

ISSN 2541-8203

# ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

Научно-практический журнал

**№ 2 (3) · 2018**

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2018.2

# BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

*Scientific-Practical Journal of Theoretical and Experimental Studies in the Field  
of Veterinary Pharmacology and Toxicology*

## FOUNDER AND PUBLISHER

State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences

The journal is registered in the Federal Service for Supervision in the Sphere of Mass Communication, Communications and Protection of Cultural Heritage. Registration certificate of the PE № FS77-69340 dtd. April 6, 2017

Editorial opinion may not coincide with the authors' views. The authors of the materials are responsible for the credibility of facts. The manuscripts are not returned. For a full or partial citing, reprint, reproduction by any means the reference to the source is obligatory.

## EDITORIAL BOARD

### *Chief Editor*

**Shabunin Sergey Viktorovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Director of State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia

### *Deputy Chief Editor*

**Kotarev Vyacheslav Ivanovich** — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Deputy Director of State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia

**Pilshchikova Irina Nikolaevna** — Executive Secretary

## EDITORIAL COUNCIL

### *Chairman*

**Shakhov Aleksey Gavrilovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS, Principal Scientific Associate of State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia

### *Editorial board members*

**Alekhin Yuriy Nikolaevich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Deputy Director of State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia

**Aristov Aleksandr Vasilyevich** — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Dean of Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry Technologies, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Voronezh State Agricultural University named after Emperor Peter the Great», Russia

**Vostroilova Galina Anatolyevna** — Doctor of Biological Sciences, Head of Pharmacology Department of State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia

**Donnik Irina Mikhaylovna** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Rector of Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Urals State Agrarian University», Russia

**Dorozhkin Vasily Ivanovich** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Director of Federal State Budget Research Institution «All-Russian Research Institute for Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology», Russia

**Ermakova Tatyana Igorevna** — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Scientific Secretary of State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia

**Klimenko Aleksandr Ivanovich** — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the RAS, Rector of Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Don State Agrarian University», Russia

**Kochish Ivan Ivanovich** — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the RAS, Pro-rector for Academic Affairs of Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin», Russia

**Maykanov Balgabay Sadepovich** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Dean of Faculty of «Veterinary Medicine and Animal Husbandry Technology» of Kazakh Agrotechnical University named after S. Seifullin, the Republic of Kazakhstan

**Nezhdanov Anatoliy Grigoryevich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Leading Expert of State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia

**Stekolnikov Anatoliy Aleksandrovich** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Rector of Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine», Russia

**Chertov Evgeniy Dmitrievich** — Doctor of Engineering Sciences, Professor, Rector of Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Voronezh State University of Engineering Technologies», Russia

**Yatusevich Anton Ivanovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Rector of Educational Establishment «Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine», the Republic of Belarus

The journal is posted article by article in the scientific electronic library (called elibrary.ru) and registered in the scientific database of the Russian Scientific Citation Index (RSCI) under the agreement No. 75-01 / 2015K of January 19, 2015.

The address of the editorial office: 394040, Voronezh, Lomonosova 114b

Tel./fax +7 (473) 253-92-81

<http://www.nivipat.ru> E-mail: [vetfarm.journal@yandex.ru](mailto:vetfarm.journal@yandex.ru)

© All-Russian Veterinary Research Institute of  
Pathology, Pharmacology and Therapy of the  
Russian Academy of Agricultural Sciences, 2018

# ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Научно-практический журнал  
теоретических и экспериментальных  
исследований в области ветеринарной  
фармакологии и токсикологии*



Издаётся  
с июня 2017 года  
Периодичность  
выпуска —  
4 номера в год  
Свидетельство  
о регистрации  
ПИ № ФС 77-69340  
от 6 апреля 2017 г.

№ 2 (3) • 2018

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

### **Изучение экспрессии генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК микроорганизмов**

*Востроилова Г. А., Пасько Н. В., Ермакова Т. И., Королькова А. О., Масютин О. Н. . . . . . 6*

### **Архитектоника семенников самцов белых крыс при экспериментальной хронической интоксикации Т-2 токсином и ее фармакокоррекции аминоселетоном**

*Михайлов Е. В., Востроилова Г. А., Толкачев И. С., Шмарикова В. А. . . . . . 12*

### **Разработка и валидация спектрофотометрического метода количественного определения доксициклина гидрохлорида**

*Матушкина И. Н., Панина Т. А., Моргунова Е. А., Пономарева Е. И., Стаценко Е. И. . . . . . 19*

### **Параметры токсичности комплексного препарата триолакт в остром опыте**

*Востроилова Г. А., Корчагина А. А., Брюхова И. В., Григорьева Н. А., Канторович Ю. А. . . . . . 25*

## КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

### **Валидация метода определения стерильности противомаститного препарата диеномаст**

*Панина Т. А., Левченко В. В., Калугина А. Ю., Лободина Т. Е., Матушкина И. Н. . . . . . 30*

### **Изучение эффективности аминоселетона при технологическом стрессе на свиноводческих комплексах**

*Востроилова Г. А., Хохлова Н. А., Паршин П. А., Ческидова Л. В., Брюхова И. В., Сашина Л. Ю.,  
Канторович Ю. А., Карташов С. С. . . . . . 37*

### **Структурная организация паренхиматозных органов и экспрессия цитохромов р450 у крыс при применении колистина**

*Михайлов Е. В., Фоменко О. Ю., Востроилова Г. А., Паршин П. А., Толкачев И. С., Шмарикова В. А. . . . . . 42*

### **Эффективность иммунизации в сочетании с антимикробными препаратами и химиопрофилактики респираторных болезней свиней**

*Шахов А. Г., Сашина Л. Ю., Тараканова К. В., Карманова Н. В., Владимирова Ю. Ю. . . . . . 49*

### **Разработка оптимальной схемы применения интерферона-тау для профилактики эмбриональных потерь у высокопродуктивных молочных коров**

*Нежданов А. Г., Михалев В. И., Пасько Н. В. . . . . . 54*

<b>Влияние лекарственных препаратов на структуру ткани молочной железы у коров</b>	
<i>Павленко О. Б., Сулейманов С. М., Миронова Л. П. . . . . .</i>	58
<b>СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ</b>	
<b>Контаминация кормов хозяйств Воронежской области тяжелыми металлами, нитрат- и нитрит-ионами</b>	
<i>Папин Н. Е., Шапошников И. Т., Коцарев В. Н., Бригадиров Ю. Н. . . . . .</i>	65
<b>Токсикологическая оценка содержания нитратов и нитритов в кормах для сельскохозяйственных животных и их биотестирование</b>	
<i>Денисенко Л. И., Трофимова Г. И., Шипилов В. В., Иванова Н. Н. . . . . .</i>	71
<b>ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ</b>	
<b>Влияние некоторых показателей антиоксидантного статуса супоросных свиноматок на структурную организацию тимуса поросят</b>	
<i>Михайлов Е. В., Бригадиров Ю. Н., Коцарев В. Н., Толкачев И. С., Пасько Н. В. . . . . .</i>	75
<b>Влияние бычьих рекомбинантных альфа- и гамма-интерферонов на иммунологические показатели и микробную контаминацию молока клинически здоровых коров</b>	
<i>Климов Н. Т., Зимников В. И., Ерин Д. А., Пашенцев А. В., Манжурина О. А., Пархоменко Ю. С., Каширина Л. Н., Клементьева И. Ф., Тюрина Е. В. . . . . .</i>	81
<b>Наиболее распространенные нарушения обмена веществ у хряков-производителей</b>	
<i>Чусова Г. Г., Моргунова В. И. . . . . .</i>	87
<b>Влияние унитиола на состояние мукоцилиарной системы телят в период реконвалесценции респираторных болезней</b>	
<i>Жуков М. С., Алехин Ю. Н. . . . . .</i>	93
<b>Эмбриональная смертность у молочных коров и методы ее профилактики</b>	
<i>Нежданов А. Г., Михалев В. И., Скориков В. Н., Лозовая Е. Г. . . . . .</i>	98
<b>Гемоморфологический и биохимический профиль беременных коров с риском развития послеродового эндометрита</b>	
<i>Скориков В. Н., Михалев В. И., Моргунова В. И., Клементьева И. Ф. . . . . .</i>	102
<b>Концентрация некоторых провоспалительных цитокинов и половых стероидов в крови у оплодотворенных и бесплодных коров</b>	
<i>Скориков В. Н., Михалев В. И., Волкова И. В., Копытина К. О. . . . . .</i>	107
<b>Активированная хемилюминесценция как метод оценки биологического возраста птицы</b>	
<i>Лободина Т. Е., Пасько Н. В., Ермакова Т. И., Левченко В. В., Федорова Н. М. . . . . .</i>	111
<b>Цито-гистологические особенности хронического эндометрита у свиноматок</b>	
<i>Михайлов Е. В., Толкачев И. С., Бригадиров Ю. Н., Коцарев В. Н., Борисенко Н. А. . . . . .</i>	116
<b>Условия публикации и правила оформления статей</b>	121

# BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

*Scientific-Practical Journal of Theoretical  
and Experimental Studies in the Field  
of Veterinary Pharmacology and Toxicology*



Established  
in June, 2017

Published  
4 times a year

Registration  
certificate of the  
PE № FS77-69340  
dtd. April 6, 2017

№ 2 (3) • 2018

## EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

### **Study of expression of enzyme and protein genes involved in DNA synthesis of the microorganisms**

*Vostorilova G. A., Pasko N. V., Ermakova T. I., Korolkova A. O., Masyutina O. N. . . . . 6*

### **The architectonics of testes in males of white rats in experimental chronic intoxication by T-2 toxin and its pharmacocorrection by aminoseletones**

*Mikhailov E. V., Vostroilova G. A., Tolkachev I. S., Sharikova V. A. . . . . 12*

### **Development and validation of spectrophotometric method for the quantitative determination of doxycycline hydrochloride**

*Matushkina I. N., Panina T. A., Morgunova E. A., Ponomareva E. I., Statsenko E. I. . . . . 19*

### **The toxicity of the complex preparation of triolact in the acute experiment**

*Vostroilova G. A., Korchagina A. A., Bryukhova I. V., Grigorieva N. A., Kantorovich Yu. A. . . . . 25*

## CLINICAL PHARMACOLOGY

### **Validation of the method for determining the sterility of anti-mastitis drug dienomast**

*Panina T. A., Levchenko V. V., Kalugina A. Y., Lobodina T. E., Matushkina I. N. . . . . 30*

### **The study of the effectiveness of aminoseletonone at technological stress in pig farms**

*Vostroilova G. A., Khohlova N. A., Parshin P. A., Cheskidova L. V., Bryukhova I. V., Sashnina L. Yu., Kantorovich Yu. A., Kartashov S. S. . . . . 37*

### **Structural organization of the parenchymatous organs and expression of cytochromes p450 in rats with the use of colistin**

*Mikhailov E. V., Fomenko O. Yu., Vostroilova G. A., Parshin P. A., Tolkachev I. S., Shmarikova V. A. . . . . 42*

### **The efficiency of immunization in combination with antimicrobial agents and chemoprophylaxis of pigs respiratory diseases**

*Shakhov A. G., Sosnina L. Yu., Tarakanova K. V., Karmanova N. V., Vladimirova Y. Yu. . . . . 49*

### **Development of optimal schemes of application of interferon-tau for the prevention of embryonic loss in high-yielding dairy cows**

*Nezhdanov A. G., Mikhalev V. I., Pasko N. V. . . . . 54*

<b>Influence of medicines on structure of tissue of the mammary gland at cows</b>	
<i>Pavlenko O. B., Suleymanov S. M., Mironova L. P.</i> .....	58
=====	
<b>AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION</b>	
=====	
<b>Contamination of the feed on the farms with heavy metals, nitrate- and nitrite-ions in the Voronezh region</b>	
<i>Papin H. E., Shaposhnikov I. T., Kotsarev V. N., Brigadirov Yu. N.</i> .....	65
<b>Toxicological evaluation of nitrates and nitrites in feed for farm animals and their biological testing</b>	
<i>Denisenko L. I., Trofimova G. I., Shipilov V. V., Ivanova N. N.</i> .....	71
=====	
<b>PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY AND EXPERIMENTAL THERAPY</b>	
=====	
<b>The influence of some indices of the antioxidant status of sows on the structural organization of the thymus of piglets</b>	
<i>Mikhailov E. V., Brigadirov Y. N., Kotsarev V. N., Tolkachev I. S., Pasko N. V.</i> .....	75
<b>The effect of bovine recombinant of alpha- and gamma-interferons on immunological parameters and microbial contamination of milk of clinically healthy cows</b>	
<i>Klimov N. T., Zimnikov V. I., Erin D. A., Pashentsev V. A., Manshurina O. A., Parkhomenko Y. S., Kashirina L. N., Klementyeva I. F., Tyurina E. V.</i> .....	81
<b>The most common disorders of the metabolism of the breeding boars</b>	
<i>Chusova G. G., Morgunova V. I.</i> .....	87
<b>The effect of unithiol on the state of the mucociliary system of calves in the period of reconvalescence of respiratory diseases</b>	
<i>Zhukov M. S., Alekhin Yu. N.</i> .....	93
<b>Embryonic mortality in dairy cows and methods of its prevention</b>	
<i>Nezhdanov A. G., Mikhalev V. I., Skorikov V. N., Lozovaya E. G.</i> .....	98
<b>Geomorphologically and biochemical profile of pregnant cows with risk of development of postpartum endometritis</b>	
<i>Skorikov V. N., Mikhalev V. I., Morgunova V. I., Klimentyeva I. F.</i> .....	102
<b>The concentration of some proinflammatory cytokines and sex steroids in the blood fruitfully inseminated and barren cows</b>	
<i>Skorikov V. N., Mikhalev V. I., Volkova I. V., Kopytina K. O.</i> .....	107
<b>Activated chemiluminescence as a method of assessing the biological age of the birds</b>	
<i>Lobodina T. E., Pasko N. V., Ermakova T. I., Levchenko V. V., Fedorova N. M.</i> .....	111
<b>Cyto-histologic features of chronic endometritis sows</b>	
<i>Mikhailov E. V., Tolkachev I. S., Brigadirov Yu. N., Kotsarev V. N., Borisenko N. A.</i> .....	116
<b>Publishing terms and article formatting requirements.</b>	121

**ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ  
ФЕРМЕНТОВ И БЕЛКОВ, УЧАСТВУЮЩИХ  
В СИНТЕЗЕ ДНК МИКРООРГАНИЗМОВ**

© 2018 Г. А. Востроилова, Н. В. Пасько, Т. И. Ермакова,  
А. О. Королькова, О. Н. Масютина

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, г. Воронеж, ул. Ломоносова 114 б, 394087  
e-mail: vnivipat@mail.ru*

**Материал поступил в редакцию 20.04.2018 г.**

**Аннотация.** Многолетние наблюдения наглядно демонстрируют, что устойчивость микроорганизмов к антимикробным средствам становится все более актуальной и серьезной проблемой ветеринарии, препятствующей эффективному лечению больных животных с инфекциями бактериальной этиологии. Резистентность к антимикробным препаратам представляет собой естественную биологическую реакцию, которая возникает как результат естественного отбора для сохранения жизнеспособности микробной популяции. Важную роль в устойчивости бактерий к антимикробным веществам играют ферменты и белки, обеспечивающие высокую выживаемость при воздействии антибактериальных средств. Объектами для исследований служили различные клоны штамма *E. coli 866*, устойчивые к разработанным ранее комплексным антимикробным препаратам и составляющим их активноразрушающим веществам. Исследовались исходная культура, а также культуры после 40 и 60 пассажей в мясопептонном бульоне (МПБ), содержащем возрастающие суббактериостатические концентрации апрамицина, цефотаксима и комплексного на их основе препарата К-2. В результате изучения паттернов экспрессии генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, было установлено, что в процессе формирования резистентности путем культивирования бактерий в мясопептонном бульоне, содержащем возрастающие суббактериостатические концентрации препаратов в течение 60 пассажей, происходит изменение представленности транскриптов генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК.

**Ключевые слова:** антибиотикорезистентность, полимераза, хеликаза, экспрессия, гены, цефотаксим, апрамицин.

В настоящее время проблема антибиотикорезистентности микроорганизмов чрезвычайно актуальна во всем мире. В последние годы убедительно показано, что бактерицидные антимикробные вещества, помимо воздействия на свои первичные мишени, оказывают широкий спектр вторичных эффектов, таких как перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков и повреждение молекул ДНК [1, 4, 6]. Устойчивость к антимикробным препаратам представляет собой естественную биологическую реакцию, которая возникает как результат естественного отбора для сохранения жизнеспособности микробной популяции. Проблема возникновения и распространения антибиотикорезистентных штаммов условно-патогенных микроорганизмов в настоящее время приобретает глобальный характер [7, 11, 12].

Важную роль в устойчивости бактерий к антимикробным веществам играют и системы синтеза молекул ДНК [2, 3, 15, 16]. Изменения генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, обуславливаются тем, что данные ферменты обеспечивают высокую выживаемость при воздействии антибактериальных средств [9, 10]. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы — ключевые ферменты репликативного процесса, использующие принцип комплементарности для наращивания полинуклеотидных цепей [5, 8, 13]. Основным ферментом, катализирующим биосинтез новообразованной ДНК у прокариот, является ДНК-полимераза III (Pol III). Хеликазы используют химическую энергию нуклеотидтрифосфатов, чаще всего АТФ, для разрыва водородных связей между основаниями, раскручивая двойную спираль на отдельные цепочки [14].

Эти ферменты важны для большинства процессов, где белкам необходим доступ к основаниям ДНК.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на базе отдела фармакологии и лаборатории молекулярно-генетического анализа научного исследовательского центра по оценке качества и безопасности сырья, продукции и материалов ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии. Объектами для исследований служили различные клоны штамма *E. coli 866*, устойчивые к разработанным ранее комплексным антимикробным препаратам и составляющим их активнордействующим веществам. Исследовались исходная культура, а также культуры после 40 и 60 пассажей в мясопептонном бульоне (МПБ), содержащем возрастающие суббактериостатические концентрации апрамицина, цефотаксима и комплексного на их основе препарата К-2.

