в отношении обмена лизина, аргинина, треонина, пролина и лейцина.

Ключевые слова: *Eimeria tenella*, байкоксы, ткани, мышцы, свободные аминокислоты

E.I.AHMADOV

Institute of Zoology of the National Academy
of Sciences of Azerbaijan

BIOCHEMICAL EVALUATION OF CLINICAL EFFECTIVENESS OF BAYCOX AT COCCIDIOSIS OF CHICKS OF LOCAL BLACK BREED OF AZERBAIJAN

20-day-old chickens were infected with *E.tenella*, treated with 2.5 % Baycox at 2 ml/liter of drinking water and free amino acids and tissue of the thigh muscles was studied. In the treatment of infected chickens Baycox, levels of free amino acids are restored within 10 days. Although treatment of infected chickens with Baycox restores exchange and other amino acids at different times, but it has little effective on the exchange of lysine, arginine, threonine, proline and leucine.

Keywords: *Eimeria tenella*, Baycox, tissue, muscle, free amino acids

Кокцидиоз, вызываемый простейшими рода *Eimeria*, является чрезвычайно важной проблемой в основном для бройлерного птицеводства [1, 2, 3, 4]. Наиболее патогенными для кур являются шесть видов кокцидий: *E.acervulina*, *E.brunetti*, *E.maxima*, *E.mivati*, *E.necatrix*, *E.tenella* [5]. Из них для Азербайджанских хозяйств актуальны только виды *E.acervulina*, *E.maxima*, *E.necatrix*, *E.tenella* [6]. Поскольку каждый вид кокцидий локализуется в определенных участках кишечника, возможно паразитирование нескольких видов эймерий в организме одного хозяина [1, 7, 3].

Патогенное воздействие на организм животных возбудителей паразитарных заболеваний связано не только с патологией тех органов, где они локализируются, но и с общим воздействием на организм. Для лечения кокцидиозной птицы предложено много довольно эффективных препаратов, однако продолжительное и беспорядочное их применение не приводило к ликвидации заболевания. Это обусловлено, в первую очередь, высокой стойкостью ооцист эймерий к действию неблагоприятных факторов внешней среды,

дезинфицирующих средств, высокой репродуктивной способностью паразитов, резистентностью к применяемым лекарственным препаратам, которая быстро развивается. Использование современных препаратов позволяет успешно лечить наиболее распространенные кишечные протозоозы.

Однако следует иметь в виду, что ни один из самых современных препаратов не может гарантировать 100 % излечение болезней.

Терапевтическая эффективность кокцидиостатических препаратов обычно оценивается на основании учета количества заболевших и павших птиц, изменения привесов и по патологоанатомической картине заболевания является недостаточным для раскрытия сущности паразито-хозяйственных отношений в курсе лечения различными кокцидиостатиками. Без выяснения влияния кокцидиостатических препаратов на биохимические процессы, происходящие в организме животных, трудно судить о полном терапевтическом значении применяемых лекарственных веществ, так как наряду с необходимостью получения лечебного эффекта важно поддер-

жание нормального уровня обмена веществ в организме больных птиц.

Изучение аминокислотных спектров различных тканей животных и птиц позволяет в определенной степени оценить особенности белкового обмена и физиологическое состояние организма [8, 9, 10]. Целью данной работы было изучение аминокислотных спектров мышечной ткани при экспериментальных кокцидиозах и лечении байкоксом.

Материал и методика

Опыты проводились на цыплятах местных черных пород, выведенных в лаборатории «Биохимических основ паразито-хозяйственных отношений» Института зоологии Национальной Академии Наук Азербайджана. Суточные цыплята местных пород выращивались в виварии института до 20-дневного возраста. Цыплат кормили стандартным птичьим комбикормом для бройлеров. По достижении указанного возраста цыплат разбивали на 3 группы: контрольные — незараженные (20 голов), контрольные — зараженные нелеченые (50 голов) и опытные-зараженные леченые (50 голов). Цыплат двух последних групп заражали путем введения в зоб спорулированных ооцист *E.tenella* в дозе 20 тыс. ооцист на 1 птицу.

Ооцисты, необходимые для инвазирования цыплат, отделяли от раствора двухромовокислого калия центрифугированием. Осадок суспендировали в воде, взятой в таком количестве, чтобы концентрация ооцист составляла около 20000 до 100.000 в 1 мл.

Для достижения клинически острого кокцидиоза с 100%-ным смертельным исходом и получения хорошего лечебного эффекта байкоксом дозу вводимых паразитов умышленно повышали до 100 тыс. ооцист. Применяемая доза в 5 раз превышала LD_{50} для указанного возраста цыплат. Лечение цыплат начинали через сутки после заражения с применением 2,5%-й байкокса в дозе 2 мл/л питьевой воды в течение двух дней подряд.

Биохимические исследования проводились в курсе лечения соответственно эндогенным стадиям развития паразита в кишечнике, то есть на 3-й, 5-й, 7-й и 10-й дни инвазии.

После забоя птиц гомогенизировали бедренные мышцы. Белки осаждали 1%-ной пикриновой кислотой. Аминокислотный состав и содержание свободных аминокислот определяли методом ионообменной хроматографии на автоматическом аминокислотном анализаторе AAA-881 (Чехия). Цифровые данные выражали в микромолях на 1 г сырой ткани.

Для статистической обработки результатов использовали статистическую программу IBM SPSS Statistics 20. Различия считали достоверными при $P < 0.05$. Достоверные различия в опытах обозначали: ^a — при $P < 0,05$, ^b — при $P < 0,01$, ^c — при $P < 0,001$, по сравнению с незараженными контрольными цыплятами. Степень достоверности по сравнению с зараженными контрольными цыплятами обозначали: ^d — при $P < 0,05$, ^e — при $P < 0,01$, ^f — при $P < 0,001$.

Результаты и обсуждение

Все зараженные нелеченые цыплята имели признаки острого кокцидиоза и пали 25 из 50 в течение 5-6 суток после заражения. Из числа цыплат, подвергавшихся лечению, остались живыми 80% (пало 10 из 50).

При исследовании аминокислотного состава ткани мышц бедра цыплат опытных и контрольной группы определены 17 аминокислот, 7 из которых являются незаменимыми и определяют ценность мышечного белка. Установили, что у цыплат в группах контрольные зараженные по отношению к контрольной группе, произошло снижение заменимых аминокислот: аргинин 0,457 мкмоль/г, аспарагиновая кислота 0,195 мкмоль/г, серин 4,214 мкмоль/г, пролин 1,499 мкмоль/г, глицин 0,324 мкмоль/г, аланин 1,003 мкмоль/г и тирозин 1,972 мкмоль/г.

Изучение свободных аминокислот мышечной ткани зараженных цыплат показало, что байкоксом нарушают нормальный обмен свободных аминокислот (таблица 1).

Как видно из данной таблицы, у зараженных, по сравнению с показателями контрольных незараженных цыплат, количество свободного лизина увеличивается на 2,620 мкмоль/г. В ткани мышц зараженных цыплат увеличивается также содержание глутаминовой кислоты, валина, лейцина и изолейцина соответственно 0,545, 0,085, 0,092 и 0,136 мкмоль/г. Наряду с увеличением содержания этих аминокислот наблюдается уменьшение некоторых других аминокислот, таких, как аргинин, аспарагиновая кислота, серин, треонин, пролин, глицин и аланин. Изменение количества гистидина, цистеина, тирозина и фенилаланина в мышечной ткани зараженных цыплат было статистически недостоверным.

Анализ аминокислотного состава ткани мышц бедра черных цыплат местных пород зараженных групп показало, что инфицирование цыплат *Eimeria tenella* приводит к значительному снижению суммы всех аминокислот как у зараженных, так и у подопытных леченых групп.

После выявления нарушения обмена аминокислот в мышечной ткани зараженных цыплят, интересно было проследить за свободными аминокислотами этой ткани в курсе лечения цыплят кокцидиостатическим препаратом — 2,5%-й байкоксом в лечебной дозе 3мл/л питьевой воды.

Как видно из таблицы лечение цыплят байкоксом в определенной степени способствует восстановлению нарушенного обмена аминокислот в мышечной ткани. У зараженных цыплят количество лизина в мышечной ткани увеличивается по сравнению с показателями контрольных незараженных птиц. У леченных цыплят количество этой аминокислоты также достоверно выше показателей контрольных незараженных и зараженных цыплят до 10 дней инвазии. Следовательно, лечение зараженных цыплят байкоксом к 10-му дню инвазии не стабилизирует обмен этой аминокислоты в мышечной ткани.

Лечебный эффект байкокса в отношении обмена лизина, треонина, пролина и тирозина выражен слабо: даже до 10-го дня инвазии уровень этих аминокислот не восстанавливается до показателей контрольных незараженных птиц. По-видимому, с биохимической точки зрения, байкокс в отношении обмена указанных аминокислот малоэффективен, хотя он предотвращает падеж цыплят от кокцидиоза.

Как видно из данных таблицы, лечение зараженных цыплят байкоксом оказывает самое благоприятное влияние на обмен аспарагиновой кислоты, пролина, глицина и, аланина содержание которых, как указывалось выше, уменьшается. Лечение кокцидином предотвращает их уменьшение с самого начала и способствует нормальному протеканию обмена этих аминокислот. Байкокс положительно влияет и на обмен изолейцина. Количество этой аминокислоты у зараженных птиц увеличивается. При лечении байкоксом количество

Таблица

Изменение свободных аминокислот мышечной ткани цыплят, зараженных *E. tenella* и леченных байкоксом (ммоль/г ткани, M±Sd, n=5)

| Аминокислота | Контрольные | | Подопытные леченые цыплята | | | |
|--------------------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | незараженные цыплята | зараженные цыплята | 3-й день | 5-й день | 7-й день | 10-й день |
| Лизин | 1,557±0,01 | 4,177±0,01 ^c | 2,002±0,00 ^c | 3,835±0,00 ^{cf} | 1,874±0,01 ^{cd} | 2,229±0,01 ^{cf} |
| Треонин | 1,423±0,01 | 0,966±0,01 ^c | 0,780±0,01 ^c | 0,806±0,00 ^{cf} | 0,624±0,013 ^{cf} | 0,819±0,02 ^{cf} |
| Метионин | 0,088±0,01 | 0,154±0,01 ^c | 0,142±0,01 ^b | 0,185±0,15 ^c | 0,098±0,02 ^d | 0,149±0,01 ^c |
| Валин | 0,345±0,01 | 0,430±0,015 ^c | 0,320±0,01 ^a | 0,325±0,01 ^{bf} | 0,171±0,01 ^{cf} | 0,308±0,01 ^f |
| Лейцин | 0,228±0,01 | 0,320±0,01 ^c | 0,219±0,01 | 0,314±0,02 ^b | 0,219±0,013 | 0,194±0,01 ^{af} |
| Изолейцин | 0,114±0,01 | 0,250±0,02 ^c | 0,132±0,01 | 0,130±0,01 ^c | 0,128±0,002 ^{af} | 0,117±0,02 ^f |
| Фенилаланин | 0,150±0,01 | 0,237±0,15 | 0,134±0,00 | 0,178±0,00 | 0,127±0,045 | 0,139±0,04 |
| Сумма незаменимых аминокислот | 3,905 | 6,534 | 3,729 | 5,773 | 3,143 | 3,955 |
| Гистидин | 1,560±0,00 | 1,550±0,00 | 1,572±0,01 | 1,557±0,01 | 1,553±0,01 | 1,571±0,01 |
| Аргинин | 1,106±0,02 | 0,377±0,00 ^c | 0,311±0,01 ^c | 0,486±0,01 ^{cf} | 0,529±0,01 ^{cf} | 0,356±0,04 ^c |
| Аспарагиновая кислота | 0,621±0,01 | 0,426±0,01 ^c | 0,554±0,01 ^c | 0,544±0,01 ^{cf} | 0,633±0,01 ^f | 0,651±0,01 ^f |
| Серин | 4,796±0,01 | 0,582±0,04 ^c | 4,158±0,00 ^c | 2,588±0,01 ^{ce} | 4,684±0,00 ^f | 4,229±0,01 ^{cf} |
| Глутаминовая кислота | 1,168±0,01 | 1,213±0,00 ^c | 1,432±0,01 ^c | 1,607±0,00 ^{cf} | 1,969±0,00 ^{cf} | 1,204±0,00 |
| Пролин | 2,215±0,00 | 0,716±0,01 ^c | 1,013±0,00 ^c | 0,552±0,01 ^{cf} | 0,704±0,01 ^c | 1,175±0,00 ^{cf} |
| Глицин | 1,696±0,01 | 1,372±0,01 ^c | 1,846±0,00 ^c | 1,449±0,00 ^{cf} | 1,666±0,04 ^{cf} | 1,807±0,00 ^{cf} |
| Аланин | 1,949±0,01 | 0,946±0,04 ^c | 1,868±0,01 ^c | 1,534±0,01 ^{cf} | 2,150±0,01 ^{cf} | 1,813±0,01 ^f |
| Цистеин | 0,222±0,01 | 0,222±0,01 | 0,219±0,01 | 0,220±0,01 | 0,216±0,01 | 0,244±0,02 |
| Тирозин | 2,257±0,01 | 0,285±0,01 | 0,261±0,02 | 0,300±0,01 ^b | 0,201±0,00 ^{cf} | 0,218±0,02 ^e |
| Сумма заменимых аминокислот | 17,590 | 7,689 | 13,234 | 10,837 | 14,305 | 13,268 |
| Сумма всех аминокислот | 21,495 | 14,223 | 16,963 | 16,610 | 17,448 | 17,223 |

его находится на уровне показателей соответствующих контрольных незараженных птиц.