Изучение формирования резистентности у *E. coli 866* к препаратам производилось в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ». Выделение плазмидной ДНК из бактериальных клеток производилось методом щелочного лизиса и последующим связыванием на селективных мембранах микроспиновых колонок с использованием набора для выделения плазмидной ДНК «GeneJET Plasmid Miniprep Kit» («Thermo Scientific», Литва) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Амплификация фрагментов изучаемых генов осуществлялась по схеме трехшаговой полимеразной цепной реакции. Число циклов амплификации — 55. Значения пороговых циклов определялись при помощи программного обеспечения Rotor-Gene 6000 (Австралия), определение относительного уровня экспрессии исследуемых генов осуществляли с применением  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -метода. Нормализация данных проводилась относительно контрольной группы, в качестве которой использовалась исходная (чувствительная) культура.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате изучения паттернов экспрессии генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, было установлено (рис. 1), что при применении цефотаксима после 40-го пассажа наблюдалось снижение транскриптов хеликазы IV (*hel4*) (0,094 раза) и хеликазы II (*hel2*). При этом отмечалось также снижение представленности поли-

меразы I (*pol1*) (0,123 раза). Отмечалось повышение уровня полимеразы III субъединицы epsilon (*pol3E*) (7,67 раз). После 60-го пассажа происходило изменение представленности соответствующих транскриптов. В этот период отмечалось значительное снижение транскриптов хеликазы IV (*hel4*) (0,000 23 раза) и хеликазы II (*hel2*) (0,000 076 раза). При этом устанавливалась динамика повышения уровня полимеразы I (*pol1*) (0,215 раз) к уровню после 40 пассажа и полимеразы III субъединицы epsilon (*pol3E*) (16,68 раз).

В результате изучения паттернов экспрессии генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, было установлено (рис. 2), что при применении апрамицина после 40-го пассажа наблюдалось снижение уровня всех ферментов: хеликазы IV (*hel4*) (0,087 раза) и хеликазы II (*hel2*) (0,006 6 раз), полимеразы I (*pol1*) (0,0069 раз) и полимеразы III субъединицы epsilon (*pol3E*) (0,02 раз). После 60-го пассажа происходило изменение представленности соответствующих транскриптов. В этот период отмечалось повышение уровня хеликазы IV (*hel4*) (85,036 раз) и хеликазы II (*hel2*) (13,45 раз). При этом устанавливалась динамика повышения уровня полимеразы I (*pol1*) (0,403 раз) к уровню после 40-го пассажа и полимеразы III субъединицы epsilon (*pol3E*) (2,68 раз).

В результате изучения паттернов экспрессии генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, было установлено (рис. 3), что при применении комплексного препарата на основе цефотаксима и апрамицина К-2 после 40-го пассажа наблюдалось повышение уровня полимеразы III субъединицы epsilon (*pol3E*) (170,07 раз).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при изучении паттернов экспрессии генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, *E. coli 866* установлено, что в процессе формирования резистентности путем культивирования бактерий в МПБ, содержащем возрастающие суббактериостатические концентрации препаратов в течение 60 пассажей, происходит изменение представленности транскриптов генов ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК. В большей степени при применении цефотаксима изменения отмечены у полимераз (*pol*). Относительный уровень экспрессии полимеразы III субъединицы epsilon (*pol3E*) при применении цефотаксима после 40-го пассажа составлял 7,67 раз, а после 60-го пассажа — 16,68 раз. При использовании апрамицина изменения в большей степени отмеча-

лись в отношении хеликазы IV (hel4), ее представленность после 60-го пассажа составляла 85,036 раза. Такое увеличение представленности транскриптов данного гена можно считать компенсаторной реакцией на развитие окислительного стресса в условиях эксперимента *in vitro*.

При культивировании *E. coli* 866 в МПБ, содержащем возрастающие суббактериостатические концентрации комплексного препарата на основе

цефотаксима и апрамицина, относительный уровень экспрессии полимеразы III субъединицы epsilon (pol3E) после 40-го пассажа составил 170,07 раза. Данные результаты могут объясняться тем, что ДНК-полимераза III обладает 3'→5'-экзонуклеазной активностью, позволяющей исправлять ошибки репликации ДНК, что гипотетически может играть важную роль в преодолении последствий окислительного стресса.

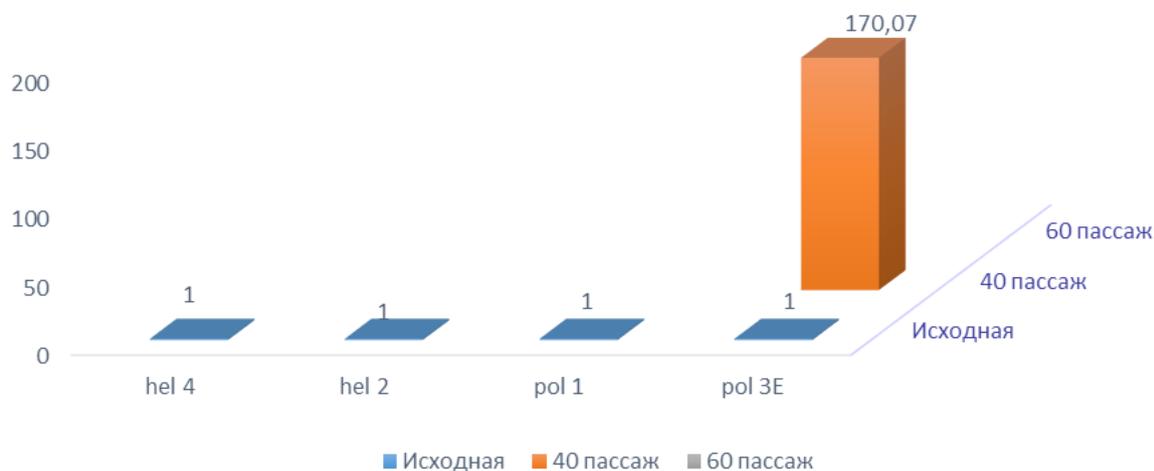


**Рис. 1.** Относительный уровень экспрессии генов DNA helicase IV (hel4), helicase II (hel2), polymerase I (pol1), polymerase III subunit epsilon (pol3E) у *E. coli* 866 в процессе формирования резистентности к цефотаксиму



**Рис. 2.** Относительный уровень экспрессии генов DNA helicase IV (hel4), helicase II (hel2), polymerase I (pol1), polymerase III subunit epsilon (pol3E) у *E. coli* 866 в процессе формирования резистентности к апрамицину

### Комплексный (К-2)



**Рис. 3.** Относительный уровень экспрессии генов DNA helicase IV (hel4), helicase II (hel2), polymerase I (pol1), polymerase III subunit epsilon (pol3E) у *E. coli* 866 в процессе формирования резистентности к комплексному препарату на основе цефотаксима и апрамицина (К-2)

Различия изменений при использовании монопрепаратов (цефотаксима и апрамицина) можно объяснить особенностями механизма антибактериального действия препаратов разных классов. Характерные изменения ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, отмеченные при использовании комплексного препарата на основе цефотаксима и апрамицина, объясняются потенцированием действия компонентов комбинации и снижением процессов формирования антибактериорезистентности у изучаемого штамма *E. coli* 866.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фисенко В. П. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В. П. Фисенко, Е. В. Арзамасцев, Э. Л. Бабаян и др. // Москва: ЗАО «ИИА «Ремедиум». — 2000. — 397 с.
2. Виноградова К. А. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистома, ее объем, разнообразие и развитие / Виноградова К. А., Булгакова В. Г., Полин А. Н., Кожевин П. А. // Антибиотики и химиотерапия. 2013. Т. 58. № 5—6. С. 38—48.
3. Высоцкий В. В. Поли (гетероморфные) формы бактерий в инфекционной патологии / В. В. Высоцкий, Г. А. Котлярова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1999. — № 2. — С. 100—104.

4. Ефименко Т. А. Изыскание антибиотиков, эффективных в отношении бактерий с лекарственной устойчивостью на примере *Bacillus pumilus* -производителя антибиотика амикумацина А / Ефименко Т. А., Маланичева И. А., Зенкова В. А., Королев А. М., Остерман И. А., Сергеев П. В., Ефременкова О. В. // Вестник ОГУ. № 13(174). 2014. С. 27—31, 150—151.

5. Мартынова Е. А., Иванченко О. Б. // Микотоксин фумонизин В1 и регуляция микробиоценоза. Монография. — М.: Изд-во МЧС РФ, 2006. — 350 с.

6. Ильинский Е. В. Острые расстройства пищеварения у новорожденных телят / Ильинский Е. В., Габриелян К. Г. // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2006. № 1. С. 6768.

7. Андреева А. В. Иммунобиологические изменения в организме телят под влиянием композиций фитопребиотиков и полисолой микроэлементов / А. В. Андреева, О. Н. Николаева // Достижения науки и техники АПК. 2008. № 4. С. 36—39.

8. Lebars I., Hasson C., Yoshizawa S. et al. Recognition elements in rRNA for the tylosin resistance methyltransferase RimA (II). *J Mol Biol* 2007; 372:2:525—534

9. Thiara A. S., Cundliffe E. Interplay of novobiocin-resistant and -sensitive DNA gyrase activities in self-protection of the novobiocin producer, *Streptomyces sphaeroides*. *Gene* 1989; 81:1:65—72.

10. Nguyen L. Foundations of antibiotic resistance in bacterial physiology: the mycobacterial paradigm / Nguyen L., Thompson C. J. // Trends Microbiol. 2006. V. 14. № 7. P. 304—312. doi 10.1016/j.tim.2006.05.005

## STUDY OF EXPRESSION OF ENZYME AND PROTEIN GENES INVOLVED IN DNA SYNTHESIS OF THE MICROORGANISMS

© 2018 G. A. Vostorilova, N. V. Pasko, T. I. Ermakova, A. O. Korolkova, O. N. Masyutina

All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Voronezh, Lomonosov st., 114 b, 394087  
e-mail: vnivipat@mail.ru

Received 20.04.2018

**Abstract.** Long-term observations clearly demonstrate that the resistance of microorganisms to antimicrobial agents is becoming more and more urgent and a serious veterinary problem that prevents the effective treatment of sick animals with infections of bacterial etiology. Resistance to antimicrobials is a natural biological response that arises as a result of natural selection to maintain the viability of the microbial population. An important role in the resistance of bacteria to antimicrobial substances is played by enzymes and proteins, which ensure a high survival rate when exposed to antibacterial agents. The subjects for the study were various clones of the *E. coli* strain 866, resistant to previously developed complex antimicrobial preparations and the active substances that make up them. The original culture was studied, as well as cultures after 40 and 60 passages in meat-peptone broth (MBP) containing increasing sub-bacteriostatic concentrations of apramycin, cefotaxime and complex K-2 preparation on their basis. As a result of studying the patterns of expression of the enzyme and protein genes involved in DNA synthesis, it was found that during the formation of resistance by cultivation of bacteria in meat-peptone broth containing increasing sub-bacteriostatic concentrations of preparations during 60 passages, the transcript of the genes of enzymes and proteins participating in the synthesis of DNA.

**Keywords:** antibiotic resistance, polymerase, helicase, expression, genes, cefotaxime, apramycin.

### REFERENCES

1. *Fisenko V. P.* Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances/ V. P. Fisenko, E. V. Arzamastsev, E. L. Babayan et al. // Moscow: ZAO «ИА» Remedium», 2000. — 397 p.
2. *Vinogradova K. A.* Resistance of microorganisms to antibiotics: the resistor, its volume, diversity and development/Vinogradova K.A., *Bulgakova V.G., Polin A.N., Kozhevina P. A.* //Antibiotics and chemotherapy. 2013. Vol. 58. № 5—6. Pp. 38—48.
3. *Vysotsky V. V.* Poly (heteromorphic) forms of bacteria in infectious pathology/ B. V. Vysotsky, G. A. Kotlyarova // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology. —1999. — № 2. — С. 100—104.
4. *Efimenko T. A.* Investigation of antibiotics effective against bacteria with drug resistance by the example of *Bacillus pumilus*-a producer of antibiotic amikumacin A / *Efimenko T. A., Malanicheva I.A., Zenkova V. A., Korolev A.M., Osterman I.A., Sergiev P.V., Efremenkova O. V.*
5. *Martynova E. A., Ivanchenko O. B.* Mycotoxin fumonisin B1 and regulation of microbiocenosis. Monograph. — M.: Publishing house of the Ministry of Emergency Measures of the Russian Federation, 2006. —350 p.
6. *Ilyinsky E. V.* Acute digestive disorders in newborn calves / *Ilinsky E.V., Gabrielyan K. G.* // Veterinary of agricultural animals. 2006. No. 1. P. 6768.
7. *Andreeva A. V.* Immunobiological changes in the calves' organism under the influence of compositions of phytoprobiotics and microsilica polysaccharides/ A. V. Andreeva, O. N. Mykolaiv//Achievements of science and technology of agroindustrial complex. 2008. № 4. P. 36—39.
8. *Lebars I., Hasson C., Yoshizawa S.* et al. Recognition elements in rRNA for the tylosin resistance methyltransferase RimA (II). *J Mol Biol* 2007; 372:2:525—534
9. *Thiara A. S., Cundliffe E.* Interplay of novobiocin-resistant and -sensitive DNA gyrase activities in self-protection of the novobiocin producer, *Streptomyces sphaeroides*. *Gene* 1989; 81:1:65—72.
10. *Nguyen L.* Foundations of antibiotic resistance in bacterial physiology: the mycobacterial paradigm/ *Nguyen L., Thompson C. J.* //Trends Microbiol. 2006. V. 14. № 7. P. 304—312. doi 10.1016/j.tim.2006.05.005

Востроилова Галина Анатольевна — доктор биологических наук, зав. лабораторией экспериментальной фармакологии

Пасько Надежда Валерьевна — кандидат биологических наук, зав. лабораторией молекулярно-генетического анализа

Vostorilova Galina Anatolevna — doctor of biological sciences, head. laboratory of experimental pharmacology

Pasko Nadezhda Valerevna — candidate of biological sciences, head. laboratory of molecular genetic analysis

**Ермакова Татьяна Игоревна** — кандидат биологических наук, ведущий сотрудник лаборатории молекулярно-генетического анализа

**Королькова Анастасия Олеговна** — младший научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных и инвазионных болезней

**Масюткина Ольга Николаевна** — старший лаборант лаборатории молекулярно-генетического анализа

**Ermakova Tatyana Igorevna** — candidate of biological sciences, leading officer of the laboratory of molecular genetic analysis

**Korolkova Anastasiya Olegovna** — junior researcher at the laboratory of diagnostics of infectious and invasive diseases

**Masyutina Olga Nikolaevna** — senior laboratory assistant of the laboratory of molecular genetic analysis

## АРХИТЕКТОНИКА СЕМЕННИКОВ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ Т-2 ТОКСИНОМ И ЕЕ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ АМИНОСЕЛЕТОНОМ

© 2018 Е. В. Михайлов, Г. А. Востроилова, И. С. Толкачев, В. А. Шмарикова

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, Воронеж  
e-mail: voronezh81@rambler.ru*

Материал поступил в редакцию 26.04.2018 г.

**Аннотация.** Изучено влияние хронической интоксикации Т-2 токсином на структурную организацию семенников белых крыс и ее фармакологическая коррекция аминоселетоном. Эксперименты проведены на трех группах здоровых половозрелых самцах белых крыс линии Wistar массой 210—240 г, которых содержали в виварии ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии. Животные первой группы (n = 6) интоксикации не подвергались (контроль). Белые крысы второй группы (n = 6) получали в течение 30 суток перорально с кормом Т-2 токсин в дозе 0,027 мг/кг массы тела, а животным третьей группы (n = 6), начиная с момента интоксикации, дополнительно вводили внутримышечно трехкратно с интервалом 48 часов аминоселетон в дозе 0,5 мл/кг массы тела. Через 30 суток животных контрольной и опытных групп подвергали эвтаназии передозировкой хлороформом.

Материалом для гистологического исследования служили семенники самцов половозрелых белых крыс. Установлено, что у животных, подвергнутых хроническому воздействию Т-2 токсином, регистрировали нарушение структурной организации извитых канальцев, хаотичное залегание спермиев в просвете канальца, уменьшение их размеров и деформации формы головки. На гистопрепаратах наблюдали деструктивные изменения спермиев. Также были обнаружены извитые семенные канальцы, в просвете которых отсутствовали спермии, что может свидетельствовать об угнетении репродуктивной функции у самцов белых крыс.

При применении аминоселетона на фоне хронического Т-2 токсикоза у животных опытной группы по сравнению с контрольными крысами в семенниках нормализуется сперматогенез, улучшается структурная организация семенников.

**Ключевые слова:** белые крысы, Т-2 токсин, аминоселетон, хроническая интоксикация, морфология семенников, фармакокоррекция.

Микотоксикозы животных широко распространены и наносят большой экономический ущерб народному хозяйству. Чаще всего их вызывают Т-2 токсин, зеараленон, ДОН (вомитоксин), фумонизин, афлатоксин, охратоксин и патулин [1, 2].

Микотоксины, поступая в организм с кормом, могут вызвать изменение состава микрофлоры в кишечнике, а, всасываясь в желудочно-кишечном тракте, оказывать негативное влияние на клетки, органы, ткани, репродуктивные функции и физиологическое состояние животных. Наиболее восприимчивыми к действию микотоксинов являются молодняк, беременные самки, моногастричные животные [3].

В России, по степени распространенности наибольшее значение имеют фузариотоксины —

Т-2 токсин, дезоксиниваленон и зеараленон. К Т-2 токсикозу чувствительны крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, птица, приматы. Заболевание характеризуется гастроэнтеритом, кровотечением, язвами желудка, некрозом кожи и слизистой оболочки ротовой полости, диареей, нарушением деятельности центральной нервной системы (угнетение, возбуждение, парез конечностей), геморрагиями во внутренних органах и коже (у свиней). Возможны аборт, мумификация плодов, угнетение половой функции [4, 5]. Т-2 токсин обладает выраженным дерматонекротическим действием [6, 7]. Кроме того, он поражает сердечно-сосудистую и нервную системы, угнетает развитие лимфоидных органов, снижает количество лейкоцитов

в крови, ухудшает процесс выработки антител после активной иммунизации [8, 9].

Иммунодепрессивное действие токсина Т-2 проявляется на ранней стадии развития иммунной реакции в виде нарушения функции Т- и В-лимфоцитов [8, 10]. При хроническом течении у свиней и птиц наблюдаются снижение прироста живой массы, а также снижение яйценоскости и утончение скорлупы у птиц [11, 12, 13].

Целью наших исследований было изучение влияния хронической интоксикации Т-2 токсином на структурную организацию семенников у белых крыс и ее фармакологическая коррекция аминоселетоном.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на здоровых половозрелых самцах белых крыс линии Wistar массой 210—240 г, которых содержали в виварии ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии. Содержание животных и экспериментальный дизайн соответствовал международным правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Белые крысы находились в стандартных пластиковых клетках фирмы на подстилке из мелкой древесной стружки. Температура воздуха в виварии — 20—24 °С, влажность — 50±20 %, объем воздухообмена (вытяжка: приток) — 8:10, световой режим (день: ночь) — 1:1. Животные имели постоянный доступ к воде и пище. Корм — полнорационный экструдированный для лабораторных животных (мышей, крыс, хомяков), сбалансированный по аминокислотному составу, минеральным веществам и витаминам, производство ООО «Лаботоргкорм», г. Москва. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708 от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

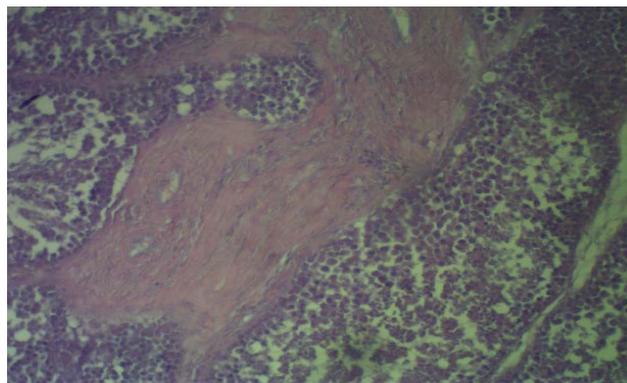
В соответствии с поставленными задачами было сформировано 3 группы животных. Животные первой группы (n = 6) интоксикации не подвергались (контроль). Белые крысы второй группы (n = 6) получали в течение 30 суток перорально с кормом Т-2 токсин в дозе 0,027 мг/кг массы тела, а животным третьей группы (n = 6), начиная с момента интоксикации, дополнительно вводили внутримышечно трехкратно с интервалом 48 часов аминоселетон в дозе 0,5 мл/кг массы тела. Через 30 суток животных контрольной и опытных групп подвергали эвтаназии передозировкой хлороформом с соблюдением принципов гуманности, изло-

женных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, и в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Материалом исследования служили семенники половозрелых самцов белых крыс. Для гистологического исследования образцы тканей фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Зафиксированные образцы после промывки в проточной воде подвергали обезвоживанию путем помещения исследуемого материала в спирты с возрастающей концентрацией и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические поперечные срезы толщиной 4—5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином [14].

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При гистологическом исследовании семенников самцов белых крыс 2-й группы было выявлено, что белочная оболочка, окружающая семенники, имеет неоднородную толщину. Извитые семенные каналы неправильной формы, располагаются свободно, не соприкасаясь плотно друг к другу. Единичные семенные каналы правильной эллипсоидной формы. Граница между сперматогенным эпителием и просветом канала не имеет четкой границы. В собственной оболочке каналов отмечена отечность и декомпозиция базальных мембран. Между извитыми каналами обнаруживается утолщение интерстициальной соединительной ткани (рис. 1).

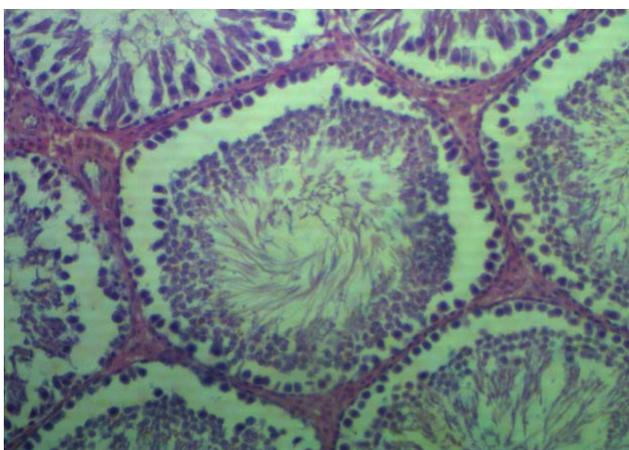


**Рис. 1.** Увеличение площади интерстициальной ткани между извитыми семенными каналцами, деформация извитых семенных каналцев (2 группа). Окраска гематоксилин-эозин. Об. 10 × ок. 10

В группе животных, которым применяли аминоселетон, структурная организация паренхимы семенников была представлена соединительно-

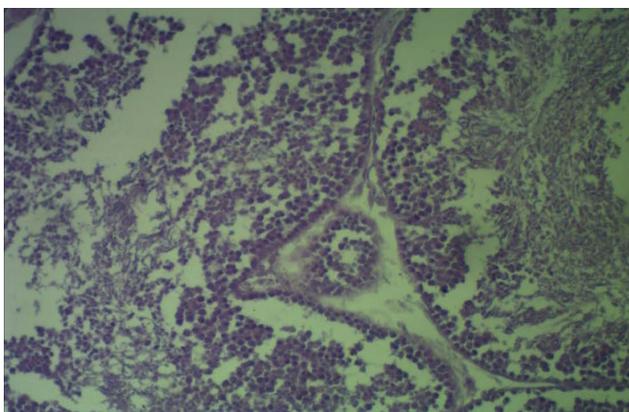
тканной капсулой, содержащей гладкие мышечные клетки, вглубь паренхимы ветвятся септы, разделяющие семенник на доли. Каждая доля содержит несколько извитых семенных канальцев, в которых протекает сперматогенез. Извитые семенные канальцы имеют эллипсоидную и округлую формы. Пространство между извитыми семенными канальцами заполнено интерстицией, представленной рыхлой волокнистой соединительной тканью, в которой находится большое количество кровеносных и лимфатических сосудов и интерстициальных клеток Лейдига. К базальной мембране прилегает сперматогенный эпителий.

В интерстиции выявлены умеренно кровеносные сосуды (рис. 2).



**Рис. 2.** Архитектоника извитых канальцев группы белых крыс, получавших аминоксетонон. Окраска гематоксилин-эозин. об. 10 × ок. 10

В структурной организации семенников у крыс 3-й опытной группы выявлено восстановление сперматогенеза в извитых канальцах. Интерстициальные клетки (клетки Лейдига) правильной сфер-

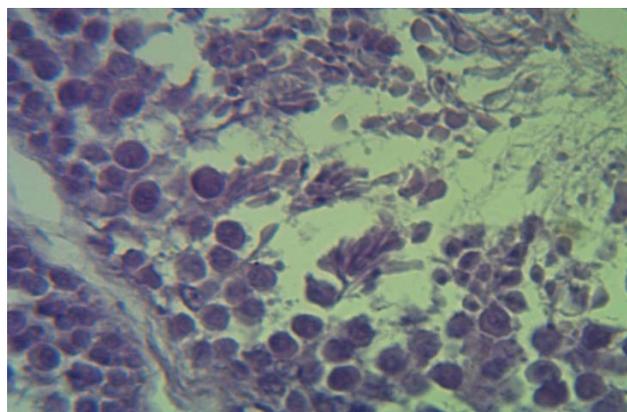


рической формы, ядра клеток расположены центрально. Сперматогонии, первичный и вторичные сперматоциты без деструктивных изменений. В основном морфология спермиев правильная, за исключением единичных с незначительными морфологическими отклонениями. В просвете канальцев сперматоциты занимают центральное положение (рис. 3 а, б).

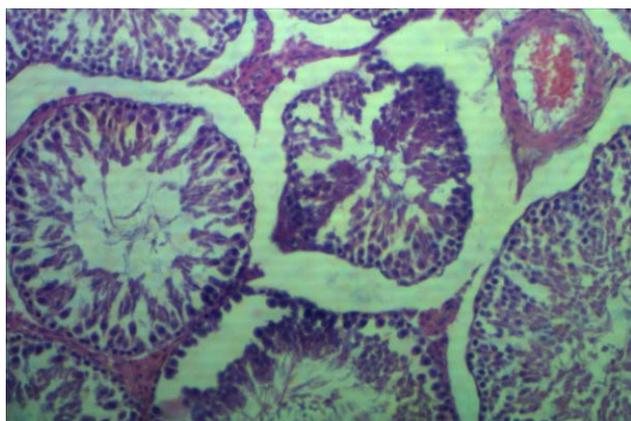
При изучении архитектоники семенников у крыс 2-й группы было установлено разрастание соединительной ткани и соответственно ее отек, что вызывает дезорганизацию семенных канальцев. По сравнению с животными, которым вводили аминоксетонон, у них происходила деформация извитых семенных канальцев (рис. 4 и 5). Часть клеток Сертоли значительно уменьшена в размерах и имеет более овальную форму. Сперматогонии, по сравнению с таковыми в контроле, имели значительно меньший размер. Стволовые сперматогонии подвержены перерождению и их количество заметно сокращено. Сперматоциты имеют овальную, реже сферическую форму. Ранние и поздние сперматиды не различимы. Они преимущественно сферической формы, а их ядра занимают центральное положение в клетке. После воздействия Т-2 токсина выявлено хаотичное залегание спермиев в просвете канальца, которые претерпевают морфологические изменения.

На гистопрепаратах наблюдаются обрывы хвостов и сплетение спермиев (рис. 5). Клетки Лейдига распределялись в рыхлой волокнистой соединительной ткани диффузно, лишь изредка встречались небольшие группы клеток.

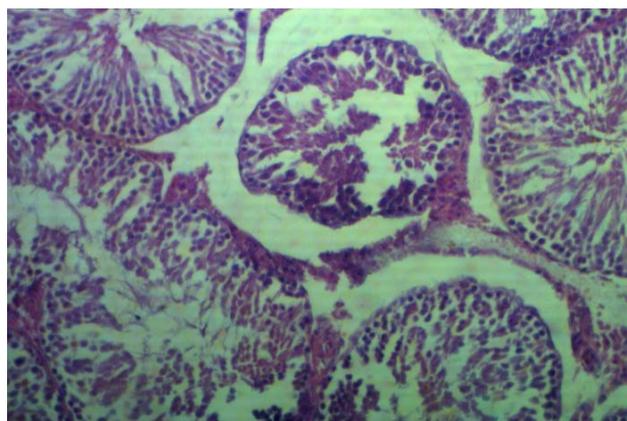
Также были обнаружены извитые семенные канальца, в просвете которых отмечено отсутствие спермиев, что согласуется с литературными данными [15].



**Рис. 3.** Клеточный состав извитых семенных канальцев при применении белым крысам аминоксетонона. Окраска гематоксилин-эозин. Об. 10 ок. 10 (а). Об. 10 × ок. 40 (б)

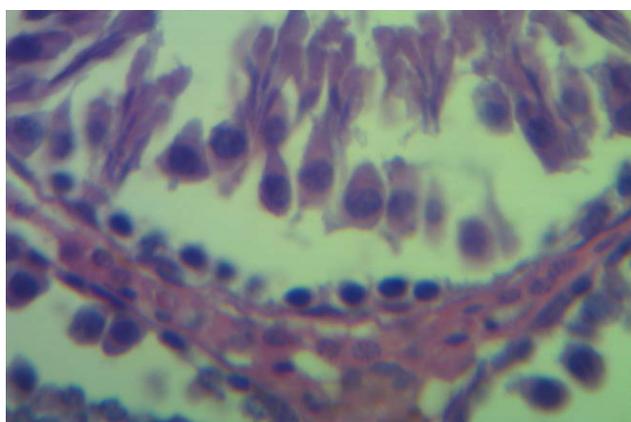


а

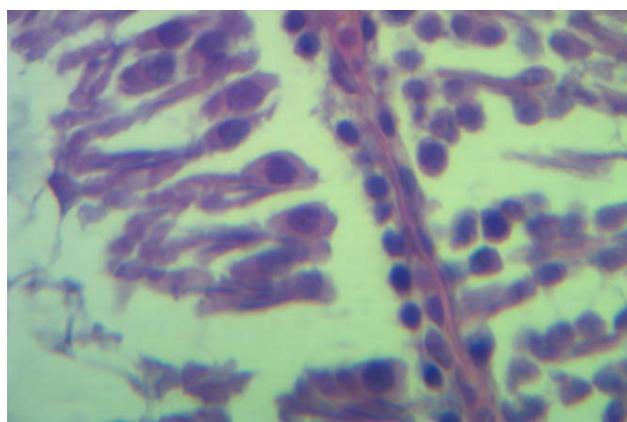


б

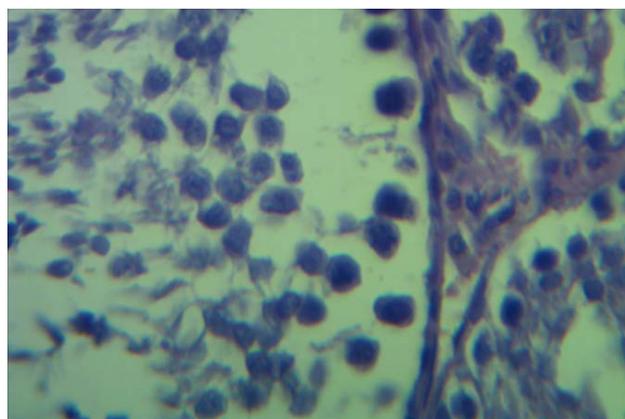
Рис. 4. Деформация извитых семенных канальцев (2 группа). Окраска гематоксилин-эозин. Об. 10 × ок. 10



а



б



в

Рис. 5. Клеточный состав извитых семенных канальцев у животных при интоксикации Т-2 токсином. Окраска гематоксилин-эозин. Об. 40 × ок. 10 (а, б, в,)

Таким образом, хроническая интоксикация Т-2 токсином вызывает нарушение структурной организации извитых канальцев, хаотично расположение спермиев в просвете канальца, уменьшение их размеров и деформации головки. На гистопрепаратах наблюдаются обрывы хвостов и сперми-

ев. Также обнаружены извитые семенные канальцы, в просвете которых отсутствуют спермии, что в свою очередь свидетельствует об угнетении репродуктивной функции самцов белых крыс. Изменения размеров извитых семенных канальцев являются важными количественными показателями,

указывающими на изменения процесса сперматогенеза, что не противоречит данным литературы [15, 16].

Применение аминоселетона улучшает структурную организацию семенников, что способствует нормализации сперматогенеза и свидетельствует о восстановлении репродуктивной функции крыс-самцов после хронической интоксикации Т-2 токсином.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Кузнецов А. Ф.* Ветеринарная микология / А. Ф. Кузнецов // СПб.: Издательство «Лань», 2001. — 416 с.
2. *Иванов А. В.* Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты) / А. В. Иванов, В. И. Фисинин, М. Я. Тремасов, К. Х. Папуниди // М.: Колос, 2010. — 392 с.
3. *Кужаков В.* Препарат для защиты зерна и кормов от плесени и микотоксинов / В. Кужаков, Т. Айдинян // Комбикорма. — 2000. — № 6. — С. 38—39.
4. *Тутельян В. А.* Природные токсины и проблемы биобезопасности / В. А. Тутельян // Тез. док. 2-го съезда токсикологов России. М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России, 2003. — С. 32—35.
5. *Жуленко В. Н.* Ветеринарная токсикология / В. Н. Жуленко, М. И. Рабинович, Г. А. Таланов // Под ред. В. Н. Жуленко. М.: КолосС, 2004. — 384с.
6. *Тремасов М. Я.* Микотоксикозы — проблема распространения и профилактики в животноводстве / М. Я. Тремасов // Проблемы экотоксикологического, радиационного и эпизоотологического мониторинга. Материалы Всерос. науч.-практ. конф., посвященной 45-летию ФГНУ ВНИВИ (14—15 апреля 2005 года). Казань: ФГНУ ВНИВИ, 2005. — С. 41—51.
7. *Дорофеева С.* Микотоксикозы / С. Дорофеева // Птицеводство. — 2003. — № 6. — С. 24—26.
8. *Santin E.* Micotoxins threaten the immune system / E. Santin // World Poultry. — 2009. — Vol. 25. — № 12. — P. 24—26.
9. *Антипов В. А.* Микотоксикозы — важная проблема животноводства. / В. А. Антипов, В. Ф. Васильев // Ветеринария. — 2007. — № 11. — С. 7—9.
10. *Шабунин С. В.* Коррекция аминоселетоном иммунного статуса белых крыс, вакцинированных против сальмонеллеза, при хроническом воздействии Т-2 токсина / С. В. Шабунин, А. Г. Шахов, Г. А. Востроилова, Л. Ю. Сашнина, Ю. А. Канторович, Е. В. Михайлов, И. С. Толкачев, Е. В. Тюрина // Ветеринария сегодня. — 2017. — № 3 (22). — С. 44—51.
11. *Сурай П.* Как микотоксины работают на молекулярном уровне / П. Сурай // Птицеводство. — 2004. — № 8. — С. 25—26.
12. *Aldred D.* Prevention strategies for trichothecenes. / D. Aldred, N. Magan // Toxicol. Lett. — 2004. — Vol. 153. — P. 165—171.
13. *Даминов Р.* Хронические микотоксикозы у кур-несушек. / Р. Даминов, М. Гайсин // Комбикорма. — 2007. — № 3. — С. 93—94.
14. Методы морфологических исследований 2-е издание, исправленное и дополненное / С. М. Сулейманов, с соавт. ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж, 2007. — 87 с.
15. *Дуденкова Н. А.* Изменения морфофункционального состояния и продуктивности семенных желез белых крыс при воздействии ацетата свинца / Н. А. Дуденкова, О. С. Шубина // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 10—6. — С. 1253—1259.
16. *Саяпина И. Ю.* Окислительный стресс в семенниках крыс, индуцированный адаптацией к низким температурам, и его коррекция дигидрохверцетином / И. Ю. Саяпина, Т. Л. Огородникова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. — Краснодар: КубГАУ, 2013. — № 05(89). — IDA [article ID]: 0891304039. — Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2013/05/pdf/39.pdf>, 0,813 у. п. л.

## THE ARCHITECTONICS OF TESTES IN MALES OF WHITE RATS IN EXPERIMENTAL CHRONIC INTOXICATION BY T-2 TOXIN AND ITS PHARMACOCORRECTION BY AMINOSELETONES

© 2018 E. V. Mikhailov, G. A. Vostroilova, I. S. Tolkahev, V. A. Sharikova

*SSI All-Russian research veterinary Institute of pathology, pharmacology and therapy, Voronezh  
e-mail: voronezh81@rambler.ru*

Received 26.04.2018

**Abstract.** The influence of chronic intoxication with T-2 toxin on the structural organization of the testes of white rats and its pharmacological correction aminoseletone was investigated. The experiments were performed on three groups of healthy mature male albino rats of Wistar line weighing 210—240 g, which were kept in the vivarium of the SSI ARVIPPh and T RAAS. Animals of the first group (n = 6) were not subjected to intoxication (control). White rats of the second group (n = 6) received T-2 toxin within 30 days, oral with feed at a dose of 0.027 mg/kg of the body weight, while animals of the third group (n = 6), starting from the moment of intoxication, were additionally injected intramuscularly three times with an interval of 48 hours with aminoseletone at a dose of 0.5 ml/kg of the body weight. After 30 days, the animals of the control and experimental groups were subjected to euthanasia by chloroform overdose.

The testes of males of mature white rats served as the material for histological examination.

It is established that in animals subjected to chronic exposure by T-2 toxin, the chaotic arrangement of sperms in the lumen of the tubule, reducing their size and shape of the head, violation of the structural organization of twisted tubules. On histopathology breakages of tails and agglutination of spermatozoa were observed. Convoluted seminiferous tubules in the lumen, with lack of sperm, which may indicate inhibition of the reproductive function of male albino rats were also found.