У леченных цыплят до 7-го дня инвазии восстанавливается содержание серина и метионина в мышечной ткани. Количество аминокислот, таких как глутаминовая кислота и валин, восстанавливается до нормы к 10-му дню инвазии.

В ткани мышц бедра из общего количества аминокислот самое высокое содержание было тирозина и пролина. Глутаминовая кислота относится к вкусообразующим аминокислотам и, совместно с аспаргиновой кислотой, формирует вкусовые качества мяса.

Из таблицы видно, что их количество до 10-й дня инвазии восстанавливается. Так, если суммарное содержание аспаргиновой и глутаминовой кислот в контрольной группе 1,789 ммоль/г, у леченных подопытных групп составляло 1,639, к 10-у дню инвазии этот показатель достиг уровня 1,855 ммоль/г ткани.

Аминокислоты: гистидин, цистеин, тирозин и фенилаланин не изменялись у зараженных птиц по сравнению с незараженным контролем. Количество тирозина не изменялось и у леченых птиц 5-й дню инвазии. По-видимому, это является свидетельством того, что применяемая лечебная доза байкокка в течение 4 дней не вызывает нежелательных побочных явлений в обмене этих аминокислот.

При сравнении показателей общего содержания всех аминокислот мышц цыплят зараженных нелеченных групп, с аналогичным показателем подопытных цыплят, мышц было меньше.

Суммируя все сказанное, можно констатировать, что заражение цыплят кокцидиями сопровождается нарушением обмена аминокислот мышечной ткани. Нарушение синтеза и обновление мышечных белков в которых особенно остро нуждаются быстрорастущие цыплята. Дефицит и неиспользование имевшихся свободных аминокислот для образования конечных продуктов их распада приводят к дискоординации обмена аминокислот в мышечной ткани. Нарушение обмена аминокислот настолько глубоко, что организм цыпленка не в состоянии к самопроизвольной нормализации, заболевание сопровождается падежом. Применение байкокка в определенной степени восстанавливает уровень свободных аминокислот в ткани мышц. Лечение зараженных цыплят байкоксом восстанавливает обмен и других аминокислот, хотя и в разные сроки, однако оно мало эффективно в отношении обмена лизина, аргинина, треонина, пролина и лейцина.

Выводы

1. Заражение цыплят *E.tenella* сопровождается нарушением обмена всех аминокислот мышечной ткани, за исключением гистидина, цистеина, тирозина и фенилаланина. В ткани мышц больных цыплят содержание лизина, серина, метионина, валина, лейцина, изолейцина увеличивается, а содержание аргинина, аспарагиновой кислоты, пролина, глицина, и аланина уменьшается.

2. Байкокк в определенной степени восстанавливает уровень свободных аминокислот в ткани мышц. Эффект этого препарата наиболее ярко выражен в отношении аргинина, глутаминовой кислоты и метионина мышечной ткани.

3. По общему содержанию всех аминокислот мышцы у подопытных леченных групп были выше по аналогичному показателю зараженных нелеченных групп.

Список литературы

1. Хованских А.Е., Илюшечкин Ю.П., Кириллов А.И. Кокцидиоз сельскохозяйственной птицы. Л.: Агропромиздат. 1999, 151 с.
2. Chapman D. Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. *World's Poultry Science Journal*, 2000. V.56, p.7-12.
3. Ятусевич А.И., Бирман Б.Я., Сандул А.В. Проблема эймериоза цыплят и пути ее решения // Эпизоотология, иммунология, фармакология, санитария: Междун. науч.-теор. журнал. Витебск. 2005, № 1, с.11-14.
4. Adewole, S.O. The efficacy of drugs in the treatment of coccidiosis in chicken in selected poultries *Academic Research International*. 2012, V.2, № 1, p.20-24
5. Jadhav, B. N., S. V. Nikam, S. N. Bhamre, E. L. Jaid. Study of *Eimeria necatrix* in broiler chicken from Aurangabad District of Maharashtra state India. *Intern. Multidis. Res.*, 2011, V.1, p.11-12.
6. Мусаев М.А., Гаджиев А.Т., Елчиев Я.Я., Ваидова С.Д., Мустафаева З.А. Паразиты домашних птиц Азербайджана и научные основы борьбы с ними. Баку, Элм. 1991. 160с.
7. Costa C.A. Coccidiosis and performans in broilers with anticoccidial medicated feed starting at different ages // *Agr. Brasil. Med. Veter. Zootecn.*, 2000. V. 52, № 2, p.144-149.
8. Елчиев Я.Я. Свободные аминокислоты сыворотки крови цыплят при экспериментальном кокцидиозе (*E.mitis*). / Известия АН Азерб. ССР. 1971. сер. биол. наук. № 1, с.107-110.
9. Namraud N.F., Shivzad M.A., Shahneh M.A. Effects of flicynid and glutamic acid supplementation to low protein diets on performance, thyroid function and fat deposition in chichens // *South African J. of Animal Scence.*, 2010, 40 (3), p.238-244.
10. Nademi M.A., Gilani A.H., Khan A.G., Mahr un Nisa. Amino asids availablity of paulty feedstuffs in Pakistan / *Inter. J. of Agraculture and biology*. 2005, V.7, № 6, p.985-989

Контактная информация:
E-mail: parazitolog@mail.ru
тел.: (99455)778-31-83

Д.А.ДЕВРИШОВ, Т.П.ЖАРОВА, Г.Н.ПЕЧНИКОВА
ФГБОУ ВПО «Московская государственная
академия ветеринарной медицины
и биотехнологии имени К.И.Скрябина

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ СОБАК И КОШЕК, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ

В статье представлены данные исследования, характеризующего динамику гуморальных факторов естественной резистентности, гематологических и биохимических показателей больных хроническим пиелонефритом собак и кошек до и после лечения. Полученные результаты свидетельствуют об изменении показателей бактерицидной активности сыворотки крови и повышении в ней уровня лизоцима, а также о прямой зависимости состояния иммунной системы и факторов неспецифической защиты от тяжести патологического процесса. После проведенной терапии у 70 % собак отмечали повышение бактерицидной активности, которая составила $77,1 \pm 1,63$ % ($P < 0,05$), содержание лизоцима равнялось $72,4 \pm 1,93$ мкг/мл ($P < 0,001$), что было ниже исходных показателей, тогда как у кошек опытной группы уровень лизоцима достоверно повышался и составил $34,12 \pm 1,79$ ($p < 0,001$), что достоверно выше фоновых показателей.

Ключевые слова: хронический пиелонефрит, иммунологическая реактивность, гуморальные факторы врожденного иммунитета, лизоцим, бактерицидная активность, гематология и биохимия.

D.A.DEVRISHOV, T.P.ZHAROVA, G.N.PECHNIKOVA
VPO «Moscow State Academy of Veterinary Medicine
and Biotechnology named after K.I. Skryabin

IMMUNOREACTIVITY IN DOGS AND CATS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS

The article presents data from a study characterizing the dynamics of humoral factors of natural resistance, hematological and biochemical parameters of patients with chronic pyelonephritis dogs and cats before and after treatment. The findings suggest that changes in the index serum bactericidal activity and increasing the level of lysozyme in it, as well as the direct dependence of the immune system and factors of nonspecific protection on the severity of the pathological process. After the treatment, 70% of dogs mentioned increased bactericidal activity, which reached $77,1 \pm 1,63$ % ($P < 0,05$), the content of lysozyme was equal $72,4 \pm 1,93$ g / ml ($P < 0,001$), which was below baseline, whereas in cats the experimental group significantly increased level of lysozyme and amounted to $34,12 \pm 1,79$ ($p < 0.001$), which was significantly above background values.

Keywords: chronic pyelonephritis, immunological reactivity, humoral factors of innate immunity, lysozyme, bactericidal activity, hematology and biochemistry.

Органы мочевой системы, включающей в себя почки и мочевыводящие пути, играют важнейшую роль в способности организма поддерживать гомеостаз — динамическое постоянство внутренней среды. Они регулируют водно-солевой, кислотно-основный и минеральный обмены, осуществляют экскрецию конечных продуктов метаболизма и чужеродных веществ, синтезируют биологически активные вещества.

Болезни органов мочевой системы часто встречаются у собак и кошек. Возникновение незаразных болезней почек связано с влиянием генетических факторов, условиями со-

держания животных, полноценностью и сбалансированностью рационов

В последние годы ведущую роль в патогенезе болезней органов мочевой системы отводят иммунопатологическим реакциям. При неэффективном лечении эти болезни принимают хроническое течение, при котором клинические признаки отсутствуют или слабо выражены, и поэтому часто остаются незамеченными владельцами животных. Хронические патологические процессы приводят к необратимым нарастающим изменениям тканей органов, развитию почечной недостаточности и гибели животных.

Хронический пиелонефрит встречается чаще всего у собак (сук), реже у кошек. Доля хронического пиелонефрита в патологии мочеполовой системы составляет 20% и имеет тенденцию к увеличению.

Клинические особенности пиелонефрита и его тенденция к хроническому, затяжному течению вызывают все больший интерес исследователей, а особенно к изучению возможного иммунного ответа. Частые рецидивы пиелонефрита могут рассматриваться как следствие реинфекции, но не исключается и объяснение их иммунными дефектами. В медицине со второй половины XX века проблема постановки иммунологических тестов у пациентов, страдающих хроническим пиелонефритом, активно развивается, в то время как в ветеринарии подобных исследований проведено не было.

Поэтому выбранная тема работы является достаточно актуальной для изучения современной ветеринарной медициной.

Целью настоящего исследования являлось изучение динамики факторов естественной резистентности, гематологических и био-

химических показателей крови больных хроническим пиелонефритом собак и кошек до и после проведенного лечения.

Для реализации цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить гематологические и биохимические показатели крови больных хроническим пиелонефритом собак и кошек.

2. Изучить динамику некоторых показателей иммунного статуса, характеризующих уровень естественной резистентности больных животных.

Для этого были сформированы опытные группы собак и кошек по 10 голов, у которых общепринятыми методами исследования мочи, крови и УЗИ-диагностики был диагностирован хронический пиелонефрит.

У опытных животных брали кровь для исследования до начала курса лечения и повторно через месяц после его окончания.

Динамику иммунологических показателей оценивали по изменению гуморальных факторов естественной резистентности, таких как уровень лизоцима и бактерицидная активность сыворотки крови.

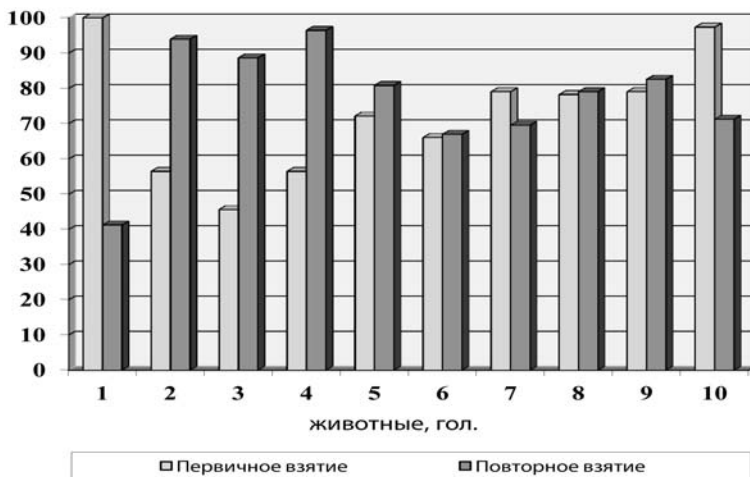


Рис. 1. БА сыворотки крови собак, больных хроническим пиелонефритом (%)

Динамика креатинина, мочевины, фосфора, БА и ЛА у собак с пиелонефритом до и после лечения.

Таблица № 1.

| Наименование показателя | До лечения | После лечения | P |
|--|---------------|---------------|----------|
| Креатинин | 95,50 ± 1,95 | 113,08 ± 1,83 | P<0,001 |
| Мочевина | 6,95 ± 0,96 | 8,09 ± 1,06 | P < 0,05 |
| Фосфор | 1,06 ± 0,62 | 1,20 ± 1,12 | P < 0,05 |
| Бактерицидная активность сыворотки крови (%) | 73,09 ± 1,62 | 77,1 ± 1,63 | P < 0,05 |
| Уровень лизоцима (мкг/мл) | 135,75 ± 1,89 | 72,4 ± 1,93 | P<0,001 |

Содержание лизоцима определяли по его способности лизировать взвешенный в агаре порошок из клеточных оболочек *Micrococcus lysodeikticus*.