When applying aminoseletone on the background of chronic T-2 toxicity in animals of the experimental group compared with the control rats in seminal gland leads to normal spermatogenesis, improves the structural organization of the testes.

**Keywords:** white rats, T-2 toxin, aminoseletone, chronic intoxication, morphology of the testes, pharmacocorrection.

#### REFERENCES

1. Kuznetsov A. F. *Veterinary Mycology* / A. F. Kuznetsov // SPb.: Publishing House «Lan», 2001. — 416 p.
2. Ivanov A. V. *Mycotoxicoses (biological and veterinary aspects)* / A. V. Ivanov, V. I. Fisinin, Tremasov M. Y., K. H., Popunidy // M.: Kolos, 2010. — 392 p.
3. Kuzhakov V. Preparation to protect the grain and fodder from the mold and micotoxins / V. Kuzhakov, T. Aydinyan // *Feed*. — 2000. — No. 6. — pp. 38—39.
4. Tutelyan V. A. Natural toxins and biosafety problems / V. A. Tutelyan // Thesis of the 2nd Congress of toxicologists of Russia. Moscow: Russian register of potentially hazardous chemical and biological substances, Ministry of Health, 2003. — pp. 32—35.
5. Zhulenko V. N. *Veterinary toxicology* / V. N. Zhulenko, M. I. Rabinovich, Talanov, G. A. // Under the editorship of V. N. Zhulenko. Moscow: Kolos, 2004. — 384p.
6. Tremasov M. Ya. Mycotoxicosis — a problem of distribution and prevention in animal husbandry / M. Y. Tremasov // *Ecotoxicological, radiation and epidemiological monitoring. Materials of All-Russian sc. — pract. conf. (April 14—15 2005)*. Kazan: FGNU vnivi, 2005. — P. 41—51.
7. Dorofeeva, PP. *Mikotocicozes* / S. Dorofeeva // *Poultry*. — 2003. — No. 6. — pp. 24—26.
8. Santin E. *Micotoxins threaten the immune system* / E. Santin // *World Poultry*. — 2009. — Vol. 25. — No. 12. — pp. 24—26.
9. Antipov V. A. *Mycotoxicoses — an important problem of animal husbandry.* / V. A. Antipov, V. F. Vasilyev // *Veterinary Medicine*. — 2007. — No. 11. — pp. 7—9.
10. Shabunin S. V. Aminoseletones correction of the immune status of albino rats vaccinated against salmonellosis, chronic effects of T-2 toxin / S. V. Shabunin, A. G. Shakhov, Vostroilova G. A., L. Y. Sosnina, Y. Kantorovich, E. V. Mikhailov, I. S. Tolkachev, E. V. Tyurina // *Veterinary medicine today*. — 2017. — No. 3 (22). — pp. 44—51.
11. Suray P. How mycotoxins work at the molecular level / P. Suray // *Poultry*. — 2004. — No. 8. — pp. 25—26.
12. Aldred D. Prevention strategies for trichothecenes. / D. Aldred, N. Magan // *Toxicol. Lett.* — 2004. — Vol. 153. — P. 165—171.
13. Daminov R. Chronic mycotoxicosis in laying hens. / R. Daminov, M. Gaisin // *Feed Stuff*. — 2007. — No. 3. — pp. 93—94.
14. *Methods of morphological studies .2nd edition, corrected and supplemented* / S. M. Suleymanov, et al. SSI ARVIPPhandT. — Voronezh, 2007. — 87 p.
15. Dudenkova N. A. Changes in the morphofunctional state and productivity of the seminal glands of white rats exposed to lead acetate/N. Ah. Dudenkova, O. S. Shubina // *Fundamental researches*. — 2013. — № 10—6. — pp. 1253—1259.
16. Sayapina I. J. Oxidative stress in testes of rats induced by adaptation to low temperatures and its correction with catehyn hydrate / Sayapina I. Y., Ogorodnikova T. L. // Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban state agrarian university (Scientific magazine of KubSAU) [Electronic resource]. — Krasnodar: KubSAU, 2013. No. 05(89). — IDA [article ID]: 0891304039. — Mode of access: <http://ej.kubagro.ru/2013/05/pdf/39.pdf>, 0,813 normpages



## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДОКСИЦИКЛИНА ГИДРОХЛОРИДА

© 2018 И. Н. Матушкина, Т. А. Панина, Е. А. Моргунова,  
Е. И. Пономарева, Е. И. Стаценко

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, г. Воронеж, Россия  
E-mail: vnivipat@mail.ru

Материал поступил в редакцию 14.05.2018 г.

**Аннотация.** Одной из значительных проблем фармацевтической химии является разработка и валидация методов количественного определения действующих веществ в субстанциях и готовых лекарственных препаратах, который бы позволял получить наиболее точные данные, и в тоже время не требовал значительного расхода растворителей и реактивов, и продолжительного времени проведения анализа.

В статье представлены данные по разработке количественного определения доксициклина спектрофотометрическим методом, который можно применять для его количественного определения в ветеринарных лекарственных средствах.

Валидация метода проведена по таким параметрам, как линейность, воспроизводимость (внутрилабораторная прецизионность) и правильность.

Коэффициент корреляции R составил 0,9998, что свидетельствует о линейной связи между переменными  $x$  и  $y$ . Величина относительного стандартного отклонения составила 0,6 %, говоря о хорошей воспроизводимости метода. Следовательно, разработанная методика может применяться в качестве метода контроля качества ветеринарных препаратов, в состав которых входит доксициклин.

**Ключевые слова:** доксициклин, спектрофотометрический метод, валидация аналитического метода, прецизионность, воспроизводимость, линейность.

Одной из актуальных проблем фармацевтической химии на сегодняшний день остается разработка и валидация метода количественного определения действующих веществ в субстанциях и готовых лекарственных препаратах, который позволяет получить наиболее точные данные, и, в тоже время, не требует значительного расхода растворителей и реактивов, продолжительного времени проведения анализа [1, 4].

Исходя из актуальности темы, целью работы являлась разработка метода количественного определения доксициклина гидрохлорида в субстанции спектрофотометрическим методом с возможностью его дальнейшего использования для количественного определения доксициклина в лекарственных препаратах ветеринарного назначения.

Доксициклина гидрохлорид (6-дезоксидокси-5-окситетрациклина гидрохлорид) — полусинтетический антибиотик группы тетрациклинов [3], который яв-

ляется липофильным и способен легко проходить через липидный бислой бактерий. Более того, активно связывается с 30S-рибосомными субъединицами и влияет на процесс синтеза бактериальных белков, предотвращая апрокулатуру нормальной функции *Plasmodium falciparum*.

Поскольку доксициклин имеет широкий спектр антимикробного действия относительно грамположительных и грамотрицательных бактерий (*Staphylococcus spp.*, *Diplococcus pneumonia*, *Streptococcus spp.*, *Haemophilus influenza.*, *E. coli*, *Pneumococci*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringes*, *Listeria monocytogens*, *Actinomyces spp.*, *Entiobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella*, *Yersinia spp.*), а также микоплазм, риккетсий и хламидий, он нашел свое широкое применение в качестве активно действующего вещества в препаратах предназначенных для использования в ветеринарной медицине.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования была выбрана субстанция доксицилина гидрохлорида (содержание активного вещества по данным входного контроля, определенное с использованием спектрофотометрического метода, составило 967,7 мкг/мг), в качестве стандартного образца использовали стандартный образец доксицилина гидрохлорида (SIGMA-ALDRICH, содержание активного вещества 994 мкг/мг). В работе использовали следующее оборудование: весы лабораторные электронные ALC-210d4 (для взвешивания в диапазоне от 0,1 мг до 210 г, воспроизводимость  $< \pm 0,1$  мг), спектрофотометр СФ-46 (диапазон измерений от 190 до 1100 нм, погрешность  $\pm 1$  %), баня водяная, посуда мерная.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Была разработана методика количественного определения, сущность которой заключается в следующем.

### Приготовление буферного раствора с рН 2.

В мерную колбу вместимостью 1000,0 мл вносят 250,0 мл 0,2 мол раствора калия хлорида, добавляют 53,0 мл 0,2 мол раствора соляной кислоты и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Перемешивают.

*Приготовление раствора хлорида железа (III) с массовой долей 0,2 %.* 0,6630 г хлорида железа (III) помещают в мерную колбу вместимостью 200,0 мл, приливают 50,0 мл раствора соляной кислоты, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

0,025 г испытуемого доксицилина гидрохлорида, взвешенного с точностью до четвертого десятичного знака, растворяют в мерной колбе вместимостью 25,0 мл в дистиллированной воде

и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным. В мерную колбу, вместимостью 50,0 мл вносят 5,0 мл полученного раствора, добавляют 25 мл буферного раствора, 5 мл хлорида окисного железа и объем раствора доводят до метки 0,01 мол раствором соляной кислоты и перемешивают. Через 30 минут измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 490 нм в кюветах с расстоянием между гранями 1 см против нулевого раствора.

Расчет проводят по формуле

$$X = \frac{C \cdot 25 \cdot 50}{1 \cdot 5},$$

где  $C$  — содержание доксицилина гидрохлорида, найденное по калибровочному графику, мг/мл;

25, 50 — объем разведения, мл;

5 — объем раствора, взятый для анализа, мл;

1 — объем модельной смеси, взятый для анализа, мл.

Далее проведена валидация аналитического метода по следующим показателям: линейность, воспроизводимость (внутрилабораторная прецизионность), правильность [1, 2].

Линейность устанавливали на основании результатов испытаний, числовые характеристики которых пропорциональны концентрациям анализируемого вещества в стандартном образце в пределах аналитической методики. Определение линейности проводили на 5 уровнях концентрации от теоретического содержания доксицилина (табл. 1). Каждый из 5 полученных растворов стандартного образца доксицилина спектрофотометрировали и строили кривую зависимости оптической плотности от концентрации вещества в растворе (рис. 1). Коэффициент корреляции является критерием линейной зависимости между концентрацией и оптической плотностью.

Таблица 1

Оценка линейности методики

Концентрация доксицилина, г/мл	Объем разведения	Концентрация доксицилина гидрохлорида, мг/мл	Концентрация доксицилина с учетом активности стандарта (994 мкг/мг), мг/мл	Оптическая плотность
1	2	3	4	5
1,5	50	0,03	0,029 82	0,110
3,0	50	0,06	0,059 64	0,217

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
4,5	50	0,09	0,089 46	0,315
6,0	50	0,12	0,119 28	0,430
7,5	50	0,15	0,146	0,527

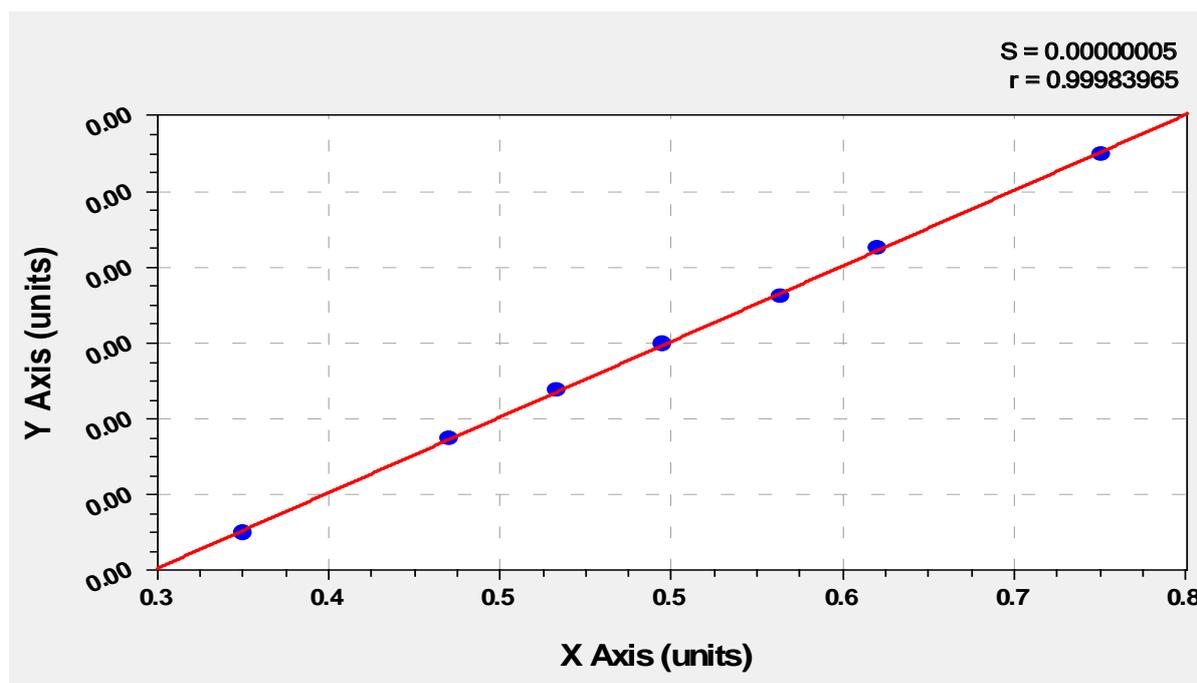


Рис. 1. График зависимости оптической плотности от концентрации доксициклина гидрохлорида в растворе

При обработке данных было выведено следующее уравнение зависимости:

$$y = 0,000\,018\,7 \cdot x - 0,000\,000\,2$$

Коэффициент корреляции  $R = 0,999\,8$ , что свидетельствует о линейной связи между переменными  $x$  и  $y$ .

0,000 018 7 — угловой коэффициент ( $\beta$ );

0,000 000 2 — свободный член ( $a$ ).

Прецизионность методики характеризуется рассеянием результатов, получаемых с ее использованием, относительно величины среднего результата. Мерой такого рассеяния является величина стандартного отклонения результата отдельного определения, полученная для выборки достаточно большого объема данных. Определение внутрилабораторной прецизионности (воспроизводимости) проводили на одних и тех же образцах, одним и тем же методом, в одной лаборатории, разными исполнителями (табл. 2).

При определении доксициклина гидрохлорида в субстанции спектрофотометрическим методом величина относительного стандартного отклонения составила 0,6 %, что говорит о хорошей воспроизводимости метода.

Оценку правильности проводили методом анализа модельных смесей с известным содержанием доксициклина. Образцы с внесенным в них доксициклином в заданном диапазоне концентраций исследуются в соответствии с вышеописанным методом (табл. 3).

По результатам анализа строят график, для построения которого отмечается на оси  $OX$  — ожидаемое количество доксициклина, на оси  $OY$  — измеренное количество доксициклина (рис. 2). При отсутствии систематической ошибки измеренные значения должны лежать на прямой линии, проходящей через начало координат и имеющей наклон 1.

Таблица 2

## Оценка воспроизводимости методики

№ образца	Исполнитель 1			Исполнитель 2		
	Масса навески доксициклина, г	Оптическая плотность	Содержание доксициклина, мкг/мг	Масса навески доксициклина, г	Оптическая плотность	Содержание доксициклина, мкг/мг
1	0,025	0,345	959,6	0,025	0,348	971,2
2	0,025	0,350	973,5	0,025	0,346	966,0
3	0,025	0,348	967,9	0,025	0,350	977,2
4	0,025	0,346	962,3	0,025	0,350	972,2
5	0,025	0,350	973,5	0,025	0,348	971,2
6	0,025	0,350	973,5	0,025	0,346	966,0
7	0,025	0,350	973,5	0,025	0,350	977,2
8	0,025	0,348	967,9	0,025	0,348	971,2
9	0,025	0,346	962,3	0,025	0,350	977,2
10	0,025	0,350	973,5	0,025	0,352	982,8
11	0,025	0,348	967,9	0,025	0,350	977,2
12	0,025	0,348	967,9	0,025	0,350	977,2
13	0,025	0,350	973,5	0,025	0,348	971,2
14	0,025	0,350	973,5	0,025	0,345	963,3
15	0,025	0,348	967,9	0,025	0,352	982,8
Метрологические характеристики						
Среднее значение					971,6	
Стандартное отклонение					5,82	
Относительное стандартное отклонение, %					0,60	

Таблица 3

## Оценка правильности методики

№ модельной смеси	Объем модельной смеси, мл	Оптическая плотность модельной смеси	Истинное содержание доксициклина, мг/мл	Экспериментально найденное содержание доксициклина, мг/мл
1	1	0,138	9,677	9,64
2	1	0,278	19,354	19,41
3	1	0,415	29,031	28,96
4	1	0,555	38,708	38,73
5	1	0,695	48,385	48,49

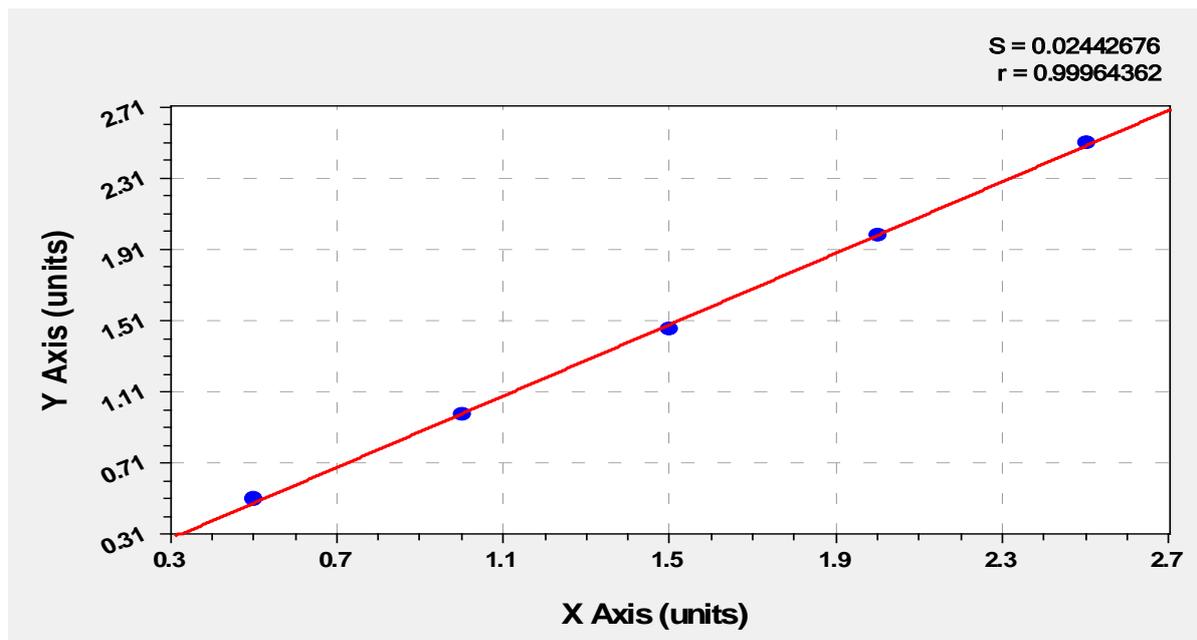


Рис. 2. График соответствия измеренного количества доксициклина ожидаемому

Полученные данные так же представляются в виде уравнения линейной зависимости (регрессии) между экспериментально найденными и истинными величинами:  $y = a + v \cdot x$ ,  $a$  — свободный член,  $v$  — тангенс угла наклона.

Для этого уравнения проверяются гипотезы о равенстве единице тангенс угла наклона и о равенстве нулю свободного члена:  $a$  (свободный член) =  $-0,06$ ,  $v$  (тангенс угла наклона) =  $1,0025$ . Тангенс угла наклона близок к единице, свободный член близок к нулю, свидетельствуя о том, что использование валидируемой методики дает правильные, т. е. свободные от систематической ошибки, результаты.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан и валидирован спектрофотометрический метод количественного определения субстанции доксициклина гидрохлорида. Установлено, что метрологические характеристики валидационных параметров методики: линейность, внутрилабораторная прецизионность (воспроизводимость),

правильность не превышают валидационные критерии. Методика может быть рекомендована для включения в нормативную документацию.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. — Т. I. — М., 2015. — С. 222—234. (Федеральная электронная медицинская библиотека) [Электронный ресурс]. — URL: <http://www.femb.ru/feml> (дата обращения: 14.03.2017).
2. ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. — Т. I. — М., 2015. — С. 235—264. (Федеральная электронная медицинская библиотека) [Электронный ресурс]. — URL: <http://www.femb.ru/feml>.
3. Фармацевтическая химия: Уч. пос./ Под ред. проф. Армасцева А. П. — М., 2004—640 с.
4. Юргель Н. В. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств: Методические рекомендации / Н. В. Юргель. — М.: Издательство «Спорт и Культура — 2000», 2007. — 48 с.

## DEVELOPMENT AND VALIDATION OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF DOXYCYCLE HYDROCHLORIDE

© 2018 I. N. Matushkina, T. A. Panina, E. A. Morgunova, E. I. Ponomareva, E. I. Statsenko

*State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy  
of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Voronezh, Russia  
E-mail: vnivipat@mail.ru*

**Received 14.05.2018**

**Abstract.** One of the significant problems of pharmaceutical chemistry is the development and validation of methods for the quantitative determination of active substances in substances and finished medicinal preparations that would allow obtaining the most accurate data, but at the same time it did not require a significant expenditure of solvents and reagents, and a long time of the analysis.

The article presents data on the development of a quantitative determination of doxycycline by a spectrophotometric method, which could be used to determine it in medicinal preparations for veterinary medicine.

The validation of the method was carried out for such parameters as linearity, reproducibility (intralaboratory precision) and correctness. Correlation coefficient  $R = 0.9998$ , which indicates a linear relationship between the variables  $x$  and  $y$ . The value of the relative standard deviation was 0.60 %, which indicates a good reproducibility of the method. Consequently, the developed methodology can be recommended for inclusion in regulatory documentation.

**Keywords:** a spectrophotometric method, validation of analytical method, doxycycline, precision, reproducibility, linearity.

#### REFERENCES

1. OFS.1.1.0012.15 Validation of analytical techniques. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed. — T. I. — M., 2015. — P. 222—234. (Federal Electronic Medical Library) [Electronic resource]. — URL: <http://www.femb.ru/feml> (date of circulation: 14.03.2017).

2. OBS.1.1.0013.15 Statistical processing of the results of a chemical experiment. State Pharmacopoeia of the Rus-

sian Federation. XIII ed. — T. I. — M., 2015. — P. 235—264. (Federal Electronic Medical Library) [Electronic resource]. — URL: <http://www.femb.ru/feml>.

3. Pharmaceutical Chemistry: Uch. settlement / Ed. prof. Armasceva AP-M, 2004—640 p.

4. Yurgel N. V. Guidance on the validation of drug analysis techniques: Methodological recommendations / N. V. Yurgel. — M.: Publishing house «Sport and Culture — 2000», 2007. — 48 p.

Матушкина Ирина Николаевна — младший научный сотрудник

Панина Татьяна Анатольевна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Моргунова Елена Альбертовна — младший научный сотрудник

Пonomareva Елена Ивановна — младший научный сотрудник

Стаценко Елена Игоревна — младший научный сотрудник

Matushkina Irina Nikolaevna — Junior Scientific Associate

Panina Tatyana Anatolevna — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate

Morgunova Elena Albertovna — Junior Scientific Associate

Ponomareva Elena Ivanovna — Junior Scientific Associate

Statsenko Elena Igorevna — Junior Scientific Associate

## ПАРАМЕТРЫ ТОКСИЧНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ТРИОЛАКТ В ОСТРОМ ОПЫТЕ

© 2018 Г. А. Востроилова, А. А. Корчагина, И. В. Брюхова,  
Н. А. Григорьева, Ю. А. Канторович

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, Воронеж,  
E-mail: vnivipat@mail.ru*

Материал поступил в редакцию 14.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье рассмотрены вопросы изучения параметров токсичности в остром опыте нового комплексного антимикробного препарата триолакт для лечения мастита у коров в период лактации. Введение препарата белым мышам осуществлялось однократно внутривентрикулярно с помощью специального зонда, а также подкожно и внутрибрюшинно. Работа выполнялась на разнополых половозрелых белых мышах линии ICR (CD-1), не имеющих отклонений в здоровье по клиническим признакам, не участвовавших ранее в экспериментах. В ходе исследований определяли переносимые, токсические и летальные дозы исследуемого лекарственного средства, сроки развития интоксикации и гибели животных с подробным описанием наблюдаемой клинической картины при однократном введении лекарственного средства при трех путях введения. В результате проведенных испытаний нового комплексного антимикробного препарата триолакт установлено, что  $LD_{50}$  изучаемого препарата при внутривентрикулярном введении превышает 40 000,0 мг/кг, следовательно, триолакт по степени токсичности относится к IV классу опасности — вещества малоопасные (ГОСТ 12.1.007—76). Пороговой дозой при внутривентрикулярном введении можно считать 35 000,0 мг/кг, а при подкожном — 28 000,0 мг/кг. При внутрибрюшинном введении  $LD_{50}$  составила 12 719,8 (9 043,4—16 396,2) мг/кг при стандартной ошибке 1050,3.

**Ключевые слова:** триолакт, острая токсичность, белые мыши, среднелетальная доза.

Мастит вымени у коров — это проблема номер один современного молочного скотоводства. Мастит наносит серьезный экономический ущерб всей этой отрасли. При этом хозяйства несут ощутимый экономический ущерб вследствие недополучения молока и снижения воспроизводительной функции животных [1, 2]. Кроме того, молоко от больных животных вообще запрещено к употреблению. На отдельных фермах маститом могут болеть сразу до 35 % животных.

Наиболее частой причиной возникновения мастита является воздействие условно-патогенной микрофлоры, такой как *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pr. vulgaris*, *E. coli*, *C. diversus*, *C. freundii*, *Ent. aerogenes*, *Ent. faecium*, *Ent. faecalis*. При этом зачастую заболевание вызывает не монокультура, а различные ассоциации микроорганизмов [3, 4]. Вследствие этого возникает необходимость расширения спектра действия лекарственных препаратов для лечения мастита за счет изыскания новых комплексных антимикробных средств, поэтому в изучаемом нами препарате триолакт представле-

но сочетание антибиотиков пенициллиновой группы и противовоспалительного компонента.

При разработке нового препарата должен выполняться определенный порядок проведения научных исследований на различных уровнях, важнейшим из которых является оценка специфической фармакологической активности и безопасности на этапе доклинических экспериментальных исследований. Целью доклинических исследований является получение научными методами оценок и доказательств безопасности, качества и эффективности лекарственных средств [5].

Одним из важных критериев безопасности препарата является оценка его общетоксических свойств. В связи с этим, нами проведено изучение острой токсичности препарата триолакт. В ходе работы определялись переносимые, токсические и летальные дозы препарата, а также устанавливалась выраженность его токсического действия и переносимость при однократном пероральном, подкожном и внутрибрюшинном введении, регистрировались сроки развития интоксикации и ги-

бели животных с подробным описанием наблюдаемой клинической картины.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение параметров острой токсичности препарата проведено при однократном внутрижелудочном, подкожном и внутрибрюшинном введении с использованием двухэтапного метода, предусматривающего определение ориентировочной  $LD_{50}$  на ограниченном количестве животных методом Дейхмана и ЛеБланка, с последующим определением точного показателя  $LD_{50}$  по Прозоровскому.  $LD_{10}$ ,  $LD_{16}$ ,  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$ ,  $LD_{90}$ ,  $LD_{100}$  определяли с помощью пробит-анализа с использованием прикладной программы «Статистика+2009».

Опыт выполняли на половозрелых разнополых белых мышах линии ICR (CD-1) с массой тела 20—22 г, не имеющих отклонений в здоровье по клиническим признакам, не участвовавших ранее в экспериментах. Животные содержались в условиях вивария ГНУ ВНИВИПФиТ. Температура воздуха поддерживалась в пределах 18—23 °С при относительной влажности 45—60 %. Доступ к воде и корму был свободным. Группы формировали по принципу аналогов, используя в качестве критерия массу тела (различие по средней массе не превышало  $\pm 10\%$ ) по 10 мышей в каждой. Содержание, кормление и манипуляции проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которые используются в эксперименте (Страсбург, 1986) и принципами надлежащей лабораторной практики (ГОСТ 33044—2014).

Перед началом опытов животных выдерживали на карантине в течение 14 дней, а перед введением препарата не кормили в течение 12 часов.

Было проведено три серии опытов. Исследуемый препарат вводили натошак однократно в максимально возможных объемах внутрижелудочно, 2000,0—23 000,0 мг/кг (внутрибрюшинно) и 3000,0—38 000,0 мг/кг (подкожно).

Наблюдение проводили непрерывно на протяжении первого дня после введения препарата. В последующем состояние животных отмечали дважды в сутки в течение 14 дней. Регистрировали общий статус и поведение, состояние нервномышечных, вегетативных функций, шерстного по-

крова, потребление корма и воды. Особое внимание уделяли развитию признаков токсикоза, оценивали их тяжесть, продолжительность, время выздоровления или гибели животных. Павших мышей с признаками отравления препаратом вскрывали. По окончании экспериментов проводили эвтаназию и патологоанатомическое вскрытие всех выживших мышей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

При внутрижелудочном введении триолакта белым мышам в дозах 5 000,0—15 000,0 мг/кг массы тела не было отмечено существенных изменений в состоянии животных. Мыши активно двигались и хорошо поедали корм. Увеличение дозы препарата до 20 000,0—30 000,0 мг/кг вызывало через 2—3 часа после введения развитие слабо выраженного угнетения, ослабление реакции на свежий корм, незначительное снижение двигательной активности. Однако указанные симптомы исчезали через 9—10 часов и приходили в норму к концу первых суток. Исследованиями в последующие сроки падежа подопытных животных при этих дозах не было выявлено (таблица). В дозах 35 000,0 и 40 000,0 мг/кг препарат вызывал угнетение двигательной активности, повышение реакции на звуковые раздражители (вздрагивание), частое и поверхностное дыхание, снижение аппетита у мышей на протяжении 8 дней. На 9 сутки опыта пали одна мышь (доза 35 000,0 мг/кг) и две (40 000,0 мг/кг). В эксперименте 100%-ной гибели животных не было установлено, вследствие чего определение средней смертельной дозы не представлялось возможным.

Однократное внутрибрюшинное введение препарата в дозах 2000,0 и 5000,0 мг/кг массы тела не вызывало клинической картины токсикоза у белых мышей и гибели животных не отмечалось. При дальнейшем повышении вводимой дозы отмечена гибель животных. Смерть наступала обычно в течение четырех-восьми суток, а при введении высоких доз — через одни-двое суток.

На основании результатов первичных токсикометрических исследований препарата триолакт при внутрибрюшинном введении, были получены следующие параметры токсичности:  $LD_{50}$  составила 12 719,8 (9 043,4—16 396,2) мг/кг,  $LD_{10}$ —5989,0 мг/кг,  $LD_{0}$ —5000,0 мг/кг,  $LD_{10}$ —5989,0 мг/кг,  $LD_{16}$ —7468,4 мг/кг,  $LD_{84}$ —17 971,1 мг/кг,  $LD_{90}$ —19 450,6 мг/кг,  $LD_{100}$ —20 596,8 мг/кг.

После подкожного введения мышам триолакта в дозах 3 000,0—23 000,0 мг/кг у животных не

отмечали изменений в поведении и общем состоянии. В последующие 14 дней наблюдения гибели животных не было установлено, они адекватно реагировали на раздражители, охотно принимали корм и воду. В дозе 28 000,0 мг/кг препарат вызывал угнетение двигательной активности, снижение аппетита у мышей на протяжении 7 дней. На 6 сутки опыта пала одна мышь. При введении лекарственного средства в дозе 33 000,0 мг/кг у мышей резко ухудшилось общее состояние и наблюдалась потеря аппетита. При этом отмечалось возбуждение, беспорядочное движение по клетке. На 5—6 сутки

эксперимента пало 2 мыши. Доза 38 000,0 мг/кг оказала более выраженное действие. При этом у мышей отмечалось угнетенное состояние, уменьшение двигательной активности, и они не реагировали на внешние раздражители. На 4—6 сутки из данной группы погибли 5 мышей из 10. В эксперименте 100%-ной гибели животных не было установлено и рассчитать  $LD_{50}$  не представлялось возможным. Однако по полученным данным можно сделать вывод, что доза 28 000, мг/кг для белых мышей является пороговой, так как при этой дозе отмечено начало гибели животных.

Таблица

Острая токсичность триолакта при трех способах введения белым мышам

Способ введения								
внутрижелудочный			внутрибрюшинный			подкожный		
Доза, мг/кг	Число погибших мышей	Число мышей в группе	Доза, мг/кг	Число погибших мышей	Число мышей в группе	Доза, мг/кг	Число погибших мышей	Число мышей в группе
5 000	0	10	2 000	0	10	3 000	0	10
10 000	0	10	5 000	0	10	8 000	0	10
15 000	0	10	8 000	2	10	13 000	0	10
20 000	0	10	11 000	4	10	18 000	0	10
25 000	0	10	14 000	6	10	23 000	0	10
30 000	0	10	17 000	8	10	28 000	1	10
35 000	1	10	20 000	9	10	33 000	2	10
40 000	2	10	23 000	10	10	38 000	5	10

В ходе работы у животных, которым вводили триолакт и которые в дальнейшем погибли, развивалась сходная клиническая картина: снижение двигательной активности, дыхание становилось сначала частым и поверхностным, далее глубоким, у большинства особей отмечали нетипичное вынужденное положение, животные издавали писк. У некоторых мышей отмечена усиленная жажда, возбуждение, которое впоследствии сменялось угнетением с последующим угасанием рефлексов и в дальнейшем гибелью. При внутрижелудочном и внутрибрюшинном способе введения изучаемого препарата было характерно втягивание живота у мышей. Клиническая картина интоксикации у мышей была менее выражена при внутрижелудочном и подкожном введении препарата.

Морфологическая картина, обнаруженная при патологоанатомическом вскрытии всех павших животных, которым применяли триолакт как внутрижелудочно, так и внутрибрюшинно и подкожно, была однотипна и характеризовалась нарушением кровообращения, застойной венозной гиперемией внутренних органов брюшной полости, при этом петли кишечника зачастую были вздуты. Со стороны дыхательной системы было зафиксировано, что у большинства павших животных легкие гиперемированы.

Важно отметить, что морфометрическое изучение внутренних органов у выживших экспериментальных мышей не выявило нарушений в их структурной организации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных испытаний нового комплексного антимикробного препарата триолакт установлено, что  $LD_{50}$  изучаемого препарата при внутрижелудочном введении превышает 40 000,0 мг/кг, следовательно, триолакт по степени токсичности относится к IV классу опасности — вещества малоопасные (ГОСТ 12.1.007—76). Пороговой дозой при внутрижелудочном введении препарата можно считать 35 000,0 мг/кг, при подкожном — 28 000,0 мг/кг. При внутрибрюшинном введении  $LD_{50}$  составила 12 719,8 (9 043,4—16 396,2) мг/кг при стандартной ошибке 1050,3.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Валюшкин К. Д.* Рекомендации по применению эффективных методов диагностики, лечения и профилактики маститов у коров: для врачей ветеринарной медицины, зоотехников хозяйств и студентов по специальности «Ветеринарная медицина» и «Зоотехния» / К. Д. Валюшкин, С. Н. Ковальчук, В. В. Петров — Витебск: ВГАВМ, 2005. — 38 с.

2. *Васильев В. В.* Экономический ущерб от молока при маститах коров / В. В. Васильев // Ветеринария. — 2008 — № 1. — С. 32—34.

3. *Ефанова Л. И.* Микрофлора молока и половых путей коров, больных маститом и эндометритом / Л. И. Ефанова, Н. Т. Климов, В. В. Давыдова, Ю. А. Рубцова, Ю. Ю. Крутских // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных, 2009. — С. 168—173.

4. *Климов Н. Т.* Микрофлора секрета вымени клинически здоровых и больных маститом коров / Н. Т. Климов, А. Г. Нежданов, И. Т. Шапошников, О. А. Манжурин, С. С. Першин, В. И. Зимников // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2014. — № 3. — С. 69—71.

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А. Н. Миронова. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.

6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — 2-изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.

## THE TOXICITY OF THE COMPLEX PREPARATION OF TRIOLACT IN THE ACUTE EXPERIMENT

© 2018 G. A. Vostroilova, A. A. Korchagina, I. V. Bryukhova, N. A. Grigorieva, Yu. A. Kantorovich

*State Scientific Institution All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, E-mail: vnivipat@mail.ru*

Received 14.05.2018

**Abstract.** The article considers the issues of studying toxicity in the acute experience of the new integrated antimicrobial drug Triolact for the treatment of mastitis in cows during lactation. Introduction of the drug to white mice was performed once intragastrically using a special probe, as well as subcutaneously and intraperitoneally. The work was carried out on the ICR (CD-1) line of mature white mice, without any clinical health deviations. The mice did not early participate in the experiments. Portable, toxic and lethal doses of the test drug determined in the course of the studies as well as the terms of intoxication development and animal death with a detailed description of the observed clinical picture with a single introduction of the drug with three ways of introduction were determined in the course of the studies. The results of the new complex antimicrobial drug triolact tests proved that  $LD_{50}$  of the investigated drug in intragastric intake exceeds 40 000,0 mg/kg, therefore, triolact in terms of toxicity refers to hazard class IV — low hazard substances (GOST 12.1.007—76). Threshold dose in intragastric introduction can be considered to be 35 000,0 mg/kg, subcutaneous — 28 000,0 mg/kg after intraperitoneal injection  $LD_{50}$  amounted to 12 719,8 (9 043,4—16 396,2) mg/kg with a standard error being 1050,3.