Определение бактерицидной активности (БА) сыворотки крови основано на способности сыворотки оказывать бактерицидное и бактериостатическое действие на микроорганизмы, характеризующееся степенью задержки прироста биомассы тест-микроба в жидкой питательной среде.

Гематологические и биохимические исследования крови собак и кошек с хроническим пиелонефритом проводили по общепринятым методам.

По окончании исследования были получены следующие результаты. У всех опытных животных отмечалось повышенное количество лейкоцитов в крови, что выражалось нейтрофильным лейкоцитозом с регенеративным сдвигом ядра влево, свидетельствующим о доброкачественном направлении течения патологического процесса как до, так и после терапевтических мероприятий. У 5%

экспериментальных животных отмечалась гипохромная анемия.

При биохимическом исследовании сыворотки крови у собак наблюдалось повышение креатинина в среднем до $113,08 \pm 1,83$ мкмоль/л ($p < 0,001$), мочевины $8,09 \pm 1,06$ ммоль/л ($p < 0,05$), фосфора $1,20 \pm 1,12$ ($p < 0,05$) и соответственно у кошек до $177,95 \pm 1,87$ мкмоль/л ($p < 0,001$), $19,02 \pm 1,38$ ммоль/л ($p < 0,01$) и $1,43 \pm 0,85$ ммоль/л ($p < 0,05$). (табл. 1 и 2).

Результаты исследования БА сыворотки крови собак представлены в виде диаграммы и таблицы 1.

Как следует из представленных материалов у 70% собак после окончания курса лечения уровень БА повышался и составил в среднем $77,1 \pm 1,63\%$ ($p < 0,05$), следует отметить, что у 30% собак отмечали снижение бактерицидной активности, по сравнению с первичным взятием крови.

Результаты исследования БА сыворотки крови кошек представлены в диаграмме и таблице 2.

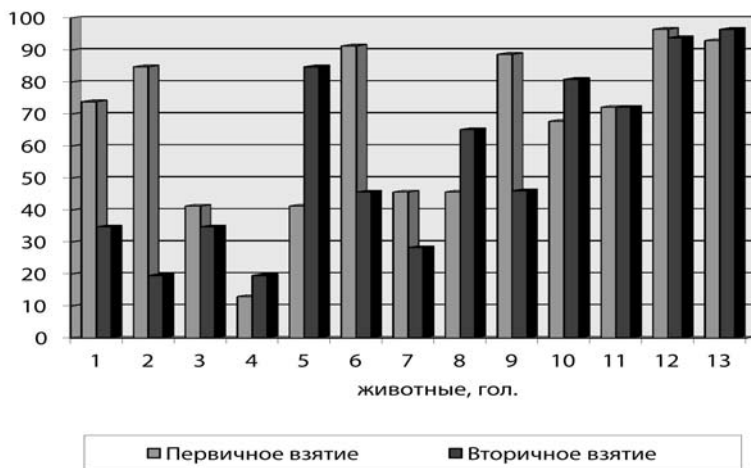


Рис 2. БА сыворотки крови кошек, больных хроническим пиелонефритом (%).

Таблица 2.

Динамика изменений БАК, ЛА креатинина, мочевины и фосфора, у кошек с пиелонефритом до и после лечения.

| Наименование показателя | До лечения | После лечения | P |
|--|-------------------|-------------------|-------------|
| Бактерицидная активность сыворотки крови (%) | $66,8 \pm 1,86$ | $55,57 \pm 1,82$ | $P < 0,001$ |
| Уровень лизоцима (мкг/мл) | $24,65 \pm 1,62$ | $34,12 \pm 1,79$ | $P < 0,001$ |
| Креатинин | $147,27 \pm 2,01$ | $177,95 \pm 1,87$ | $P < 0,001$ |
| Мочевина | $14,38 \pm 1,19$ | $19,02 \pm 1,38$ | $P < 0,01$ |
| Фосфор | $1,42 \pm 1,01$ | $1,43 \pm 0,85$ | $P < 0,05$ |

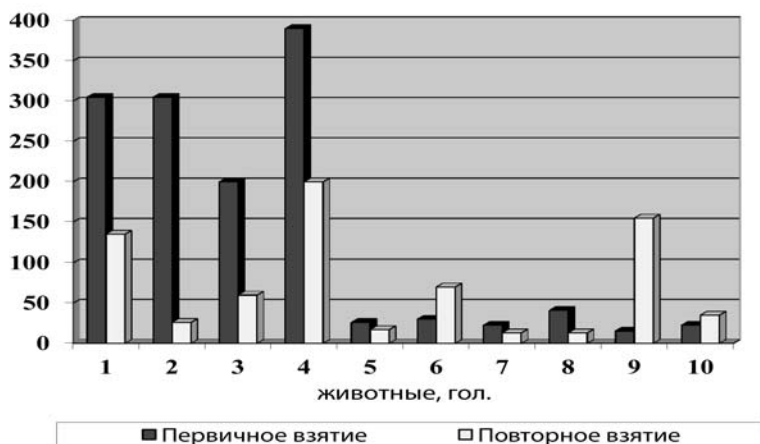


Рис.3. Уровень лизоцима в сыворотке крови собак, больных хроническим пиелонефритом (мкг/мл).

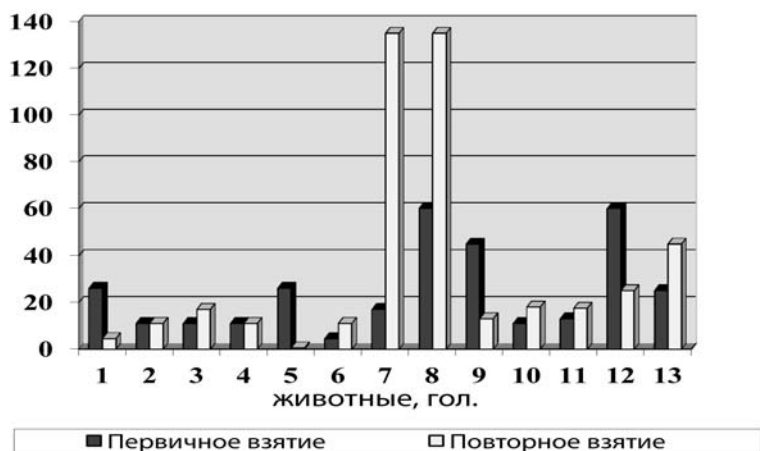


Рис.4. Уровень лизоцима у кошек, больных хроническим пиелонефритом (мкг/мл)

БА сыворотки крови у 38% исследованных кошек также возрастала при повторном взятии, причем средний уровень ее у кошек был ниже, чем у собак и составила $66,8 \pm 1,86\%$ ($p < 0,001$). После проведения лечения у 62% кошек отмечалось снижение бактерицидной активности и ее уровень составил $66,8 \pm 1,86\%$ ($p < 0,001$).

Снижение БА сыворотки крови в процессе лечения свидетельствует о хроническом течении заболевания и отсутствии ответа на проводимую терапию. Повышение БА может указывать на обострение патологического процесса, особенно наряду с повышением концентрации лизоцима.

Как следует из представленных результатов у 70% собак концентрация лизоцима в сыворотке крови снизилась и составила в среднем по группе $72,4 \pm 1,93$ ($p < 0,001$) мкг/мл. Концентрация лизоцима в сыворотке крови у большинства больных кошек (54%0 сни-

жалась по сравнению с первичным взятием крови. После лечения уровень лизоцима у кошек составил в среднем $34,12 \pm 1,79$ ($p < 0,001$).

Полученные данные свидетельствуют о прямой зависимости состояния иммунной системы и факторов неспецифической защиты от тяжести патологического процесса.

Список литературы:

1. Ярилин А.А. Основы иммунологии.- М., Медицина, 1999
2. Емельяненко П.А. и др. Методические указания по тестированию естественной резистентности телят. — М. ВАСХНИЛ, 1980
3. Масопуст Я., Долежалова В. Основы иммунохимических методов исследования. — Прага, 1979
4. Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В. Клиническая иммунология. — М.: Медицина, 2005. — 319с.
5. Калугина Г.В., Клушанцева М.С., Шехаб Л.Д. Хронический пиелонефрит.-М., Медицина, 1993. — 240с.

Д.А.ДЕВРИШОВ, Г.Н.ПЕЧНИКОВА, ЖАРОВА Т.П.
ФГБОУ ВПО «Московская государственная
академия ветеринарной медицины
и биотехнологии имени К.И.Скрябина

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ СОБАК

В работе представлены значения клеточных факторов врожденного и адаптивного иммунитета у больных хроническим пиелонефритом собак, а также их динамика до и после лечения. Установлена клеточная недостаточность всех показателей фагоцитарной активности, а также абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, которые соответственно составили: процент фагоцитоза — 40,5%; индекс фагоцитоза — 0,41; фагоцитарное число — 1,15; процент убитых микроорганизмов — 24%.

Абсолютное число Т+0 лимфоцитов составило 2692 тыс/мл, В-лимфоцитов — 1492 тыс/мл. Относительное количество соответственно составило 64,69% и 35,31%.

Ключевые слова: *Пиелонефрит, клеточные факторы, врожденный и адаптивный иммунитет, фагоцитарная активность нейтрофилов, количество Т- и В-лимфоцитов.*

D.A.DEVRISHOV, G.N.PECHNIKOVA, Zharova T.P.
VPO «Moscow State Academy of Veterinary Medicine
and Biotechnology named after K.I. Skryabin

CHARACTERIZATION OF CELLULAR FACTORS OF INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY IN PATIENTS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS DOGS

The paper presents the significance of cellular factors of innate and adaptive immunity in patients with chronic pyelonephritis dogs, as well as their dynamics before and after treatment. Established cell failure of all indicators phagocytic activity, as well as the absolute number of T and B lymphocytes, which are respectively as follows: the percentage of phagocytosis — 40.5%, the index of phagocytosis, 0.41; phagocytic number — 1.15, the percentage of killed microorganisms — 24%.

The absolute number of T lymphocytes was 2692 thousand / ml, B-lymphocytes — 1492 thousand / ml. The relative amount was respectively 64.69% and 35.31%.

Keywords: *Pyelonephritis, cellular factors, innate and adaptive immunity, the phagocytic activity of neutrophils, the number of T — and B-lymphocytes.*

Пиелонефрит характеризуется склонностью к хроническому течению и нередко к формированию хронической почечной недостаточности и имеют широкое распространение среди домашних животных.

При диагностике данного заболевания у 30% собак отмечали течение хронического пиелонефрита, осложненного почечной недостаточностью.

Рядом авторов в области медицины была установлена связь между состоянием иммунологической реактивности организма и характером течения заболевания: отягощенного почечной недостаточностью и без нее. При оценке иммунного статуса при пиелонефрите обнаруживали снижение количества Т- и В-лимфоцитов, показателей, характери-

зующих фагоцитарную активность, что свидетельствует о прямой зависимости состояния иммунной системы от тяжести патологического процесса.

В связи с тенденцией к увеличению числа больных хроническим пиелонефритом домашних животных, и в частности, собак, нами были проведены исследования по определения некоторых клеточных факторов врожденного и адаптивного иммунитета.

Были сформированы две группы животных. В опытную группу вошли собаки, больные хроническим пиелонефритом, у которых кровь для исследования брали до и после окончания курса лечения. Во вторую группу входили клинически здоровые животные.

У всех животных определяли фагоцитарную активность нейтрофилов крови, а также абсолютные и относительные значения Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов.

Определение фагоцитарной активности проводили с использованием в качестве тест-микроба *E.coli* 625 (непатогенный штамм) по методу П.А.Емельяненко и сотр.

Для разделения лимфоцитов на популяции использовали метод, основанный на свойстве В-лимфоцитов экспрессировать на своей мембране антигены к сывороточным иммуноглобулинам с последующим определением абсолютных и относительных величин Т- и В-лимфоцитов, предложенный Л.К.Эрнст и сотр.

Результаты, характеризующие фагоцитарную активность больных хроническим пиелонефритом и здоровых собак, а также динамику этих показателей до и после лечения, представлены в таблице 1.

Анализ представленных данных показал, что значения таких показателей как процент фагоцитоза, индекс фагоцитоза, фагоцитарное число и процент переваренных тест-микробов были существенно ниже у больных собак, по сравнению со здоровыми.

После завершения лечения все значения показателей фагоцитарной активности возросли и даже несколько превысили соответствующие уровни фагоцитоза у здоровых собак.

Результаты определения абсолютного и относительного количества Т- и В-лимфоцитов представлены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 следует, что при хроническом пиелонефрите собак имеет место угнетение клеточного иммунитета, связанного с Т- и В-лимфоцитами. В результате проведенной терапии значение абсолютных величин Т- лимфоцитов возрастает до уровня соответствующих показателей здоровых собак, а количество В-лимфоцитов характеризуется тенденцией к снижению. Процентное же соотношение этих популяций лимфоцитов выравнивается до нормы.

По результатам проведенных исследований можно сделать следующее заключение. У всех больных хроническим пиелонефритом собак до лечения имело место угнетение клеточных факторов иммунной защиты. По окончании курса терапии уровни фагоцитарной активности нейтрофилов крови и количественные значения Т-лимфоцитов

Таблица № 1.

Обобщенные данные показателей фагоцитарной активности нейтрофилов крови опытной и контрольной групп собак.

| Показатели фагоцитарной активности | 1 взятие | 2 взятие | Контроль |
|--|----------|----------|----------|
| Процент фагоцитоза, % | 40,5 | 67,5 | 51,7 |
| Индекс фагоцитоза | 0,41 | 1,24 | 0,76 |
| Фагоцитарное число | 1,15 | 1,76 | 1,50 |
| Процент убитых микроорганизмов на стадии поглощения, % | 24 | 45,2 | 39,3 |

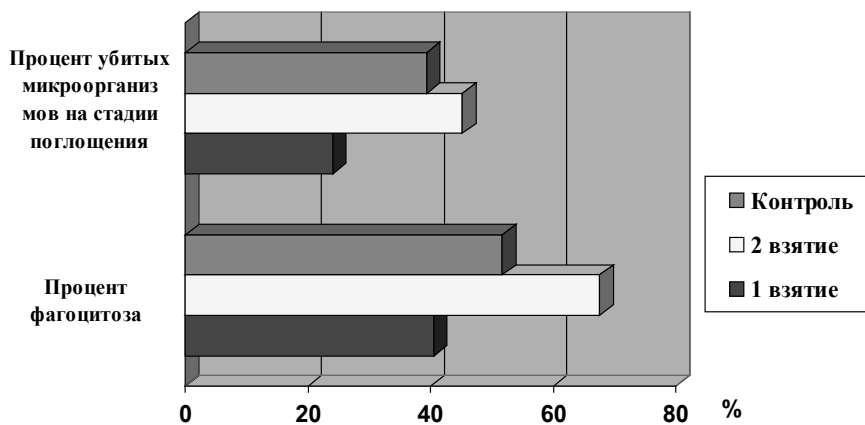


Рис 1. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови собак.

Абсолютное и относительное количество Т- и В-лимфоцитов в опытной и контрольной группах собак.

| Время взятия материала | Т+0 лимфоциты | | В-лимфоциты | |
|------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| | Абсолютное число, тыс./мл | Относительное количество, % | Абсолютное число, тыс./мл | Относительное количество, % |
| 1 взятие | 2692 | 64,69 | 1492 | 35,31 |
| 2 взятие | 3500 | 73,68 | 1250 | 26,32 |
| Контроль | 3450 | 70,28 | 1225 | 29,72 |

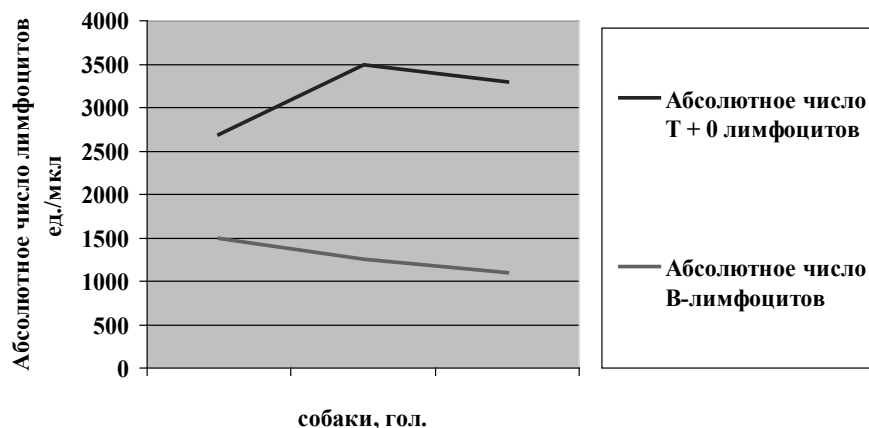


Рис 2. Абсолютное количество Т- и В-лимфоцитов у больных хроническим пиелонефритом собак.

нормализовались по отношению к здоровым собакам, а процентное соотношение Т- и В-лимфоцитов стало близким к норме.

Из представленного материала предыдущей и настоящей работы следует, что хронический пиелонефрит у собак протекает на фоне клеточной недостаточности как врожденного, так и адаптивного иммунитета. В то же время активность гуморальных факторов именно врожденного иммунитета была наиболее значима, что подтверждается высокими уровнями лизоцимной и бактерицидной активности.

Поскольку за бактерицидную активность отвечают прежде всего комплемент и антитела, именно комплемент играет наиболее значимую роль, так как количество В-лимфоцитов снижено в этот период, а именно они отвечают за секрецию антител.

Среди причин развития хронического пиелонефрита у животных ведущая роль принадлежит микроорганизмам, таким как эшерихии, стафилококки, стрептококки, протей, синегнойная палочка и др., а также их токсинам.

В то же время в этиологии данного заболевания нельзя исключить и аутоиммунные процессы. В связи с этим считаем целесообразным рекомендовать проводить диагностику на наличие и аутоантител.

Список литературы:

1. Ярилин А.А. Основы иммунологии. — М., Медицина, 1999
2. Емельяненко П.А. и сотр. Тестирование врожденного иммунитета крупного рогатого скота. — М, 2011. 140с
3. Караулов А.В., ЗемсковА.М., Земсков В.М., Клиническая иммунология и аллергология. М. Мед. информационное агенство, 2002. — 651с
4. ЗемсковА.М., Земсков В.М., Караулов А.В. Клиническая иммунология.-М.:Медицина, 2005. — 319с.
5. Калугина Г.В., Клушанцева М.С., Шехаб Л.Д. Хронический пиелонефрит. — М., Медицина, 1993. — 240с.
6. Эрнст Л.К., Шишков В.П. и др. Молекулярно-генетические и статистические методы изучения главного комплекса гистосовместимости крупного рогатого скота в связи с устойчивостью и восприимчивости к лейкозу. М., 1998

П.М. КАБАХОВА, С.Г. ХАИРОВ, О.Ю. ЮСУПОВ,
Г.М. ШЕХИЛАЛИЕВА, Э.А. ЯНИКОВА
ФГБНУ Прикаспийский зональный научно-исследовательский
ветеринарный институт, 367000, Республика Дагестан,
г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ КУЛЬТУРЫ BRUCELLA ABORTUS 19 С ЦЕЛЬЮ ИЗГОТОВЛЕНИЯ АНТИГЕНА ДЛЯ РНГА

Проведенные исследования показали, что питательная среда, приготовленная на основе панкреатического гидролизата казеина и экстракта хлебных дрожжей, при изготовлении эритроцитарного антигена для РНГА может заменить дорогостоящую мясопептонную печеночную глюкозо-глицериновую среду.

Ключевые слова: Республика Дагестан, питательная среда, штамм *B.abortus 19*, агар.

P.M. KABAkhOVA, S.G. HAIROV, O.YU. YUSUPOV,
G.M. SHEHILALIEVA, E.A. YANIKOVA
SSI Kaspian Zonal Research Veterinary Institute,
367000, Republic of Dagestan, Makhachkala, Dahadaeva Street, 88

NUTRIENT MEDIUM FOR GROWING OF CULTURE BRUCELLA ABORTUS 19 FOR THE MANUFACTURE OF ANTIGEN FOR RNGA

Studies have shown that the nutrient medium, prepared on the basis of pancreatic casein hydrolyzate and yeast extract grain, in the manufacture of red blood cell antigen for RNGA can replace expensive meat-hepatic glucose-glycerol medium.

Keywords: Republic of Dagestan, nutrient medium, strain *Brucella abortus 19*, agar.

Бруцеллез относится к числу особо опасных инфекционных болезней, причиняющих большой экономический ущерб народному хозяйству и представляющих серьезную опасность для здоровья людей. Несмотря на это, полная ликвидация его является трудной задачей, требующей большие затраты и зависящей в значительной степени от эффективности используемых в практике ветеринарно-санитарных мероприятий, в особенности методов и средств диагностики.

Применяемые в настоящее время в ветеринарной практике методы серологической диагностики бруцеллеза (РА, РСК, РИД с О-ПС антигеном и др.) не обеспечивают своевременное и полное выявление больных бруцеллезом животных. Они достаточно эффективны и требуют дальнейшего совершенствования. В связи с этим во многих странах, где имеется бруцеллез, большое внимание уделяется усовершенствованию и внедрению в практику более эффективных методов и средств диагностики бруцеллеза. К числу таких наиболее перспективных методов диагностики, по признанию многих исследовате-

лей, относится реакция непрямой гемагглютинации (РНГА).

В нашей стране эта реакция применяется в системе мероприятий по диагностике бруцеллеза животных в 2006 г. Для ее постановки применяется эритроцитарный антиген, разработанный ГБНУ Прикаспийским зональным НИВИ, ФГБУ «ВГНКИ» и ГБНУ ВНИИБТЖ, который в настоящее время производится в ООО «Ветмедсервис» (Республика Дагестан, г. Махачкала). Для изготовления антигена применяется бакмасса бруцелл вакцинного штамма *B.abortus 19*, получаемая путем выращивания культуры указанного штамма на мясо-печеночном глюкозо-глицериновом агаре (МППГГА) в матровых колбах или четвертях. Однако при использовании этой питательной среды не всегда удается получить достаточное количество бакмассы и концентрацию бруцелл, необходимые для изготовления антигена для РНГА в больших количествах. При добавлении в питательную среду стерильной сыворотки крови улучшается рост бруцелл и несколько увеличивается выход бакмассы. Тем не менее для изготовления и серийного

выпуска антигена приходится засеивать большое количество матровых колб, что связано с большими затратами ручного труда и материальными затратами. Кроме того, получение антигена с использованием питательной среды, изготовленной на основе высокоценного пищевого продукта — мяса, экономически не оправдано, а добавление дефицитной и дорогостоящей сыворотки крови, помимо экономической нецелесообразности, вызывает дополнительные трудности, связанные стерильным внесением ее в питательную среду и возможностью загрязнения бактериальной массы посторонней микрофлорой.

Основная цель наших исследований заключалась в изыскании метода изготовления недорогой и технологичной питательной среды для культивирования бруцелл с целью получения бакмассы в больших количествах для производства антигена. С этой целью мы решили испытать возможность использования питательной среды, изготовленной на основе казеинового гидролизата и кормовых или пекарских дрожжей для получения достаточного количества биомассы бруцелл штамма 19, пригодной для изготовления эритроцитарного антигена для РНГА.

Результаты и обсуждение

В настоящее время большинство препаратов, применяемых для диагностики бруцеллеза животных, в частности, единый антиген для РА и РСК, антиген для кольцевой реакции с молоком, роз-бенгал антиген для пластинчатой РА, эритроцитарный антиген для РНГА готовятся из вакцинного штамма бруцелл — *V.abortus* 19. Это связано с тем, что штамм *V.abortus* 19 обладает хорошо выраженными антигенными свойствами, стабильно сохраняет свои биологические (культурно-морфологические, антигенные, иммуногенные, вирулентные и др.) свойствами и является менее опасной для работников биофабрик и персонала работающего с ним.

Существующая технология изготовления бруцеллезного эритроцитарного антигена для РНГА в лабораторных условиях предусматривает культивирование бруцелл штамма *V.abortus* 19 на плотных мясо-печеночных средах в стеклянной посуде (матровые колбы, четверти), что требует больших затрат ручного труда и времени. Эта технология не позволяет получить бактериальную массу достаточно высокой концентрации, требующую для производства антигена в промышленных масштабах и экологически опасна в случаях нарушения целостности стеклопосуды.

При массовом серийном производстве диагностических препаратов, в том числе и антигена для РНГА, большое значение имеет использование питательных сред, обеспечивающих оптимальный рост бруцелл и хорошее накопление бакмассы, а также методы и режимы их выращивания. Поэтому с целью изыскания наиболее технологичных и недорогих питательных сред, обеспечивающих получение бакмассы бруцелл штамма *V.abortus* 19 для производства антигена для РНГА в промышленных масштабах нами испытаны: мясопеченочный глюкозо-глицериновый агар и агар, изготовленный на основе гидролизата казеина и экстракта хлебных дрожжей.

Мясопептонный печеночный глюкозо-глицериновый агар.

Для изготовления 1 л. среды брали 500 мл. бульона и 500 мл. печеночного экстракта, 3% агар-агара, 1% пептона, 0,5% хлорида натрия, рН 7,3-7,6. После кипячения и расплавления агар-агара в среду добавляли 2% глицерина и 1% глюкозы, после чего ее разливали в матровые колбы по 250 мл и стерилизовали при одной атмосфере в течение 30 минут. РН после стерилизации — 6,8-7,1.

При выращивании на данной питательной среде получен удовлетворительный рост бруцелл штамма 19 и достаточно хорошее накопление микробной массы. Но эта питательная среда дорогостоящая, поскольку готовится из доброкачественной свежей говядины и печени крупного рогатого скота.

Агар на основе гидролизата казеина и хлебных дрожжей.

Для получения бактериальной массы бруцелл культуру штамма *V.abortus* 19 выращивали в матровых колбах на плотной питательной среде, изготовленной из корсаковского агар-агара высшего сорта на основе панкреатического гидролизата казеина с добавлением в качестве белковых и углеводных компонентов, источника различных витаминов и других ростовых факторов экстракта хлебных дрожжей. Использование казеина обосновано тем, что он содержит наиболее полный набор необходимых для роста бруцелл аминокислот и является более дешевым сырьем по сравнению с мясом.