**Keywords:** triolact, acute toxicity, white mice, moderately-lethal dose.

## REFERENCES

1. *Valushkin K. D.* Recommendations on the use of effective methods of diagnosis, treatment and prevention of

mastitis in cows: for doctors of veterinary medicine, livestock farmers and students in the specialty «Veterinary medicine» and «Zootechnics» / K. D. Valushkin, S. N. Kovalchuk, V. V. Petrov — Vitebsk: CSAVM, 2005. — 38 p.

2. *Vasilyev V. V.* Economic damage from the milk in cows mastitis / *V. V. Vasilyev* // *Veterinary medicine*. — 2008 — № 1. — pp. 32—34.

3. *Efanova L. I.* Microflora of milk and genital tract of cows with mastitis and endometritis / *L. I. Efanova, N. T. Klimov, V. V. Davydova, Yu. A. Rubtsova, Yu. Yu. Krutskikh* // *Modern problems of veterinary provision of animals reproductive health*, 2009. — pp. 168—173.

4. *Klimov N. T.* The microflora of the udder secretion of clinically healthy and diseased cows with mastitis / *N. T. Klimov, A. G. Nezhdanov, I. T. Shaposhnikov,*

*A. A. Manjurina, S. S. Pershin, V. I. Zimnikov*// *Issues of normative-legal regulation in veterinary medicine*. — 2014. — No. 3. — pp. 69—71.

5. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one / under the editorship of *A. N. Mironov*. — Moscow: Grif and K, 2012. — 944 p.

6. Manual on the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / edited by *R. U. Khabriev*. — 2nd ed., rev. and enl. — M.: Medicine, 2005. — 832 p.

Востроилова Галина Анатольевна — доктор биологических наук, заведующий лабораторией

Корчагина Анастасия Андреевна — аспирант

Брюхова Ирина Викторовна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Григорьева Наталья Александровна — младший научный сотрудник

Канторович Юлия Алексеевна — младший научный сотрудник

**Vostroilova Galina Anatolevna** — doctor of biology, head of the laboratory

**Korchagina Anastasiya Andreevna** — postgraduate

**Bryukhova Irina Viktorovna** — candidate of veterinary sciences, senior researcher

**Grigorieva Natalya Aleksandrovna** — junior researcher

**Kantorovich Yuliya Alekseevna** — junior researcher

## ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕРИЛЬНОСТИ ПРОТИВОМАСТИТНОГО ПРЕПАРАТА ДИЕНОМАСТ

© 2018 Т. А. Панина, В. В. Левченко, А. Ю. Калугина, Т. Е. Лободина, И. Н. Матушкина

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии, Воронеж, Россия*  
E-mail: vnivipat@mail.ru

Материал поступил в редакцию 17.05.2018 г.

**Аннотация.** Валидация применяемых на практике методов, контролирующих стерильность препаратов, является важной частью системы обеспечения высокого качества получаемой продукции. К ним относится метод мембранной фильтрации.

Проведена валидация метода мембранной фильтрации для контроля стерильности противомаститного препарата Диеномаст.

При выполнении исследований использованы фармакопейные микроорганизмы, тесты подготовки которых проводили в соответствии с существующими требованиями, а также питательные среды, обеспечивающие их рост, и в качестве отрицательного контроля изотонический физиологический раствор и жидкость № 2 для растворения препарата перед фильтрацией.

Проведенные в четыре этапа исследования, подтвердившие стерильность и специфическую активность используемых питательных сред, нейтрализацию антимикробного действия Диеномаста и соблюдение условий асептики при проведении испытания, а также продемонстрировавших обнаружение микроорганизмов в препарате, позволили экспериментально доказать возможность использования метода мембранной фильтрации для определения стерильности противомаститного препарата.

**Ключевые слова:** метод мембранной фильтрации, стерильность, валидация, Диеномаст.

Эффективная терапия клинически выраженного мастита коров в период лактации невозможна без применения качественных противомикробных препаратов. Интрацистернально вводимые лекарственные средства для лактирующих животных, по данным большинства исследователей, должны отвечать следующим требованиям: оказывать максимально выраженное антибактериальное влияние на патогенную микрофлору молочной железы, минимально вредное воздействие на ее паренхиму и функциональное состояние, обладать противовоспалительным действием, быстро выводиться из молочной железы и быть стерильными [3].

Одним из таких антибактериальных препаратов является комплексный препарат Диеномаст. Гентамицина сульфат, входящий в его состав, антибиотик аминогликозидного ряда, обладает широким спектром антимикробного действия. Активно проникая через клеточную мембрану бактерий, он необратимо связывается с 30S субъединицей рибосом, тем самым угнетая синтез белка в микробной клетке.

Второй компонент Диеномаста диоксидин является производным хиноксалина. Его бактерицидный эффект обусловлен активацией свободнорадикального окисления, нарушением биосинтеза ДНК и глубокими структурными изменениями в цитоплазме микробной клетки, что приводит к ее гибели.

Важной задачей контроля качества противомаститных препаратов является валидация методов определения стерильности лекарственных средств. В фармацевтической отрасли термин «валидация» трактуется как: «Процесс уверенности в том, что аналитический метод соответствует действующим принципам GMP и выполняет свое функциональное назначение, т. е. его использование дает ожидаемый результат» [1].

Цель исследования заключалась в валидации методики определения стерильности Диеномаста.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Валидация метода определения стерильности Диеномаста проводилась на трех сериях препара-

та, трех разных партиях питательных сред и с привлечением трех специалистов (для исследования каждым из них по одной серии препарата в разные сроки).

При проведении валидации данной методики использовали следующее оборудование: стерилизатор паровой, прибор вакуумного фильтрования с вакуумным насосом, термостат.

Для исследований использовали архивные образцы Диеномаста, прошедшие испытание на стерильность.

В качестве отрицательного контроля использовали раствор натрия хлорида изотонического 0,9 % для инъекций, применяемого для отмывки мембраны и жидкость № 2 (1 г ферментативного пептона и 1 мл твина-80 в 1000 мл воды) — для растворения препарата перед фильтрацией [4].

Положительными контролями служили фармакопейные тест-микроорганизмы *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Clostridium sporogenes* ATCC 19404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, подготовку которых проводили в соответствии с фармакопейными требованиями [2, 4].

Посевы на тиогликолевой среде инкубировали при температуре  $32,5 \pm 2,5$  °С и на среде Сабуро —  $22,5 \pm 2,5$  °С.

Исследование проводили в четыре этапа для решения следующих задач:

1. Подтверждение стерильности и специфической активности питательных сред, используемых для испытания.
2. Подтверждение нейтрализации антимикробного действия Диеномаста.
3. Демонстрация возможности обнаружения микроорганизмов-контаминантов в Диеномасте.
4. Подтверждение соблюдения условий асептики при проведении испытания.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Контроль стерильности и ростовых свойств питательных сред проводили внесением каждого вида микроорганизмов в количестве 10—100 КОЕ/мл в отдельный объем испытуемой среды и последующем инкубировании в соответствующих условиях. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Контроль стерильности и ростовых свойств питательных сред

Питательные среды		Условия инкубации		Заключение
		Температура	Время	
Жидкая тиогликолевая среда	Тест-штаммы	$32,5 \pm 2,5$ °С	3 сут.	Рост есть. Среда пригодна для использования
	Аэробные бактерии:			
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538			
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027			
	Анаэробные бактерии:			
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404				
Жидкая среда Сабуро	Грибы:	$22,5 \pm 2,5$ °С	5 сут.	Рост есть. Среда пригодна для использования
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231			
	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404			
Жидкая тиогликолевая среда	Без лекарственного препарата и микроорганизма	$32,5 \pm 2,5$ °С	14 сут.	Роста нет. Стерильно
Жидкая среда Сабуро	Без лекарственного препарата и микроорганизма	$22,5 \pm 2,5$ °С	14 сут.	Роста нет. Стерильно

По истечении необходимого времени инкубации трех разных партий питательных сред, контаминированных тест-микроорганизмами, отмечали рост микроорганизмов в виде равномерного помутнения без изменения цвета среды. На питательных средах без лекарственного препарата и тест-микроорганизмов рост отсутствовал, о чем свидетельствовала прозрачность питательных сред по окончании времени инкубации. Таким образом, были подтверждены ростовые свойства и стерильность

тиогликолевой среды и среды Сабуро, изготовленных в лаборатории.

Устранение антимикробного действия Диеномаста осуществляли методом мембранной фильтрации, внося 1 мл взвеси тест-микроорганизма с концентрацией 100 КОЕ/мл в последний объем жидкости для промывания мембранного фильтра, после чего производили посев лекарственного препарата для определения стерильности. Полученные данные предоставлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты изучения эффективности метода мембранной фильтрации для устранения антимикробного действия Диеномаста

Объект посева	Питательная среда	Наличие роста тест-штаммов, дни													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>Bacillus subtilis, ATCC 6633</b>															
Диеномаст	Тиогликолевая	+													
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Clostridium sporogenes ATCC 19404</b>															
Диеномаст	Тиогликолевая	+													
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Candida albicans ATCC 10231</b>															
Диеномаст	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	+												
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

«+» — наличие роста, «-» — отсутствие роста

Наличие роста микроорганизмов на средах указывает на пригодность метода мембранной фильтрации и достаточное количество промывной жидкости для устранения антимикробного действия Диеномаста. При этом отсутствие роста на тиогликолевой среде и среде Сабуро при внесении раствора NaCl 0,9 % и жидкости № 2, используемых соответственно для отмывки мембраны и растворения препарата, указывает на соблюдение правил асептики при проведении испытания.

Возможность обнаружения микроорганизмов-контаминантов в Диеномасте проводили внесением в асептических условиях во флакон со стерильным препаратом 1 мл приготовленной взвеси тест-штаммов с концентрацией 100 КОЕ/мл, после чего производили посев лекарственного препарата для определения его стерильности методом мембран-

ной фильтрации. Полученные результаты представлены в таблице 3.

По окончании инкубации контаминированных образцов трех серий препарата Диеномаст на питательных средах выявлен рост тест-микроорганизмов в виде помутнения среды (табл. 3), что при отсутствии роста на питательных средах с отрицательными контролями свидетельствует о возможности обнаружения микроорганизмов-контаминантов в Диеномасте.

Результаты исследования по определению стерильности Диеномаста, проведенного разными специалистами представлены в таблице 4

По истечении 14 суток инкубации посевов Диеномаста, жидкости, используемой при отмывке мембран и растворителя в тиогликолевой среде и в среде Сабуро роста микроорганизмов не обнаружено.

Таблица 3

Результаты изучения пригодности метода мембранной фильтрации для обнаружения микроорганизмов-, контаминантов в Диеномасте

Объект посева	Питательная среда	Наличие роста тест-штаммов, дни													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<b>Bacillus subtilis ATCC 6633</b>															
Диеномаст	Тиогликолевая	+													
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Staphylococcus aureus ATCC 6538</b>															
Диеномаст	Тиогликолевая	+													
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Clostridium sporogenes ATCC 19404</b>															
Диеномаст	Тиогликолевая	+													
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231															
Диеномаст	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	+												
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404															
Диеномаст	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	+												
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

«+» — наличие роста, «-» — отсутствие роста

Таблица 4

## Результаты определения стерильности Диеномаста

Объект посева	Питательная среда	Наличие роста микроорганизмов, дни													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	
Диеномаст	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Жидкость № 2	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Раствор NaCl 0,9 %	Тиогликолевая	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Сабуро	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

«+» — наличие роста, «-» — отсутствие роста

Следовательно, при проведении испытания на стерильность препарата Диеномаст было получено подтверждение, что все образцы являются стерильными.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При валидации метода мембранной фильтрации при определении стерильности Диеномаста было получено экспериментальное подтверждение его пригодности для этой цели с учетом возможных факторов влияния на достоверность результатов исследования.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров А. В. Международный проект «Созвездие качества 2012». Группа компаний ВИАЛЕК. Тезисы доклада.

2. Гунар О. В. Основы валидации микробиологических методик фармацевтического анализа: Учебное пособие / О. В. Гунар, Н. Г. Сахно, Р. А. Абрамович. — М.: РУДН, 2017. — 221 с.

3. Климов Н. Т. Линдомаст и Диеномаст — это эффективные препараты для терапии мастита у коров в период лактации / Н. Т. Климов, И. Т. Шапошников // Матер. Международной научно-практ. конф. посвященной 100-летию со дня рождения профессора В. А. Акатова «Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных». — Воронеж, 2009. — С. 210—212.

4. ОФС 1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд. — Т. 1. — М., 2015. — С. 925—946. (Федеральная электронная медицинская библиотека) [Электронный ресурс]. — URL.: <http://www.femb.ru/feml> (дата обращения 14.03.2017).

## VALIDATION OF THE METHOD FOR DETERMINING THE STERILITY OF ANTI-MASTITIS DRUG DIENOMAST

© 2018 T. A. Panina, V. V. Levchenko, A. Y. Kalugina, T. E. Lobodina, I. N. Matushkina

SSI All-Russian research veterinary Institute of pathology, pharmacology and therapy, Voronezh, Russia  
E-mail: [vnivpat@mail.ru](mailto:vnivpat@mail.ru)

Received 17.05.2018

**Abstract.** Validation of the methods used in practice, controlling the drugs sterility, is an important part of the system to ensure the high quality of the products. These include the method of membrane filtration.

Validation of membrane filtration method for sterility control anti-mastitis drug Dienomast was conducted.

The studies used pharmacopoeia microorganisms, the tests which were carried out in accordance with the existing requirements, as well as nutrient media, ensuring their growth. As a negative control isotonic saline and liquid number 2 for dissolution of the drug before filtration was applied.

The four-stage studies, which confirmed the sterility and specific activity of the nutrient media used, neutralization of the antimicrobial action of Dienomast and compliance with aseptic conditions during the test, as well as the demonstrated detection of microorganisms in the drug, experimentally proved the possibility of using the membrane filtration method to determine the sterility of the anti-mastitis drug.

**Keywords:** membrane filtration method, sterility, validation, Dienomast.

### REFERENCES

1. Aleksandrov A. V. The international project «Constellation of quality 2012». The group of companies VIALEK. Thesis of reports.

2. Gunar O. V. Fundamentals of validation of microbiological methods of pharmaceutical analysis: textbook / O. V. Gunar, N. D. Sakhno, R. A. Abramovich. — Moscow: RUDN, 2017. — 221 p.

3. Klimov N. T. Lindomast and Dienomast as effective drugs for the treatment of mastitis in cows during lactation /

N. T. Klimov, I. T. Shaposhnikov // Mater. of International scientific practice. conf. dedicated to the 100th anniversary of the birth of Professor V. A. Akatov «Modern problems of veterinary provision of the animals reproductive health». — Voronezh, 2009. — pp. 210—212.

4. OFS 1.2.4.0003.15 Sterility. State Pharmacopoeia of the Russian Federation ed. XIII — Vol. 1. — M., 2015. — pp. 925—946. (Federal electronic medical library) [electronic resource]. — URL.: <http://www.femb.ru/feml> (accessed 14.03.2017).



## ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АМИНОСЕЛЕТОНА ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ НА СВИНОВОДЧЕСКИХ КОМПЛЕКСАХ

© 2018 Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, П. А. Паршин, Л. В. Ческидова,  
И. В. Брюхова, Л. Ю. Сашнина, Ю. А. Канторович, С. С. Карташов

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, Воронеж  
E-mail: gvostroilova@mail.ru*

**Материал поступил в редакцию 18.04.2018 г.**

**Аннотация.** Проведено изучение эффективности аминокселетона при технологическом стрессе поросят в свиноводческом комплексе на трех группах у животных при переводе на доращивание. Первая группа (n = 10) служила контролем, им препараты не применяли. Животным второй группы (n = 10) четырехкратно с интервалом 48 часов вводили внутрь (групповым способом) аминокселетон в дозе 1,0 мл/кг, начиная со второго дня после перевода на доращивание. Животным третьей группы (n = 11) трехкратно с интервалом 48 часов вводили внутримышечно аминокселетон в дозе 0,5 мл/кг, в те же сроки, как и в третьей группе. Установлено, что применение аминокселетона при технологическом стрессе, вызванном переводом поросят на доращивание, оказывает положительное влияние на организм, стимулируя гуморальные факторы естественной резистентности, нормализуя метаболические процессы в организме, способствует лучшей адаптации животных к новым условиям, более эффективной конверсии корма и интенсивному росту.

**Ключевые слова:** поросята, доращивание, стресс, профилактика, аминокселетон.

Современная промышленная технология свиноводства позволяет обеспечить непрерывность производства, повысить рентабельность отрасли, но отдельные элементы индустриальной технологии производства свинины не совсем физиологичны и имеют стрессогенный характер. К наиболее сильным стресс-факторам, сопряженным с промышленной технологией свиноводства, можно отнести ранний отъем поросят от свиноматок, включающим отлучение от матери и формирование новых групп, перевод животных в другое помещение, переход от материнского молока на новый состав рациона, изменение микроклимата и др. [1, 2, 5].

Стрессы наносят большой экономический ущерб, складывающийся из потерь вследствие замедленного роста, снижения продуктивных качеств молодняка и увеличения заболеваемости. Поэтому одним из направлений современной ветеринарной медицины является разработка и внедрение новых препаратов-адаптогенов, снижающих негативное влияние стресс-факторов на животных [1, 5, 6]. Одним из них является аминокселетон — тканевый препарат, полученный с использованием технологии криофракционирования из селезенки крупного рогатого скота.

Целью настоящего исследования являлось изучение стресс-протекторного и адаптогенного действия аминокселетона и возможности применения препарата для коррекции негативного влияния технологического стресса и повышения неспецифической резистентности поросят при переводе на доращивание.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены в свиноводческом комплексе ОАО агрофирма «Ливенское мясо» Ливенского района Орловской области на поросятах 30-ти дневного возраста в период перевода на доращивание. По принципу парных аналогов было сформировано 3 группы. Поросята первой группы (n = 10) служили контролем, им препараты не применяли. Животным второй группы (n = 10) четырехкратно с интервалом 48 часов вводили внутрь (групповым способом) аминокселетон в дозе 1,0 мл/кг, начиная со второго дня после перевода на доращивание. Животным третьей группы (n = 11) трехкратно с интервалом 48 часов вводили внутримышечно аминокселетон в дозе 0,5 мл/кг, в те же сроки, как и поросятам третьей группы. На

протяжении опыта учитывали общее состояние, заболеваемость, падеж, продолжительность заболевания, интенсивность роста. За день до перевода и через 15 дней после перевода на дорастивание было проведено взятие крови для проведения морфологических, биохимических и иммунологических исследований.