Питательная среда состояла из равных объемов панкреатического гидролизата казеина глубокой степени расщепления и экстракта дрожжей, разведенных после смешивания дистиллированной водой до содержа-

ния аминного азота 110-130 мг% с добавлением 0,5% хлористого натрия, 1% глюкозы, 2% глицерина и 2,5-3% агар-агара. При выращивании культуры штамма *V.abortus* 19 на этой питательной среде достигался лучший рост бруцелл, чем на мясопептонный печеночно-глюкозоглицериновой среде, получен сравнительно большой выход бактериальной массы без диссоциированных клеток с высокими антигенными свойствами.

Данная питательная среда значительно по сравнению с МППГГА дешевле, так как для его изготовления не используются высокоценные пищевые продукты — мясо и печень, а также дефицитная и дорогостоящая сыворотка крови крупного рогатого скота.

Выход бактериальной массы трехсуточной культуры бруцелл на МППГГА в расчете на 1 л питательной среды составлял 0,9-1 л. при концентрации 80-90 м.к. в 1 мл., а на питательной среде, изготовленной на основе гидролизата казеина и хлебных дрожжей — 1,1 л.

Культура *V.abortus* 19 на указанных средах выращивали при температуре 37°C в течение 72 часов. Микробную суспензию после смыва с поверхности плотных питательных сред доводили до концентрации 80-100 млрд. м.к. в 1 мл., автоклавировали при 1 атмосфере в течение 20 мин. И использовали в качестве сенситина для приготовления эритроцитарного антигена для РНГА.

При испытании для исследования сывороток крови крупного рогатого скота и овец на бруцеллез серии антигена, полученные с использованием бакмассы, культуры бруцелл штамма 19, выращенной на обеих питательных средах были специфичны и существенно не отличались по чувствительности.

Таким образом, проведенные исследования показали, что питательная среда, изготовленная на основе панкреатического гидролизата казеина и экстракта хлебных дрожжей, при изготовлении эритроцитарного антигена для РНГА может заменить мясопептонную печеночную глюкозо-глицериновую среду, используемую для этой цели и позволяет получить бактериальную массу бруцелл, пригодную для производства указанного антигена.

Заключение

Результаты проведенных исследований дают основание рекомендовать для культивирования бруцелл штамма *V.abortus* 19, с целью получения бакмассы для производства эритроцитарного антигена для РНГА, использование питательной среды, изготовленной на основе панкреатического гидролизата казеина и дрожжевого экстракта, которая позволяет получить бакмассу бруцелл с типичными биологическими свойствами без диссоциированных клеток и обладающие высокими антигенными свойствами.

Данная питательная среда намного дешевле, по сравнению с мясопеченочными средами, т.к. для ее изготовления не используются высокоценные пищевые продукты — мясо и печень.

Список литературы

1. Альтон Дж. Методы лабораторных исследований по бруцеллезу. М., Медицина. 1968. 84 с.
2. Вершилова П.А., Голубева А.А., Кашмазова Е.Ц. и др. Кн. Бруцеллез. М. МедГиз. 1961.
3. Гидролизат казеина средней степени расщепления кислотный сухой. Микробиологические питательные среды. Каталог, Махачкала, 2001. С. 9.
4. Иванов М.М., Михайлов Н.А. и др. Питательная среда для выращивания микроорганизмов. Авт. свид-во № 382682. Бюллетень 23. 1973.
5. Коротич А.С. Питательные среды, ускоряющие рост бруцелл — ЖМЭ. 1960, вып. 3.
6. Питательная среда для выделения и культивирования бруцелл, сухая (эритрит агар). Микробиологические питательные среды. Каталог, Махачкала, 2001. С. 47.
7. Триленко П.А. Для выращивания бруцелл рекомендует плотный печеночно-глюкозо-глицериновый агар. Кн. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Ленинград «Колос», 1976. С. 250-253.
8. Шумилов К.В., Климанов А.И., Малахов Т.И. Для изготовления единого бруцеллезного антигена для РА, РСК РДСК рекомендуют для выращивания штамма *V.abortus* 19 картофельный и мартековский агар с добавлением перевара Хоттингера. Справочник «Ветеринарные препараты», 1981 г., Москва, «Колос». С. 181-183.

*Контактная информация:
e-mail: kabakhova@mail.ru*

УДК 636:577.391.591.5

**Е.М. МОЗОЛИН, В.Я. САРУХАНОВ, В.О. КОБЯЛКО,
С.И. СПИРИДОНОВ, Н.И. САНЖАРОВА**
*ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной радиологии
и агроэкологии Россельхозакадемии*

РАЗРАБОТКА БАЗ ДАННЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ И ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Описана структура баз данных, систематизирующих результаты исследований воздействия ионизирующих излучений и тяжелых металлов на сельскохозяйственных животных. Представлены способы ввода и получения информации, а также краткая характеристика сведений, представленных в базах данных.

Ключевые слова: база данных, ионизирующее излучения, тяжёлые металлы, сельскохозяйственные животные.

**E.M. MOZOLIN, V.J. SARUHANOV, V.O. KOBILKO,
S.I. SPIRIDONOV, N.I. SANGAROVA**
Russian Institute of Agricultural Radiology and Agroecology

DEVELOPMENT OF DATABASES BY RESULTS OF RESEARCHES INFLUENCE IONIZING RADIATION AND HEAVY METALS ON AGRICULTURAL ANIMALS

The structure of the databases systematizing results of researches influence ionizing radiations and heavy metals on agricultural animals is described. Ways of input and reception of the information, and also the brief characteristic of the data submitted in databases are submitted.

Key words: database, ionizing radiations, heavy metals, agricultural animals.

К настоящему времени накоплен значительный объем информации, характеризующей воздействие радиационного и химического факторов на объекты окружающей среды. Особый интерес представляют данные, описывающие последствия воздействия этих факторов на компоненты агроэкосистем. К таким компонентам относятся, прежде всего, сельскохозяйственные животные в силу высокой чувствительности к воздействию токсикантов и значимости с точки зрения ведения агропромышленного производства. Агрегация накопленной информации с использованием современных программных средств является закономерным этапом исследований. Обработка и анализ полученных данных являются основой нормирования радиационного и токсического воздействия на сельскохозяйственных животных, определения безопасных и критических уровней воздействия.

Базы данных (БД) предназначены для накопления, систематизации и анализа информации о действии ионизирующих излучений

и тяжёлых металлов на сельскохозяйственных животных в модельных экспериментах и полевых исследованиях при остром и хроническом воздействии, а также при наличии различных сопутствующих основному стрессору факторов.

БД были созданы в программном комплексе Access, однотипны по своей структуре и состоят из двух связанных таблиц: "общая база" и "действие". В первую входят поля, описывающие литературный источник и качественно характеризующие эксперимент. Вторая таблица содержит поля с количественным описанием результатов эксперимента.

Работать с данными в БД можно в режимах "формы" и "таблицы", а также при помощи запросов. В режиме "формы" целиком отображается одна запись с соответствующей встроенной таблицей. Поля этой записи размещены на одном экранном листе последовательно. Для удобства в форме информация разбита на несколько блоков. В первом блоке характеризует литературный источник и даётся ссылка на него в электронной библи-

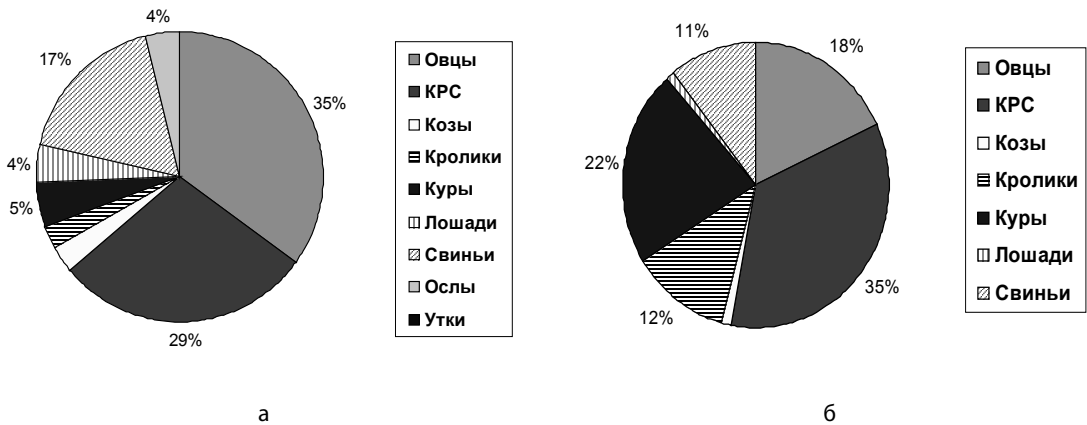


Рис. 1 — Виды сельскохозяйственных животных, представленные в базах данных (а- воздействие ионизирующих излучений, б — воздействие тяжелых металлов)

отеке. Во втором — описывается район проведения исследований и рацион животных. В третьем блоке представлены характеристики животных и условия радиационного или токсического воздействия. В четвертом — указываются основной и сопутствующий стрессоры, условия их воздействия, наблюдаемый биологический эффект, а также даётся вложенная таблица с количественными данными по эксперименту.

Для удобства обработки информации было сформировано четыре типовых запроса:

- запрос “Литературный источник” выводит информацию об источниках литературы;
- запрос “Доза-эффект” включает в себя основные поля, которые качественно и количественно описывают эксперимент;
- запрос “Собственный запрос” — макет для создания запроса пользователем. Конструктор запроса включает таблицы “общая база” и “действие” и поле “Название публикации”. Пользователь имеет возможность добавить дополнительные поля;
- запрос “Перечень” — создан с применением групповых операций. В рамках демонстрационного примера он сконструирован по названиям животных и стрессоров. Результат этого запроса показывает, сколько записей содержат информацию по действию каждого стрессора на конкретный вид.

Базы данных “открыты” для пополнения новой информацией. В настоящее время в

БД по воздействию ионизирующих излучений на животных содержится 955 записей из 70 литературных источников. Самые ранние публикации относятся к 1952 г., а последние к 2010 г. В БД по воздействию тяжелых металлов на животных включено 885 записей из 65 литературных источников. Даты публикаций охватывают период с 1964 г. по 2006 г.

Среди всего массива данных, представленного в БД по действию ионизирующих излучений на животных, основной объём занимает информация о воздействии радиации на овец, крупный рогатый скот и свиней (рис. 1а), а в БД по действию тяжелых металлов — о токсическом воздействии на крупный рогатый скот, кур и овец (рис. 1б).

Все случаи радиационного или токсического воздействия были объединены в несколько групп. В частности, для радиационного воздействия были выделены: экспериментальное облучение в контролируемых условиях, пероральное поступление, воздействие в условиях радиационной аварии на ЧАЭС, внутривенное введение и комбинированное (при совмещении нескольких сценариев) воздействие (рис. 2а). Поступление тяжелых металлов в организм происходило: при пероральной заправке, внутривенном, внутривенном или подкожном введении, а также трансплацентарно, когда токсическое воздействие оказывалось на организм матери, а эффекты оценивали у потомства (рис. 2б).

Как видно из диаграмм в большинстве случаев радиационное воздействие происходило от внешних источников гамма-излучения в

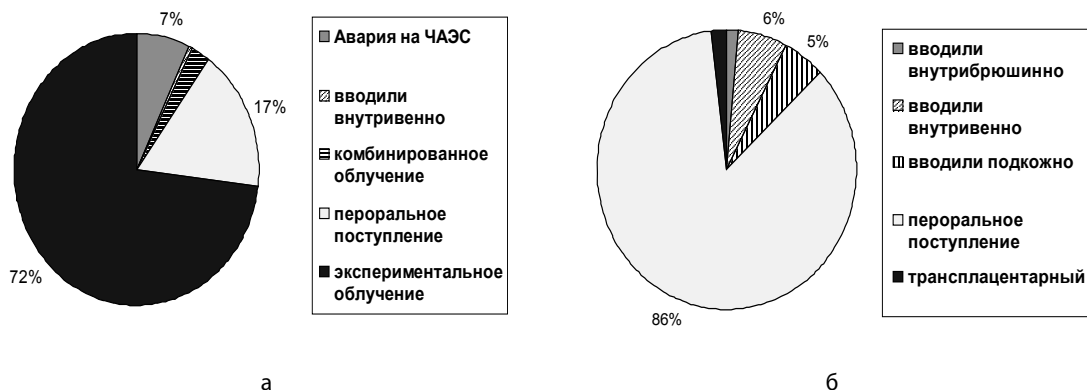


Рис. 2 — Сценарии радиационного воздействия на животных и пути поступления тяжёлых металлов в организм (а- воздействие ионизирующих излучений, б — воздействие тяжёлых металлов)

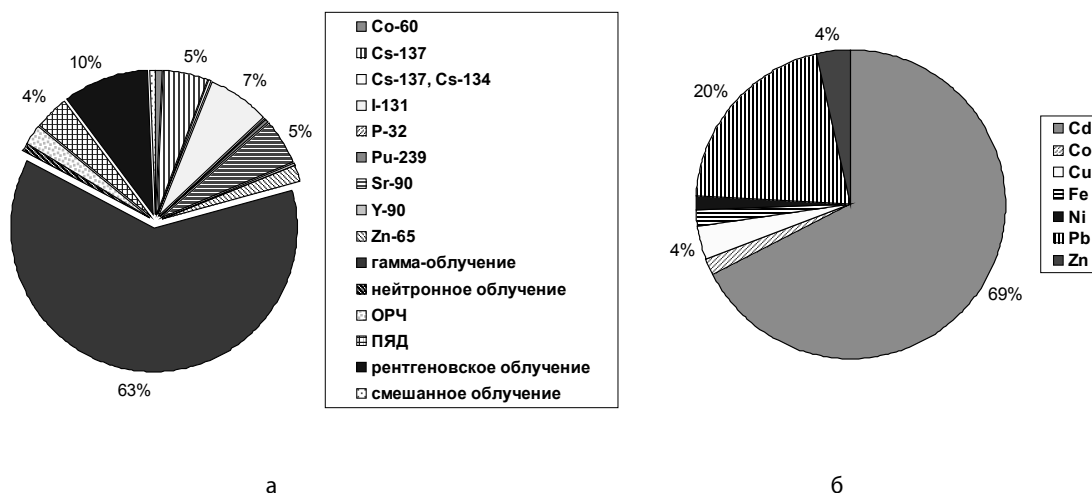


Рис. 3 — Стрессоры, представленные в базах данных (а- воздействие ионизирующих излучений, б — воздействие тяжёлых металлов)

контролируемых условиях, что связано с необходимостью смоделировать условия радиационного поражения при атомном взрыве. Реже радионуклиды давали перорально для имитации поступления в организм ¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr и ¹³¹I (рис. 2а, 3а).

Тяжёлые металлы животные чаще всего получали перорально, что объясняется имитацией естественного пути отравления. При этом чаще всего для затравки использовали Cd и Pb (рис. 2б, 3б).

К настоящему моменту завершена корректировка структуры и проверка информации, входящей в БД, получены авторские свидетельства о государственной регистрации разработанных баз данных (№ 2011620630 и № 2011620631).

Адресат для корреспонденции:
 249020, Обнинск, Калужская обл.,
 Киевское шоссе, ВНИИСХРАЭ,
 тел.: 48439-96947; Fax: 48439-68066;
 E-mail: evgen2005.ru@mail.ru

УДК: 619:616-085.31:636.7

ДЕНИСЕНКО В.Н., д.в.н.
 ФГБОУ ВПО «Московская государственная
 академия ветеринарной медицины
 и биотехнологии имени К.И. Скрябина»
СМИРНОВ А.А., к.б.н., КЛИМОВ П.В.
 ООО «Апи-Сан».

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ АТИПАМЕЗОЛА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТОВ «АНТИСЕДАН» (PFIZER ANIMAL HEALTH, США) И «АНТИМЕДИН» (ООО «АПИ-САН», РОССИЯ) СОБАКАМ.

Изучали фармакокинетику атипамезола при внутримышечном введении собакам препаратов «Антиседан» и «Антимедин».

Определение атипамезола в сыворотке крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Сравнительное изучение фармакокинетических параметров атипамезола при применении препаратов «Антиседан» и «Антимедин» позволило заключить, что они являются биоэквивалентами.

Ключевые слова: «Атипамезол», «Антиседан», «Антимедин», «Фармакокинетика», «Биоэквивалентность».

DENISENKO V.N.
 Moscow state academy of veterinary
 and biotechnology named K.I. Skryabin
SMIRNOV A.A., KLIMOV P.V.
 Api-San, Ltd.

PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF ATIPAMEZOLE AT THE USE OF DRUGS "ANTISEDAN" (PFIZER ANIMAL HEALTH, USA) AND "ANTIMEDIN" API- SAN, (RUSSIAN) DOGS.

We studied the pharmacokinetics of atipamezole with intramuscular preparations dogs "Antisedan" and "Antimedine".

Determination of atipamezole in serum were determined by high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection.

Comparative study of the pharmacokinetic parameters when using drugs atipamezole "Antisedan" and "Antimedine" led to the conclusion that they are bioequivalent

Keywords "Atipamezole" "Antisedan" "Antimedine", "Pharmacokinetics", "Bioequivalence".

Катехоламины — адреналин, норадреналин и дофамин, участвуют в нервных и гуморальных механизмах поддержания гомеостаза организма.

В синапсах они являются нейромедиаторами обеспечивающими передачу возбуждения с нервного волокна клеткам нервной, железистой ткани и гладкой мускулатуры.

Катехоламины из надпочечников поступают в кровь и воздействуют на клетки мишени всего организма.

Взаимодействие гормонов с клетками организма осуществляется при помощи адренорецепторов (1).

По характеру реакции на катехоламины адренорецепторы подразделяются на α_1 , α_2 и β_1 , β_2 подклассы. Путем применения селективных фармакологических препаратов, поразному влияющих на отдельные подклассы медиаторов, можно получить разные клинические эффекты.

Вещества, выводящие адренорецепторы из состояния физиологического равновесия, подразделяются на стимуляторы (агонисты) и блокаторы (антагонисты) рецепторов.

Антагонисты α_2 -адренорецепторов в ветеринарной практике используются для устранения эффектов агонистов α_2 -адренергических рецепторов.

В частности, высокоспецифичным селективным α_2 -антагонистом является атипамезол. Атипамезол нейтрализует седативный, иммобилизирующий, анальгетический и вазкулярные эффекты медетомидина, который является агонистом α_2 -адренорецепторов (2).

Гидрохлорид медетомидина является действующим веществом препарата доמידор (США), который вызывает угнетение центральной нервной системы и повышение болевого порога. Он используется при проведении хирургических операций на собаках и кашках и для снижения агрессивности животных (3).

В ветеринарной практике для устранения седативного и анальгетического действия медетомидина у кошек и собак используется препарат «Антиседан» (Pfizer Animal Health, США), действующим началом в котором является атипамезола гидрохлорид. Фирмой Апи-Сан (Россия) предложен препарат «Антимедин», также содержащий атипамезола гидрохлорид в качестве действующего вещества.

В своей работе мы поставили цель провести сравнительное изучение фармакокинетики атипамезола гидрохлорида при применении собакам препаратов «Антиседан» и «Антимедин».

Материалы и методы

Работа выполнена на 18 овчароподобных метисах 1,5-2 летнего возраста, обоих полов, массой 18-20 кг. Животных содержали в вольерах, кормили сухим кормом по установленным нормам.

По принципу аналогов подопытные животные были разделены на 2 группы по 8 голов. Плацебо физраствор вводили 2 собакам. Перед началом опытов все животные в течение 14 дней были выдержаны в карантине. Непосредственно перед введением препаратов у них измеряли температуру тела.

Препараты. «Антиседан» серия № 1476667, срок годности до 04.2015. Стерильный, прозрачный, бесцветный раствор, содержащий 5 мг/мл атипамезола гидрохлорида (Pfizer Animal Health, США).

«Антимедин» серия № 74102013, срок годности до 10.2015. Стерильный, прозрачный, бесцветный раствор, содержащий 5 мг/мл атипамезола гидрохлорида (ООО «Апи-Сан», Россия).

Опыт проводили через 3 часа после кормления животных. Препараты вводили внутримышечно в область бедра в дозе 0,5 мл на 10 кг массы тела.

Кровь для исследования получали из яремной вены непосредственно перед вве-

дением и через 3,5, 10, 15, 20, 30, 45, 120 и 180 минут после введения препаратов. Сыворотку отделяли общепринятым способом и до исследования хранили в замороженном при $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ виде.

Определение атипамезола в сыворотке крови собак проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Была разработана оригинальная методика ВЭЖХ/МС/МС, подобраны параметры хроматографирования с учетом физико-химических свойств исследуемого вещества, особенностей имеющегося хроматографа и хроматографической колонки.

Использовали жидкостной хроматограф «Dionex Ultimate 3000» (Thermo Scientific, США) с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором «TSQ Quantum Access MAX (Thermo Scientific, США).

Условия хроматографирования

- Колонка Pheonomenex C18(2), 3мкм, 100А, 75x2мм;
- Скорость потока: 150 мкл/мин;
- Объем вводимой пробы: 5 мкл;
- Время удерживания 3,4 мин;
- Время анализа 5,0 мин;
- Время поступления элюата в детектор: с 2,9 по 4,0 мин;
- Режим элюирования: изократический;
- Подвижная фаза: 0,1% раствор муравьиной кислоты в смеси ацетонитрил — вода (25,5 : 74,5).

Стандарт атипамезола гидрохлорида содержал 99,21% основного вещества (XIAMEN FINECHEMICAL IMPORT EXPERT Co.LTD).

Концентрацию атипамезола в испытуемых образцах рассчитывали методом внешнего стандарта с использованием программного обеспечения «Xcalibur 2.2» (Thermo Scientific, США). Калибровочные кривые строили на основании результатов анализа проб сыворотки крови интактных животных, к которым были добавлены известные количества атипамезола.

Подготовка проб сыворотки крови подопытных животных для анализа: к 200 мкл сыворотки добавляли 400 мкл ацетонитрила и перемешивали в течение 2 минут. Полученные смеси центрифугировали 5 минут. По 100 мкл супернатантов помещали в пробирки типа Эппендорф, добавляли по 166 мкл 0,1% раствора муравьиной кислоты в воде, встряхивали в течение 2 минут и центрифугировали 5 минут. Анализировали методом ВЭЖХ на досадочные растворы.

Образцы хроматограмм.

C:\calibur\data\Atipomazol\g4-0

12/18/2013 4:03:50 PM

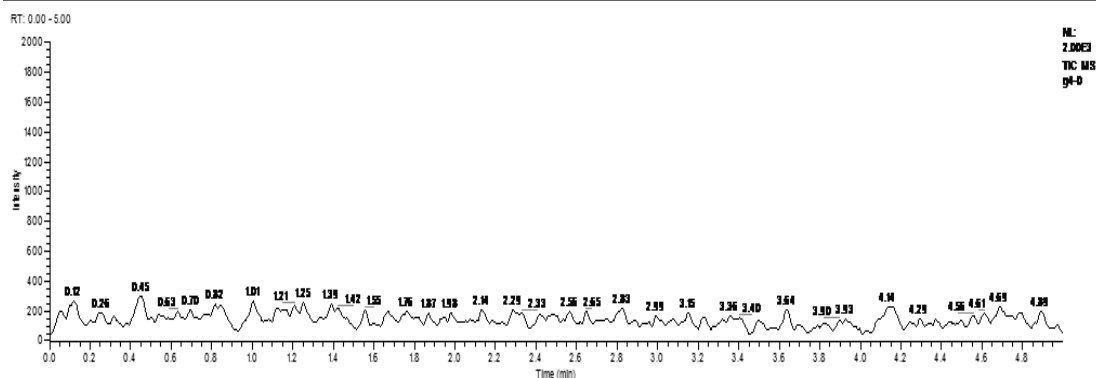


Рис. 1а. Хроматограмма пробы сыворотки, не содержащей атипамезола

C:\calibur\data\Atipomazol\5s-2

12/13/2013 7:14:45 PM

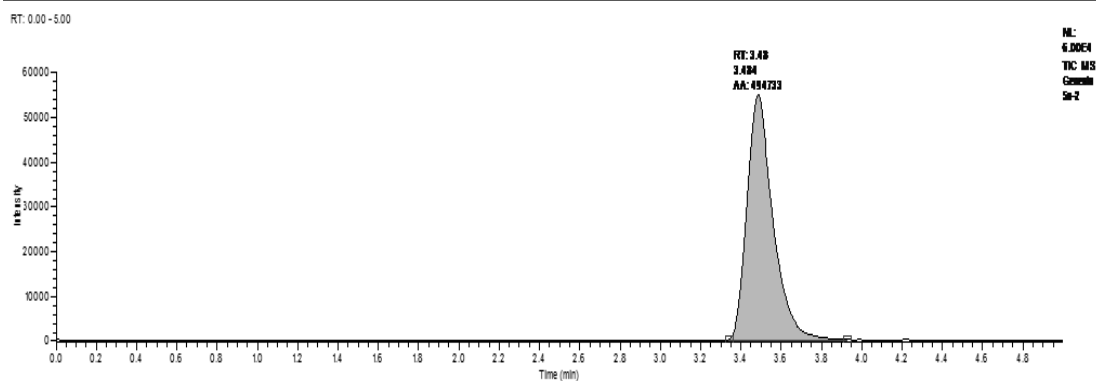


Рис. 1b. Хроматограмма стандартного раствора атипамезола в сыворотке крови собаки. Концентрация атипамезола — 107,22 нг/мл.