Исследования крови проводили на гематологическом анализаторе «АВХMicros 60» и биохимическом анализаторе «Hitachi-902» согласно утвержденным методическим рекомендациям по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных [4] в соответствии с инструкциями к приборам. Бактерицидную (БАСК) и лизоцимную (ЛАСК) активность сыворотки крови, фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ), фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный индекс (ФИ) определяли в соответствии с «Методическими рекомендациями по оцен-

ке и коррекции неспецифической резистентности животных» [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам опыта установлено, что при переводе поросят на дорастивание происходили изменения морфологического состава крови, которые могут рассматриваться, как отражение стрессовой реакции организма. Через 15 дней после перевода на дорастивание у поросят контрольной группы достоверно снизилось количество эритроцитов на 15,3 %, у поросят 1-й опытной группы данный показатель снизился на 6,9 % относительно фоновых значений, но в тоже время по сравнению таковым у поросят контрольной группы был выше на 7,8 %. Во второй опытной группе изменения были аналогичными, но более выраженными — на 5,0 и 9,5 % соответственно (табл. 1).

Таблица 1

*Морфологические показатели крови поросят при применении аминокселетона на фоне технологического стресса*

Показатели	Фон	На 15-й день опыта		
		Контроль	1-я группа	2-я группа
Эритроциты, $10^{12}$ /л	6,78±0,35	5,88±0,29*	6,34±0,18	6,44±0,37
Лейкоциты, $10^9$ /л	18,0±1,56	22,5±1,20*	16,2±1,06*	16,4±2,65
Гемоглобин, г/л	93,2±3,64	88,2±3,72	92,8±1,11	99,3±5,37
Эозинофилы, %	3,40±0,51	1,50±0,50*	2,61±0,32	2,75±0,63
Лимфоциты, %	58,4±5,09	53,8±2,22	55,6±2,06	55,6±2,09

\*  $p < 0,01—0,001$  относительно контроля

Количество лейкоцитов через 15 дней после перевода на дорастивание у поросят контрольной группы достоверно возросло на 25,0 %, у животных опытных групп при применении аминокселетона рост их числа был менее значимым — на 10,0 % (per os) и 8,9 % (подкожно). В то же время у животных 1-й и 2-й опытных групп количество лейкоцитов было ниже аналогичного показателя в контроле на 28,0 и 27,1 % соответственно. Количество эозинофилов у всех подопытных поросят, хотя и в разной степени, было ниже фоновых значений (на 55,9 % — контроль, на 23,2 % — 1-я группа и 2-я — на 19,1 %). Однако у поросят, обработанных аминокселетоном, в конце опыта количество эозинофилов было выше, чем в контроле на 74,0 и 83,3 %.

Применение аминокселетона после перевода на дорастивание не оказывало существенного влияния на количество общего белка, но отмечено перераспределение белковых фракций. Так повышение содержания альбуминов в сыворотке крови поросят при применении аминокселетона per os составило 6,5 % и при подкожном введении — 5,4 % (табл. 2). У поросят контрольной группы наоборот отмечалось уменьшение их количества на 9,8 %. У животных, обработанных аминокселетоном, по сравнению с контролем было ниже количество  $\alpha$ -глобулинов — на 33,1 и 27,9 %,  $\beta$ -глобулинов — на 33,2 и 34,6 % соответственно. Содержание  $\gamma$ -глобулинов в крови поросят контрольной группы достоверно было ниже на 32,2 %, при этом у животных, обработан-

ных аминокселетоном, как рег ос, так и подкожно, этот показатель был выше контрольных значений на 26,7 и 27,4 %. Изменения белкового обмена у поросят контрольной группы свидетельствуют об ответной реакции организма на воздействие стресс-

фактора. Изменения у животных опытных групп характеризуют нормализующее и мобилизующее действие аминокселетона в отношении защитных сил организма в условиях изменения условий существования и течения стресс-реакции.

Таблица 2

Биохимические показатели крови поросят при применении аминокселетона на фоне технологического стресса

Показатели	Фон	На 15-й день опыта		
		Контроль	1-я группа	2-я группа
Общий белок, г/л	52,9±1,97	54,0±2,12	52,0±1,26	52,1±0,90
Альбумины, %	53,4±2,67	48,6±0,89	56,9±2,43**	56,3±2,61**
α-глобулины, %	12,5±1,22	15,4±1,05	10,3±0,55**	11,1±0,40**
β-глобулины, %	14,8±0,90	21,4±1,22*	14,3±1,26**	14,0±0,92**
γ-глобулины, %	19,3±1,64	14,6±1,02*	18,5±1,8*	18,6±1,88*

\*  $p < 0,01-0,001$  относительно начала опыта

\*\*  $p < 0,01-0,001$  относительно контроля

Аминокселетон оказывал положительное влияние на гуморальные факторы естественной резистентности. На 15 день опыта у поросят контрольной группы отмечалось снижение БАСК на 12,9 %, лизоцимной активности на 15,7 % (табл. 3). У животных опытных групп отмечено увеличение этих показателей по сравнению с контролем соответ-

ственно на 24,3 и 25,3 %; 32,6 и 17,6 %. У поросят, которым применяли аминокселетон, установлено усиление фагоцитарной активности лейкоцитов на 19,7 и 20,7 % по сравнению с контролем, а с периодом до воздействия стресс-фактора — на 22,6 и 23,6 %. Аналогичную тенденцию отмечали и в отношении фагоцитарного индекса.

Таблица 3

Иммунологические показатели крови поросят при применении аминокселетона на фоне технологического стресса

Показатели	Фон	На 15-й день опыта		
		Контроль	1-я группа	2-я группа
БАСК, %	54,0±5,91	48,2±3,11	59,9±5,77	60,4±4,13*
ЛАСК, %	3,09±0,22	2,67±0,17	3,54±0,27*	3,14±0,32
ФАЛ, %	20,8±2,25	21,3±2,16	25,5±3,30	25,7±1,31
ФИ	2,32±0,27	2,40±0,18	2,71±0,11	2,54±0,14
Ig общ., г/л	16,9±0,20	15,7±0,33	16,5±0,12*	16,8±0,29*

\*  $p < 0,05$  относительно контроля

Таким образом, аминокселетон способствует поддержанию более высокой бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, фагоцитар-

ной активности лейкоцитов и фагоцитарного индекса на протяжении всего периода адаптации после перевода поросят на доращивание.

Применение аминокселетона, сопровождающееся нормализацией морфологических показателей крови и повышением иммунного статуса, положительно сказалось на клиническом состоянии по-

росят, способствуя повышению их сохранности. Привесы животных, обработанных аминокселетоном, были выше, чем в контроле соответственно на 15,7 и 26,0 % (табл. 4).

Таблица 4

Эффективность применения аминокселетона при профилактике технологического стресса поросят

Показатели	Контроль	1-я группа	2-я группа
Количество поросят в группе	10	10	11
Масса тела поросят в начале опыта, кг	7,20	6,70	6,50
Масса тела поросят через 15 дней, кг	9,10	8,90	8,90
Среднесуточный прирост, г	127,0	147,0	160,0
Разница в привесах, г % к контролю	— 100,0	+20 115,7	+33 126,0

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что применение аминокселетона при технологическом стрессе, вызванном переводом на доразивание, оказывает положительное влияние на организм поросят. Происходит стимуляция гуморальных и клеточных факторов естественной резистентности, нормализуются метаболические процессы, что способствует лучшей адаптации животных к неблагоприятному воздействию стресса, более интенсивному росту поросят.

Препарат способствовал в период адаптации увеличению содержания  $\gamma$ -глобулинов в сыворотке крови опытных поросят по сравнению с контролем на 26,7 и 27,4 %, поддержанию более высокой бактерицидной (на 24,3 и 25,3 %), лизоцимной (на 32,6 и 17,6 %) активности сыворотки крови, фагоцитарной активности лейкоцитов (на 19,7 и 20,7 %). В опытных группах поросят среднесуточные привесы на 15 день опыта по сравнению с контролем были выше на 15,7 и 26,0 %.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бузлама В. С. Общая резистентность животных при стрессе и ее регуляция адаптогенами / В. С. Бузлама // Доклады РАСХН. — 1996. — № 1. — С. 36—38.
2. Мелешкина С. Р. Влияние перегруппировки в разные сроки после отъема на рост поросят / С. Р. Мелешкина, С. В. Волкова // РацВетИнформ, 2015. — № 4 (164). — С. 28—29.
3. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных / А. Г. Шахов [и др.], ГНУ ВНИВИПФиТ, Воронеж, 2005. — 64 с.
4. Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины / А. М. Смирнов, С. В. Шабунин, М. И. Рецкий, И. М. Донник, В. Н. Скира, А. В. Суворов, Л. В. Бабышова // Часть III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных. Научное издание. — М.: РАСХН, 2007. — 418 с.
5. Пахорукова Т. Е. Выращивание поросят-отъемышей / Т. Е. Пахорукова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. — 2003. — № 1. — С. 158—159.
6. Учасов Д. С. Эффективность применения пробиотика «Проваген» при технологическом стрессе у свиней / Д. С. Учасов, Н. И. Ярован, О. Б. Сеин // Вестник Орел ГАУ. — 2013. — № 1. — С. 129—131.

## THE STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF AMINOSELETON AT TECHNOLOGICAL STRESS IN PIG FARMS

© 2018 G. A. Vostroilova, N. A. Khohlova, P. A. Parshin, L. V. Cheskidova,  
I. V. Bryukhova, L. Yu. Sashnina, Yu. A. Kantorovich, S. S. Kartashov

SSI All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh  
E-mail: gvostroilova@mail.ru

Received 18.04.2018

**Abstract.** The study of the effectiveness of aminoseletonone in technological stress of the piglets in the pig-breeding complex on three groups of animals in transition for rearing was conducted. The first group (n = 10) served as a control one, they did not use drugs. Animals of the second group (n = 10) were injected four times with an interval of 48 hours inside (in a group manner) aminocetelone at a dose of 1,0 ml/kg, starting from the second day after transfer to rearing. Animals of the third group (n = 11) were injected intramuscularly three times with an interval of 48 hours at a dose of 0,5 ml/kg, at the same time as in the third group. It was found that the use of aminocetelone for technological stress caused by the transfer of piglets for rearing, has a positive effect on the body, stimulating the humoral factors of natural resistance, normalizing metabolic processes in the body, promoting better adaptation of the animals to new conditions, more effective feed conversion and intensive growth.

**Keywords:** piglets, rearing, stress prevention, aminoseletonone.

#### REFERENCES

1. *Buzlama V. S.* Total resistance of the animals under stress and its regulation by adaptogenes / V. S. Buzlama // Reports of the RAAS. — 1996. — No. 1. — pp. 36—38.
2. *Meleshkina S. R.* Effect of regrouping at various times after weaning on growth of piglets / S. R. Meleshkina, S. V. Volkova // RatcVetInfo, 2015. — No. 4 (164). — pp. 28—29.
3. Guidelines for the assessment and correction of non-specific resistance of animals / A. G. Shakhov et al., SSIV-SUVIPHТ, Voronezh, 2005. — 64 p.
4. New methods of research on the problems of veterinary medicine / A. M. Smirnov, S. V. Shabunin, M. I. Retskiy, I. M. Donnik, V. N. Skira, A. V. Suvorov, L. V. Babyshov // Part III. Research methods on non-communicable diseases in productive animals. Scientific publication. — Moscow: RAAS, 2007. — 418 p.
5. *Pahorukova I. E.* Rearing of weaned piglets / I. E. Pahorukova // Bulletin of Altai State Agrarian University. 2003. — No. 1. — pp. 158—159.
6. *Achasov D. S.* Efficacy of probiotic «Provagene» at technological stress in pigs / D. S. Ochasov, N. I. Yarovan, O. B. Sein // Gazette of Orel SAU. — 2013. — No. 1. — pp. 129—131.

Востроилова Галина Анатольевна — доктор биологических наук, заведующий лабораторией

Хохлова Нина Алексеевна — младший научный сотрудник

Паршин Павел Андреевич — доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий отделом фармакологии

Ческидова Лилия Валерьевна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Брюхова Ирина Викторовна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Сашнина Лариса Юрьевна — доктор ветеринарных наук, заведующая лабораторией

Канторович Юлия Алексеевна — младший научный сотрудник

Карташов Станислав Сергеевич — аспирант

Vostroilova Galina Anatolevna — Doctor of Biology, Head of the Laboratory

Khokhlova Nina Alekseevna — Junior Researcher

Parshin Pavel Andreevich — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of Pharmacology Department

Cheskidova Liliya Valerevna — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher

Bryukhova Irina Viktorovna — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher

Sashnina Larisa Yurevna — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory

Kantorovich Yuliya Alekseevna — Junior Researcher

Kartashov Stanislav Sergeevich — postgraduate

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ И ЭКСПРЕССИЯ ЦИТОХРОМОВ P450 У КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КОЛИСТИНА

© 2018 Е. В. Михайлов, О. Ю. Фоменко, Г. А. Востроилова,  
П. А. Паршин, И. С. Толкачев, В. А. Шмарикова

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, г. Воронеж, Россия  
e-mail: voronezh81@rambler.ru*

Материал поступил в редакцию 23.04.2018 г.

**Аннотация.** Исследование было проведено на самцах белых крыс линии Wistar, содержащихся на общевиварном рационе при свободном доступе к воде. Установлено, что внутримышечное введение раствор колистина с концентрацией 1000 мкг/мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела вызывает существенные изменения паттернов экспрессии генов биотрансформации ксенобиотиков в клетках печени крыс. Показано, что введение данных препаратов вызывает значительное увеличение относительных уровней экспрессии генов *Cyp1a2* и *Cyp3a1*.

При этом выявленные особенности морфо-функционального состояния печени и почек у белых крыс при внутримышечном применении колистина позволяют сделать вывод о том, что его применение не наносило существенного вреда здоровью опытных животных, и после окончания курсового приема можно ожидать возвращения морфологических изменений в физиологическую норму для данного вида животных.

**Ключевые слова:** печень, почки экспрессия, морфо-функциональное состояние, цитохром P450, крысы.

В условиях разнообразных химических воздействий на живой организм в процессе эволюции выработались системы биотрансформации ксенобиотиков, обеспечивающие сохранение и поддержание гомеостаза. В настоящее время большое значение уделяется системе биотрансформации липофильных ксенобиотиков, которая состоит из двух функционально сопряженных фаз. Первая фаза представляет собой энзиматическую биотрансформацию липофильных ксенобиотиков при участии цитохром P 450 — зависимых монооксигеназ, вторая — конъюгацию реактивных метаболитов и гидрофильных соединений. Нарушение согласованного процесса функционирования обеих фаз является одним из общих механизмов, приводящих к изменению гомеостаза и развитию патологических процессов [1].

В настоящее время в литературе имеется значительный объем информации об функциональных и структурных изменениях, развивающихся в организме в результате стрессорного воздействия. Одним из органов-мишеней, реагирующих на воздействие стрессоров изменением функционирования, является печень. Так, под действием стресса перестраивается метаболизм печеночных фер-

ментов, принадлежащих к семейству цитохромов P450 (CYP) [2].

Принято считать, что применение лекарственных препаратов в терапии не оказывает токсического действия на печень и почки. Однако, анализ литературы показывает, что использование препаратов влечения может спровоцировать острую печеночную и почечную недостаточность [3].

Лекарственных поражения печени (ЛПП) известно более 60 лет. ЛПП составляют около 10 % от всех побочных реакций макроорганизма, связанных с применением лекарственных препаратов. В отличие от почек, одинаково страдающих от токсического действия препаратов, вводимых внутривенно и перорально, ЛПП чаще возникают при энтеральном применении, что связано с особенностями кровоснабжения печени и метаболизма в ней лекарственных веществ [4, 5, 6].

ЛПП необходимо диагностировать в более ранние сроки, так как продолжающийся прием лекарственных препаратов, предположительно вызвавших поражение печени, способен многократно усилить тяжесть клинических проявлений и существенно повлиять на исход заболевания в целом. Известно, что метаболизм лекарств в печени осу-

ществляется в две стадии. В результате окислительных реакций первой стадии печеночной биотрансформации с участием монооксигеназ, цитохром С-редуктазы и цитохромов Р450, происходит образование полярных групп и метаболитов. Важная роль в окислительных процессах принадлежит цитохрому Р450, количество которого увеличивается при приеме лекарств и уменьшается при заболеваниях печени. Вторая стадия печеночной биотрансформации происходит с конъюгацией метаболитов, образовавшихся на первой фазе, с различными субстратами (глюкуронизация, конъюгация чужеродных соединений с глутатионом, сульфатация, N-ацетилирование) [7].

Целью настоящего исследования было изучение действия антибактериального препарата колистина, относящегося к группе полимиксинов, на структурную организацию паренхиматозных органов белых крыс и уровни экспрессии цитохромов *Cyp1a1*, *Cyp1a2*, *Cyp2b1* и *Cyp3a1* в тканях печени.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на 6 самцах белых крыс линии Wistar, содержащихся на общевитарном рационе при свободном доступе к воде. Животные были разделены на 2 группы (контрольную и опытную) по 3 головы, подобранные с учетом массы тела и возраста. Животным первой группы производились внутримышечные инъекции основы препарата (монопропиленгликоль, бензиловый спирт, вода для инъекций) с целью учета возможного влияния компонентов основы на экспрессию изучаемых генов. Крысам второй группы ежедневно внутримышечно вводили раствор колистина с концентрацией 1000 мкг/мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела. Через 7 дней после начала эксперимента животные выводились из опыта путем декапитации. При выведении животных из опыта были отобраны образцы тканей печени для проведения молекулярно-биологических исследований и гистологических исследований. Образцы тканей для выделения РНК немедленно замораживали в жидком азоте, а затем переносили в фиксирующую жидкость Intact RNA («Евроген», Россия) и хранили при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до выделения РНК.

Для проведения морфологических исследований образцы печени фиксировались в 10—12 % — ном растворе нейтрального формалина. Затем образцы тканей обезжизивались в возрастающий концентрации этилового спирта, уплотнялись парафином, готовились с парафиновых блоков срезы

толщиной 5—7 мкм, которые окрашивались классическими методами гистологии и просматривались в светооптическом микроскопе [8].