C:\calibur\data\Atipomazol\g3-5

12/13/2013 8:42:55 PM

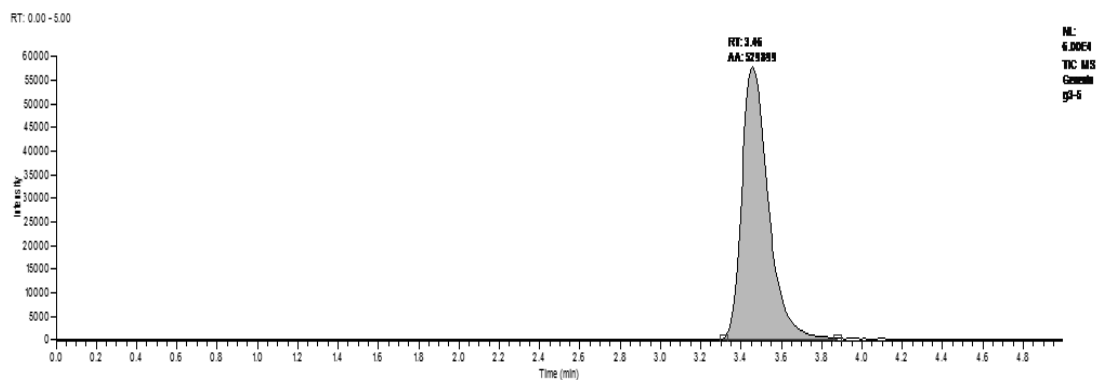


Рис. 1с. Хроматограмма образца сыворотки крови собаки, отобранного через 20 мин после введения препарата «Антиседан»

Результаты

Клинические показатели. Через 3 — 5 минут после введения «Антиседана» и «Антимедина» отмечали легкое возбуждение собак, легкую одышку и усиление саливации.

Результаты анализа стандартных растворов атипамезола.

Полученная при исследовании стандартных растворов атипамезола калибровочная кривая отражена на рисунке 2.

Анализ рисунка 2 показывает, что калибровочная кривая была линейна в преде-

лах от 6,701 нг/мл до 214,440 нг/мл. Предел чувствительности по атипамезолу составил 0,7 нг/мл, предел количественного определения — 2,4 нг/мл. Коэффициент корреляции $R^2 = 0,9992$.

Результаты анализа образцов сыворотки крови подопытных собак.

Данные, отражающие динамику атипамезола у подопытных собак после введения препаратов «Антиседан» и «Антимедин» отражены на рисунке 3.

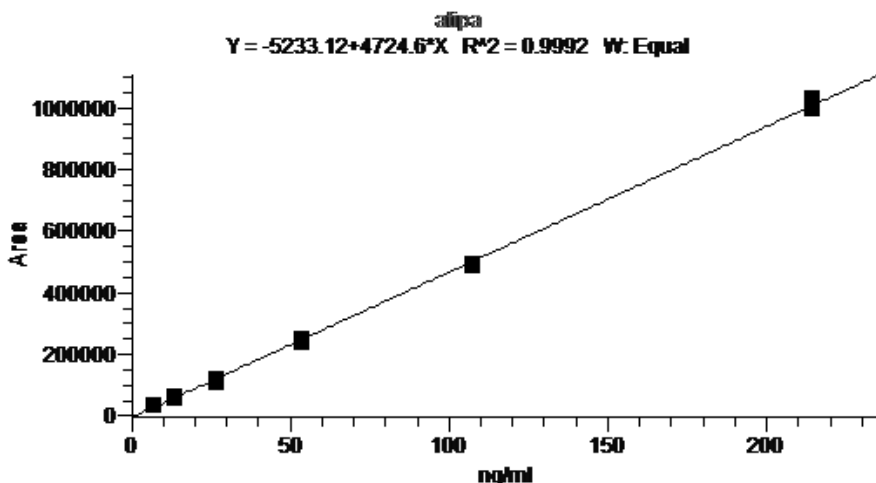


Рис. 2. Калибровочная кривая

| | Время после введения препарата, ч | | | | | | | | |
|------------------------|-----------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|
| | 0,05 | 0,083 | 0,167 | 0,25 | 0,333 | 0,5 | 0,75 | 2 | 3 |
| n=8 Антиседан | | | | | | | | | |
| Средние значения | 98,38 | 128,79 | 117,80 | 107,24 | 95,43 | 83,47 | 78,00 | 33,22 | 15,72 |
| Стандартное отклонение | 42,16 | 42,85 | 33,31 | 22,84 | 19,21 | 13,13 | 25,70 | 7,99 | 5,96 |
| Коэффициент вариации | 42,86 | 33,27 | 28,28 | 21,30 | 20,13 | 15,73 | 32,95 | 24,04 | 37,88 |
| Стандартная ошибка | 14,91 | 15,15 | 11,78 | 8,08 | 6,79 | 4,64 | 9,09 | 3,26 | 2,43 |
| Интервальные значения | 63,13-133,62 | 92,97-164,61 | 89,95-145,65 | 88,14-126,33 | 79,37-111,50 | 72,50-94,45 | 56,51-99,48 | 24,84-41,60 | 15,72-21,97 |
| n=8 Антимедин | | | | | | | | | |
| Средние значения | 72,63 | 122,16 | 134,25 | 123,58 | 115,77 | 102,93 | 82,72 | 50,66 | 24,86 |
| Стандартное отклонение | 71,30 | 83,70 | 67,24 | 47,11 | 41,11 | 31,55 | 22,97 | 38,82 | 10,71 |
| Коэффициент вариации | 98,17 | 68,51 | 50,08 | 38,12 | 35,51 | 30,65 | 27,77 | 76,62 | 43,10 |
| Стандартная ошибка | 25,21 | 29,59 | 23,17 | 16,65 | 14,53 | 11,15 | 8,12 | 13,72 | 4,05 |
| Интервальные значения | 13,02-132,23 | 52,19-192,14 | 78,04-190,46 | 84,20-162,96 | 81,41-150,14 | 76,56-129,30 | 63,51-101,92 | 18,21-83,12 | 14,95-34,77 |

Рис. 3. Динамика атипамезола (нг/мл) в сыворотке крови собак после введения препаратов «Антиседан» и «Антимедин».

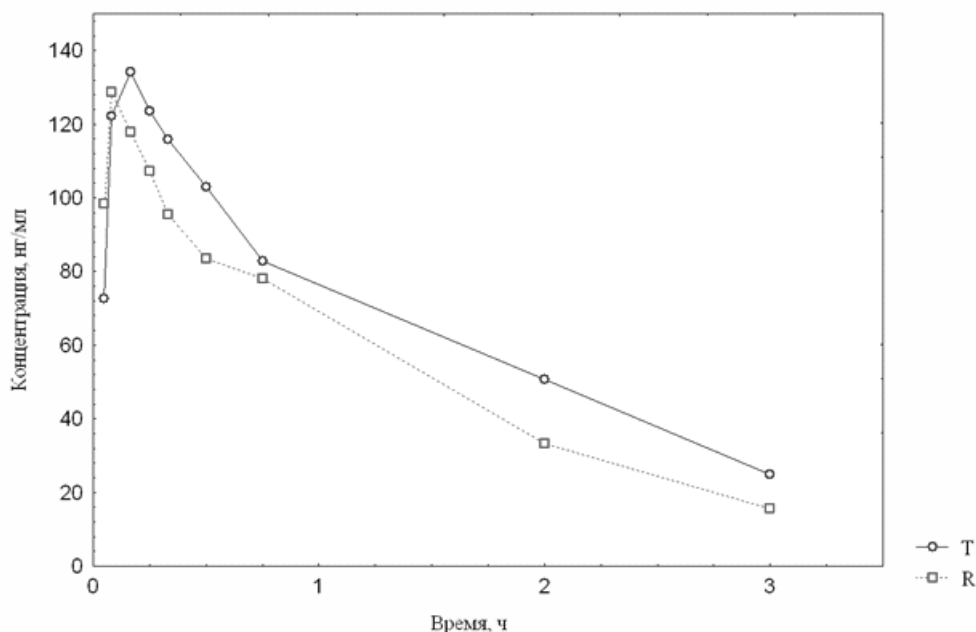


Рис.4. Фармакокинетические кривые атипамезола при внутримышечном введении подопытным собакам препаратов «Антиседан» (R) и «Антимедин» (Т)

Графическое изображение среднестатистических показателей фармакокинетики атипамезола при внутримышечном введении препаратов «Антиседан» и «Антимедин» подопытным собакам отражено на рисунке 4.

Анализ фармакокинетических кривых свидетельствует о том, что при применении препаратов «Антиседан» и «Антимедин» скорость всасывания атипамезола, максимальная его концентрация и продолжительность удержания в крови существенно не различаются.

Результаты парного сравнения фармакокинетических параметров изучаемых препаратов показаны на рисунке 5.

Анализ рисунка 5 свидетельствует об отсутствии статистически значимых различий между фармакокинетическими параметрами атипамезола при применении собакам препаратов «Антиседан» и «Антимедин».

Заключение.

В результате сравнительного изучения фармакокинетических параметров атипамезола при внутримышечном введении собакам препаратов «Антиседан» и «Антимедин» не выявлено статистически достоверных различий в его всасывании, достижении максимальных концентраций и удержании в крови.

| Параметр | t-критерий | p-уровень |
|--------------------------------------|------------|-----------|
| C _{max} | 0,95 | 0,371 |
| T _{max} | 1,82 | 0,111 |
| AUC _{0-t} | 1,97 | 0,090 |
| AUC _{0-∞} | 1,62 | 0,149 |
| T _{1/2} | 0,73 | 0,490 |
| C _{max} /AUC _{0-t} | -1,99 | 0,087 |
| MRT | -1,034 | 0,335 |

Рис. 5. Результаты парного сравнения фармакокинетических параметров препаратов атипамезола — «Антиседан» и «Антимедин».

Полученные результаты позволяют заключить, что «Антиседан» и «Антимедин» являются биоэквивалентными.

Список литературы

1. Карева Е.Н. методическое пособие «Молекулярная фармакология антиадренергических средств», 2003
2. Vaha-Vahe, A.T. (1990) The clinical effectiveness of atipamezole as a medetomidin antagonist in the dogs. J. vet. Pharmacol. Thezap 13, 198-205.
3. Clinical effects and pharmacokinetics of medetomidine and its enantiomers in dogs. J. vet Pharmacol. Thezap. 23, 15-20, 2000

Тел: 84953776995, 84953776985

Л.Н. СЕМЕНКОВА, Г.М. СОБОЛЕВА,
И.В. ДУДИЧ, Ю.И. ОСТРОУМОВ

*Открытое акционерное общество
«Институт инженерной иммунологии», Любучаны*

А.Ю. ОСТРОУМОВА

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования*

*«Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»*

МОДЕЛИРОВАНИЕ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ КОЖИ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК МЫШИНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ NIH3T3: ПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ БУТИЛГИДРОКСИТОЛУОЛА И ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА

Оксидативный стресс и образование свободных радикалов является основным механизмом радиационных поражений кожи. В настоящей работе воздействие индуктора образования свободных радикалов ААПХ на культуру эмбриональных мышечных фибробластов NIH3T3 моделировало повреждения кожи, возникающие под действием ионизирующей радиации. Показана антиоксидантная активность БГТ и ДГК в этих условиях. Данная работа является частью комплексного исследования по разработке комбинированного препарата для профилактики и лечения радиационных поражений кожи.

Ключевые слова: радиация, оксидативный стресс, фибробласты, антиоксиданты, бутилгидрокситолуол, дигидрокверцетин.

L.N. SEMENKOVA, G.M. SOBOLEVA,
I.V. DUDICH, , YU.I. OSTROUMOV

*Open Joint-Stock Company "Institute
of immunological engineering", Lyubuchany*

A.YU. OSTROUMOVA

*Federal State Budgetary Educational Institution
of Higher Professional Education «Moscow state Academy
of Veterinary Medicine and Biotechnology by K.I.Skryabin»*

NIH3T3 MOUSE FIBROBLASTS AS A MODEL FOR STUDYING RADIATION-INDUCED SKIN LESIONS: PROTECTIVE EFFECT OF BUTYL HYDROXYTOLUENE AND DIHYDROQUERCETIN

Oxidative stress and free radical generation is a general mechanism of radiation-induced skin lesions. In this article free radical generation by AAPH in embryonic mouse fibroblast NIH3T3 cell culture was a model of radiation-induced skin lesion. Antioxidative activity of butyl hydroxytoluene and dihydroquercetin under these conditions is demonstrated. This work is a part of complex study upon the development of a combined preparation for prophylaxis and therapy of radiation-induced skin lesions.

Key words: radiation, oxidative stress, fibroblasts, antioxidants, butyl hydroxytoluene, dihydroquercetin.

1. Введение

Развитие ядерной энергетики, широкое применение радиационного облучения в медицинской практике и угроза ядерного терроризма объясняют первостепенную важность разработки эффективных средств для профилактики и лечения заболеваний,

вызванных ионизирующей радиацией. Радиационные поражения проявляются чаще всего как многокомпонентный полиорганный симптомокомплекс лучевой болезни, затрагивающий в первую очередь малодифференцированные, быстро пролиферирующие клетки (кожи и слизистых оболочек, эн-

дотелия сосудов, костного мозга, стволовые клетки разной локализации и т.д.). Радиационные поражения кожи, развивающиеся в большинстве случаев облучения, значительно утяжеляют протекание иных, внекожных, повреждений, что ведет к повышению общей летальности [1].

Основным патогенетическим механизмом развития радиационных поражений является избыточное образование свободных радикалов в облученном организме [2]. Поэтому многие радиопротекторы — препараты, тормозящие развитие вызванного облучением оксидативного стресса и стимулирующие регенерацию наиболее чувствительных к радиации быстро пролиферирующих органов и тканей, — являются антиоксидантами по своей химической структуре и функциям.

Для преодоления оксидативного стресса используются, во-первых, стимуляторы эндогенной антиоксидантной системы (цитокины и факторы роста, стволовые клетки и т.д.), во-вторых, экзогенные антиоксиданты. К экзогенным антиоксидантам относятся вещества различной химической природы: тиолы и амины, радиопротекторы растительного происхождения генистеин, кверцетин и его производное дигидрокверцетин/таксифолин (ДГК), ресвератрол, куркумин, кофеин, теofilлин, теобромин и т.д., витамины А, С, Е, β-каротин, фолиевая кислота и их синтетические аналоги (например, бутилгидрокситолуол (БГТ) — синтетический функциональный аналог витамина Е), антиоксидантные ферменты и им подобные вещества (супероксиддисмутаза, каталаза, металлотионеин, соли меди и цинка и т.д.) [2].

Эффективность антиоксидантов изучается как в экспериментах *in vivo* на интактных животных, так и в экспериментах *in vitro* с использованием мышинных клеточных культур [3-6]. Фибробласты являются наиболее распространенными клеточными элементами, присутствующими во всех тканях, и поэтому в данной работе культура эмбриональных мышинных фибробластов N1H3T3 используется нами в качестве объекта исследования. Радиационное воздействие *in vitro* моделируется либо непосредственным облучением клеток в культуре, либо внесением в культуральную среду реагентов, вызывающих оксидативный стресс. К таким реагентам, в частности, относятся перекись водорода, бактериальный липополисахарид, 2,2'-азобис(2-амидинопорпан) дигидрохлорид (ААПХ) и т.д. [7,8]. В настоящей работе нами был использован индуктор образо-

вания свободных радикалов ААПХ с целью воспроизведения оксидативного стресса в культуре эмбриональных мышинных фибробластов N1H3T3 и протестирована антиоксидантная активность БГТ и ДГК.

2. Материалы и методы

Материалы. 6-карбоксы-2', 7'-дихлорфлуоресцеин диацетат (ДХФ-ДА), 2,2'- ААПХ и реактивы для клеточных культур были получены из Sigma-Aldrich Inc. (США). Антиоксиданты ДГК (ЗАО «Аметис», Россия) и БГТ (Стерлитамакский химический комбинат, Россия) были получены установленным порядком.

Клеточные культуры. Культура эмбриональных мышинных фибробластов N1H3T3, полученная из American Type Culture Collection, культивировалась в среде ДМЕМ с добавлением 2 мМ L-глутамин, 10% эмбриональной сыворотки теленка (ЭСТ), при 37°C и 5% CO₂. Клетки пересевались 1 раз в неделю в соотношении 1:3, для пересева использовался раствор трипсин-версена (Панэко, Россия).

Определение жизнеспособности клеток. Цитотоксические эффекты и жизнеспособность клеток определялись методом измерения метаболической активности клеток с помощью стандартного набора CellTiter 96® AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, США) согласно протоколу производителя.

Определение продукции свободных радикалов. Оценку внутриклеточной продукции свободных радикалов проводили с использованием метода, основанного на анализе флуоресценции дихлорфлуоресцеина (ДХФ), образующегося из нефлуоресцирующего ДХФ-ДА под действием свободных радикалов, как описано в [9].

3. Результаты

В предварительных исследованиях цитотоксичности БГТ, ДГК и ААПХ нами было установлено, что БГТ в дозах 0,2 — 2000 мкМ, ДГК в дозах 1 — 100 мкМ и ААПХ в дозах 100 — 1000 мкМ не приводят к существенному снижению жизнеспособности клеток N1H3T3 (данные не показаны). Для последующих экспериментов была выбрана концентрация ААПХ 500 мкМ.

Для определения протективной роли БГТ и ДГК клетки N1H3T3 метились флуоресцентной меткой ДХФ-ДА в концентрации 15 мкМ, затем инкубировались в присутствии различных концентраций БГТ за 30 мин до внесения ААПХ, после чего измерялась интенсивность флуоресценции. В предварительных экспе-

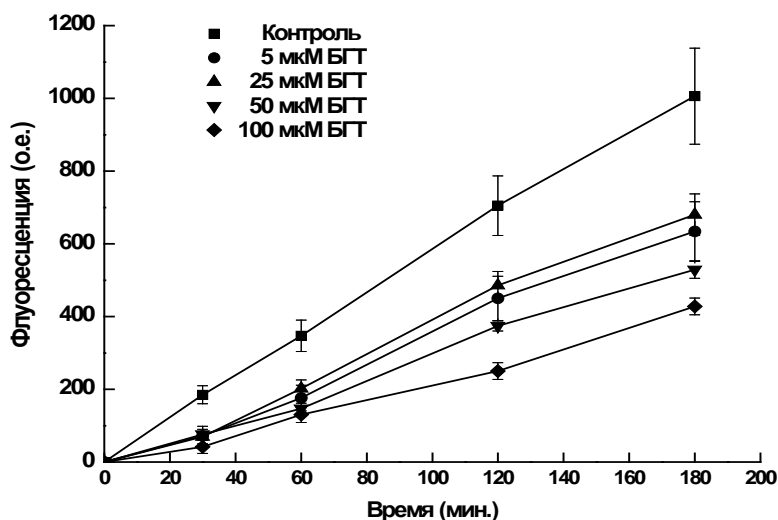


Рис.1. Интенсивности флуоресценции ДХФ-ДА в присутствии различных концентраций БГТ в зависимости от времени инкубации. По оси Y — флуоресценция в относительных единицах.

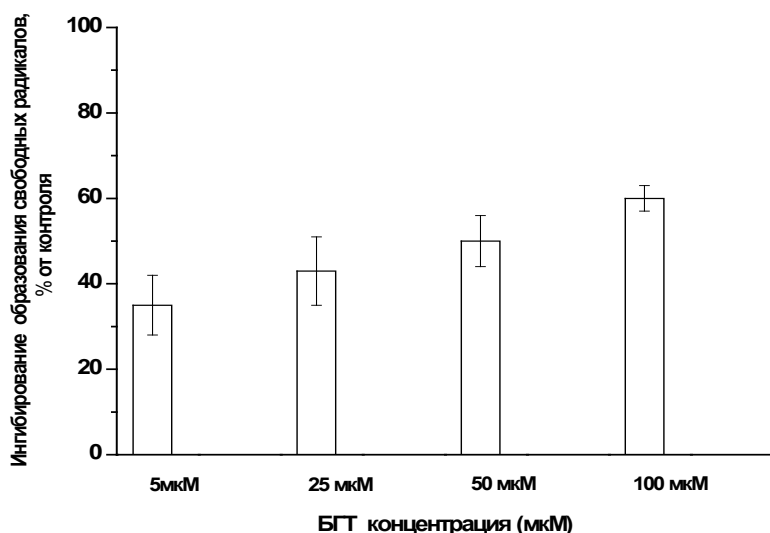


Рис.2. Результаты определения протективного действия различных концентраций БГТ на культуру клеток NIH3T3 в присутствии ААФХ.

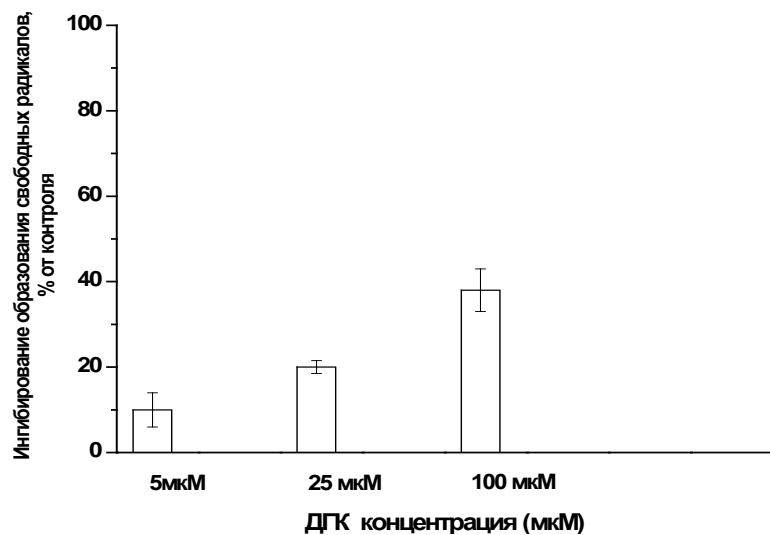


Рис.3. Результаты определения протективного действия различных концентраций ДГК на культуру клеток NIH3T3 в присутствии ААФХ.

риментах по подбору оптимального времени инкубации БГТ и ДГК с клетками (Рис.1) было показано, что через 180 мин наблюдается достоверная разница между контрольными и экспериментальными образцами, без угасания флуоресцентной метки. В дальнейших экспериментах БГТ и ДГК инкубировались с клетками в течение 180 мин.

Данные 3-х независимых экспериментов по определению протективного действия БГТ на культуру ННЗТЗ в присутствии ААПХ представлены на рис.2. Флуоресценция контрольного образца принималась за 100%. За степень ингибирования образования свободных радикалов принималась разница между флуоресценцией контрольного и экспериментальных образцов, которая выражалась в процентах от флуоресценции контрольного образца. Как видно на рис.2, БГТ подавляет индуцированную ААПХ продукцию свободных радикалов клетками ННЗТЗ, причем этот эффект носит дозозависимый характер: от 35% при 5 мкМ БГТ до 60% при 100 мкМ БГТ.

Аналогично, для определения эффективности ДГК клетки метились ДХФ-ДА, инкубировались в присутствии различных концентраций ДГК за 30 мин до внесения ААПХ, после чего измерялась интенсивность флуоресценции. Результаты 3-х независимых экспериментов представлены на рис.3.

Как видно на рис.3, ДГК так же подавляет образование свободных радикалов в культуре ННЗТЗ, причем этот эффект так же носит дозозависимый характер: от 10% при 5 мкМ ДГК до 40% при 100 мкМ ДГК.

В настоящей работе нами было показано, что в модели оксидативного стресса, вызванного воздействием ААПХ на клеточную линию ННЗТЗ, БГК и ДГК в концентрациях 5 — 100 мкМ обладают выраженным антиоксидантным эффектом. Данные результаты будут использованы на следующем этапе разработки комплексного препарата для профилактики и лечения радиационных поражений кожи — экспериментах с облучением лабораторных мышей.

Список литературы

1. Moriyasu S., Yamamoto K., Kureyama N., Okamura K., Ikeda T., Yamatodani A. Involvement of histamine released from mast cells in acute radiation dermatitis in mice. *J. Pharmacol. Sci* 2007; 104:187–190.
2. Joseph F. Weiss, Michael R. Landauer. History and development of radiation-protective agents. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2009; 85, 7; 539–573.
3. Kathleen C. Flanders, Catherine D. Sullivan, Makiko Fujii, Anastasia Sowers, Mario A. Anzano, Alidada Arabshahi, Christopher Major, Chuxia Deng, Angelo Russo, James B. Mitchell, and Anita B. Roberts. Mice Lacking Smad3 Are Protected Against Cutaneous Injury. *Am J Pathol.* 2002; 160: 1057–1068.
4. Kathleen C. Flanders, Christopher D. Major, Alidada Arabshahi, Ekinadese E. Aburime, Miya H. Okada, Makiko Fujii, Timothy D. Blalock, Gregory S. Schultz, Anastasia Sowers, Mario A. Anzano, James B. Mitchell, Angelo Russo, and Anita B. Roberts. Interference with Transforming Growth Factor- β /Smad3 Signaling Results in Accelerated Healing of Wounds in Previously Irradiated Skin. *Am J Pathol.* 2003; 163: 2247–2257.
5. Valerie Holler, Valerie Buard, Marie-Helene Gaugler, Olivier Guipaud, Cedric Baudelin, Amandine Sache, Maria del R Perez, Claire Squiban, Radia Tamarat, Fabien Milliat and Marc Benderitter. Pravastatin Limits Radiation-Induced Vascular Dysfunction in the Skin. *Journal of Investigative Dermatology* 2009; 129, 1280–1291.
6. Dent P, Yacoub A, Contessa J, Caron R, Amorino G, Valerie K, Hagan MP, Grant S, Schmidt-Ullrich R. Stress and radiation-induced activation of multiple intracellular signaling pathways. *Radiat Res.* 2003; 159:283-300.
7. Dooley, M.M., Sano, N., Kawashima, H., Nakamura, T., Effects of 2,2'-azobis 2-amidinopropane hydrochloride in vivo and protection by Vitamin E. *Free Radical Biology and Medicine* 1990; 9, 199–204.
8. Peyrat-Maillard M.N., Cuvelier M. E, Berset C. Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2003; 80, 1007-1012.
9. Wang H., Joseph J.A., Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader, *Free Radic Biol Med.* 1999; 27: 612-616.

*Контактная информация:
E-mail: promateam@mail.ru
Соболева Галина Михайловна*