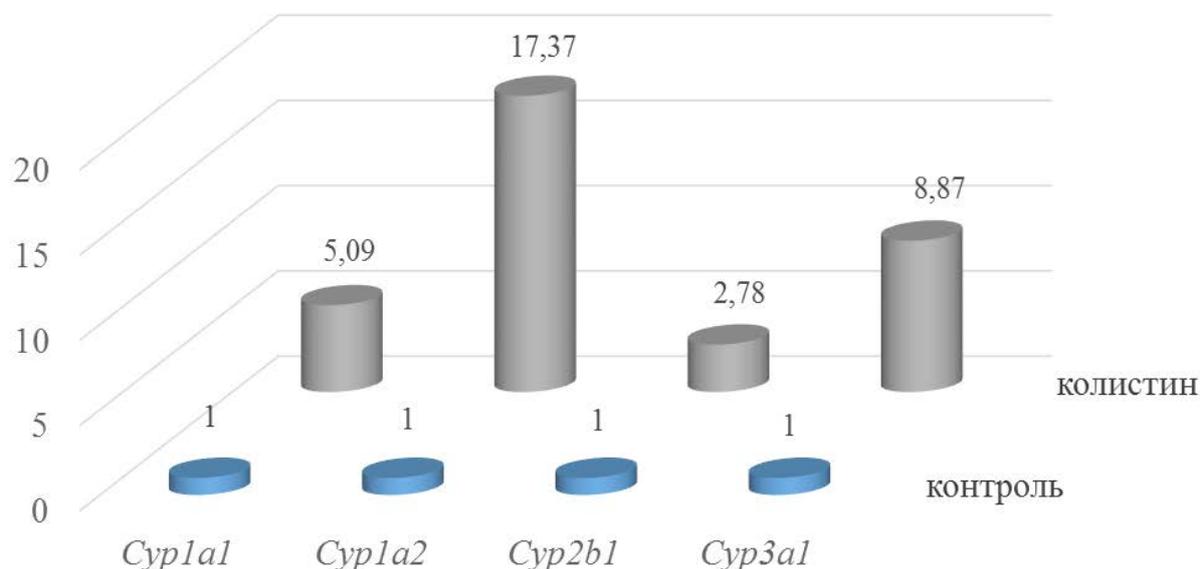
Выделение суммарной клеточной РНК производилось с использованием микроспиновых колонок из набора RNeasy Mini Kit («Qiagen», Германия) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Обратную транскрипцию проводили с использованием ревертазы М—MuLV, RNase H- (СибЭнзим, Россия) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Количественный ПЦР-анализ проводили с применением флуоресцентного красителя SYBR Green I с использованием набора реактивов фирмы «Синтол» (Россия) и разработанных нами генспецифических праймеров на приборе Bio-Rad CFX90 (Bio-Rad, США). Использовались следующие последовательности праймеров: прямой 5'-GAAGAAGCTAATCAAAGAGCACTACAGG-3' и обратный 5'-CAATGCTCAATGAGGCTGTCTG-3' для *Cyp1a1*; прямой 5'-TCCACAT-TCCCAAGGAGTGCT-3' и обратный 5'-TAA-GAAACCGCTCTGGGCG-3' для *Cyp1a2*; прямой 5'-GGCTCACACCGGCTACCAA-3' и обратный 5'-TGAAAACCTCTGAATCTCGTGGATA-3' для *Cyp2b1*; прямой 5'-GTAATACTTGAGGCAA-GAGAAAGGC-3' и обратный 5'-TCGGGTTGTTGAGGGAATCA-3' для *Cyp3a1*. Определение относительного уровня экспрессии исследуемых генов проводили с применением 2- $\Delta\Delta\text{Ct}$ -метода [9].

Нами было показано, что введение колистина с концентрацией 1000 е. а./мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела вызывало резкое увеличение уровней экспрессии цитохромов *Cyp1a2* и *Cyp3a1*. По сравнению с контрольной группой они возросли в 17,37 и 8,87 раза соответственно. Существенных изменений уровней экспрессии цитохромов *Cyp1a1* и *Cyp2b1* в данных условиях обнаружено не было: они увеличивались в 5,09 и 2,78 раза соответственно (рис. 1).

В печени второй группы при внутримышечном введении раствора белым крысам колистина с концентрацией 1000 е. а./мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела, выявлялось, структурная организация органа не изменялась, четко просматривалась балочная структура, клетки печени расходились радиально от центральной вены. Доли печени по периферии окружена едва заметной междольковой соединительной тканью в которой обнаруживались печеночные триады. Однако в гепатоцитах наблюдалось опустошения цитоплазмы и огрубения цитолеммы гепатоцитов под капсулой органа, ядра клеток местами подверже-

ны кариолизису, со стороны сосудистого аппарата отмечено утолщение стенок с умеренной кровенаполненностью. В просвете кровеносных сосудов обнаружены клетки лимфоидного ряда. Отмечена

перивенулярная инфильтрация с незначительными очажками со слабо выраженной полиморфноклеточной инфильтрации и появление в синусоидных капиллярах клеток Купфера (рис. 2).



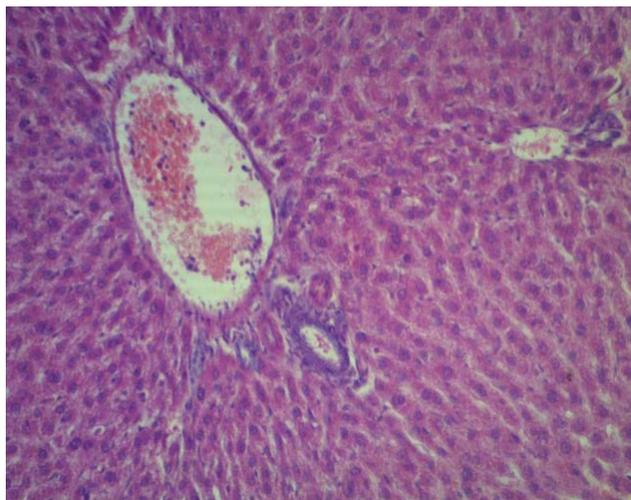
**Рис. 1.** Уровень относительной экспрессии генов некоторых цитохромов Р450 в клетках печени крыс контрольной и опытной групп

В почках второй группы при внутримышечном введении раствора белым крысам колистина с концентрацией 1000 мкг/мл по действующему веществу в дозе 0,1 мл/кг массы тела, архитектура органа была сохранена. В корковом слое просматривались почечные тельца округлой формы, капсула Боумена-Шумлянского не утолщена. Однако, отмечалась кровенаполненность коркового слоя с незначительным расширением извитых канальцев. Почка подвергалась дистрофическим процессам, которые преимущественно затрагивали клетки извитых канальцев. В клетках выстилающего эпителия наблюдались мелкозернистые оксифильные включения с умеренным просветлением цитоплазмы (рис. 3).

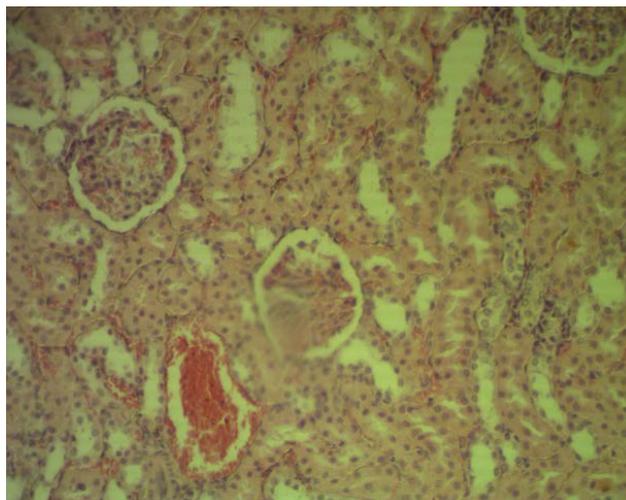
В контрольной группе после внутримышечного введения белым крысам основы препарата (монопропиленгликоль, бензиловый спирт и вода) архитектура печени находилась в пределах физиологической нормы. Радиальное расположение печеночных балок с умеренной дисконкомплексацией к периферии органа, пикнотичность ядер отдельных гепатоцитов и умеренным просветлением цитоплазмы (рис. 4). В почках контрольной группы

при гистологическом исследовании существенных различий в строение органа и нормой не выявлено. Почка состояла из коркового и мозгового слоя, границы этих слоев, четкие. Отмечено незначительное полнокровие коркового слоя (рис. 5).

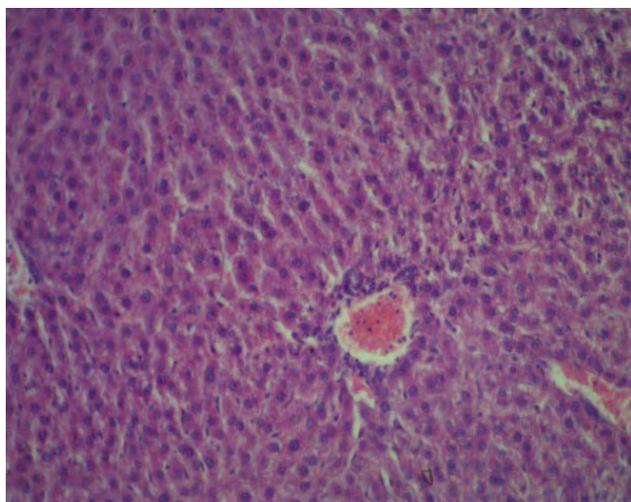
Полученные нами данные позволяют предположить, что резкое повышение уровня экспрессии генов цитохромов Р450 в клетках печени крыс при внутримышечном введении колистина свидетельствует о протекании процессов его биотрансформации в печени. Известно, что в ходе биотрансформации возможно образования токсичных метаболитов и активных форм кислорода. Последние, в свою очередь, являются причиной окисления нуклеиновых кислот и окислительной модификации белков, что может являться одной из причин гепатотоксичности [10]. Однако выявленные морфо-функциональные отклонения в структурной организации печени и почек у крыс после применения колистина показали, что его применение не наносило существенного вреда здоровью опытных животных и после окончания курсового приема можно ожидать возвращения морфологических изменений в физиологическую норму для данного вида животных.



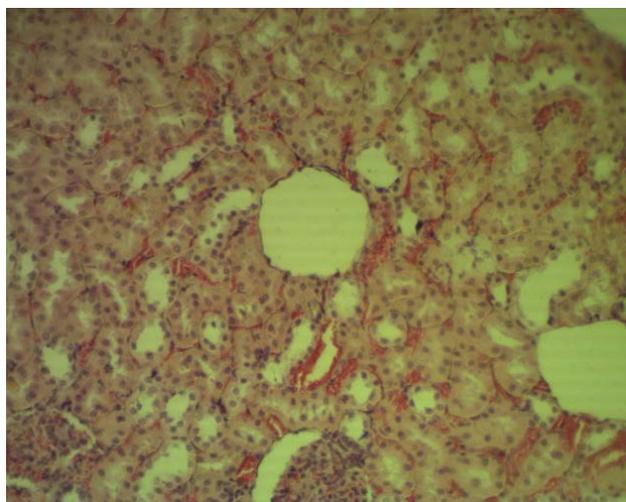
а



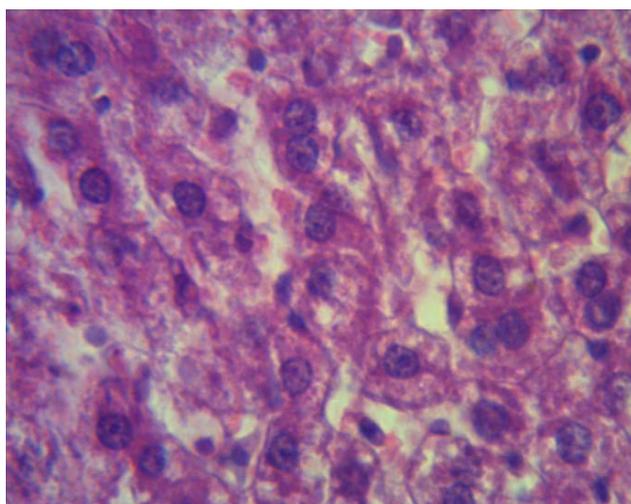
а



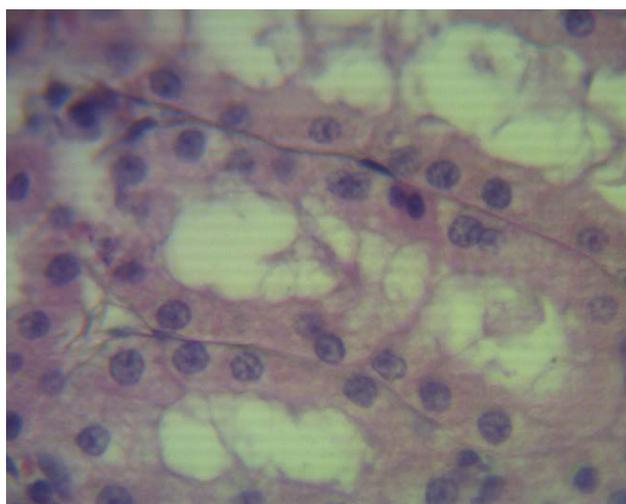
б



б



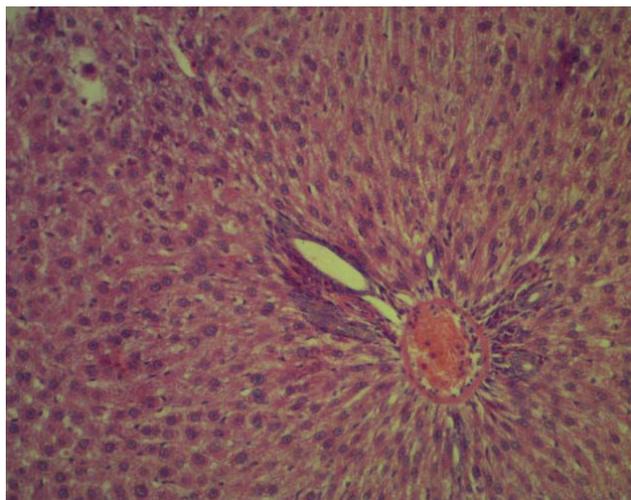
в



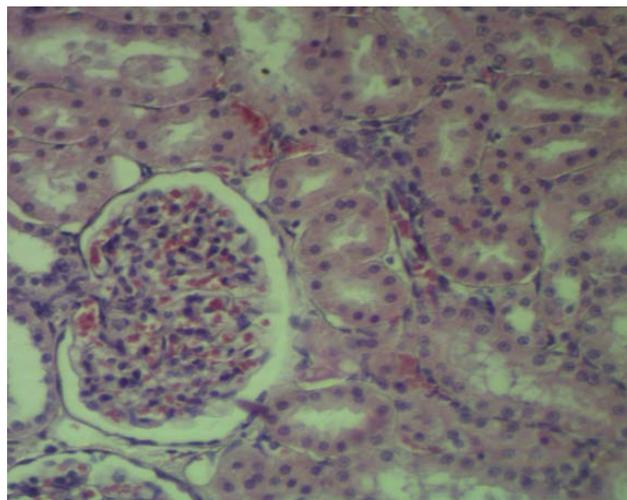
в

**Рис. 2.** Архитектоника печени крыс (опытная группа). Окраска гематоксилин-эозин. Ок. 10 × об. 10 (а, б), × об 40 (в)

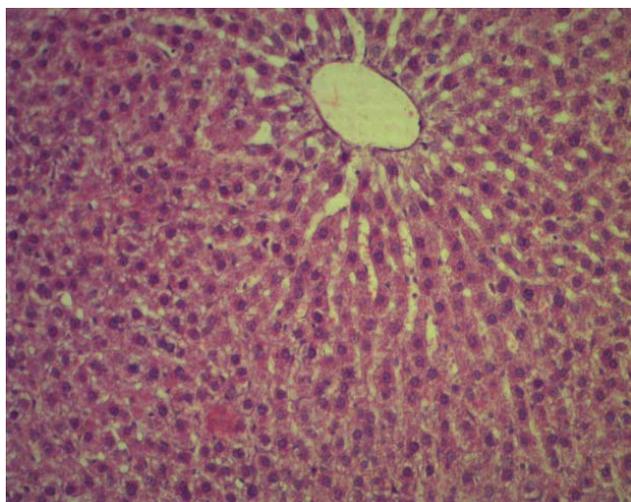
**Рис. 3.** Архитектоника почки крыс (опытная группа). Окраска гематоксилин-эозин. Ок. 10 × об. 10 (а, б), × об 40 (в)



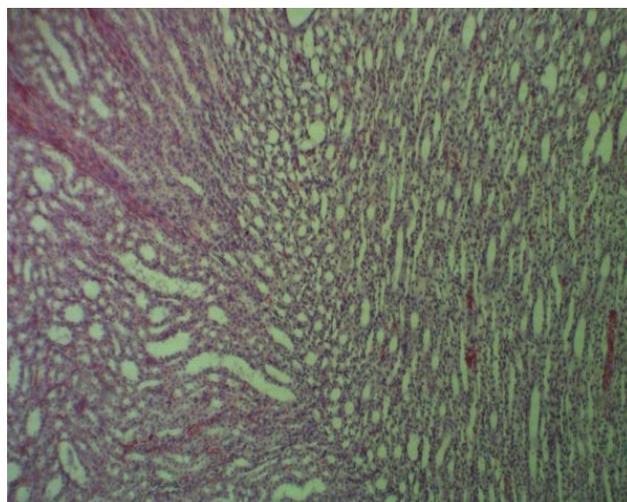
а



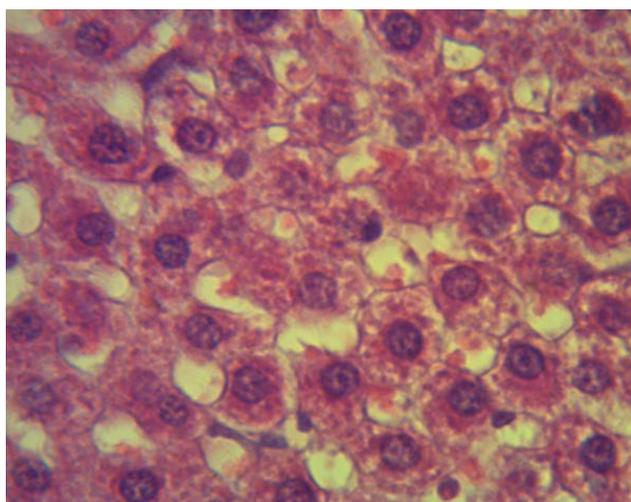
а



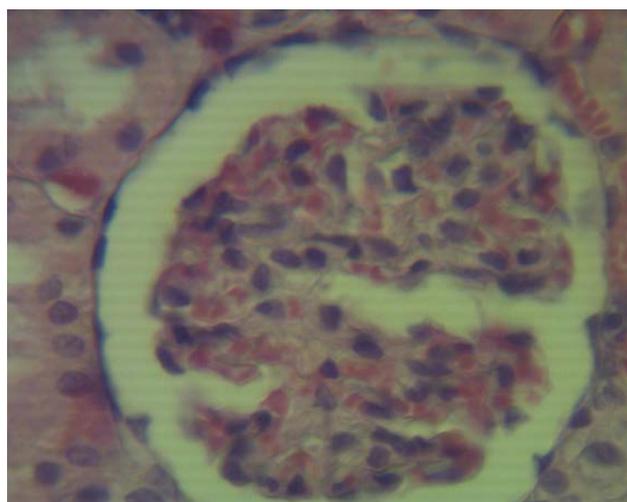
б



б



в



в

**Рис. 4.** Архитектоника печени крыс (контрольная группа). Окраска гематоксилин-эозин. Ок. 10 × об. 10 (а, б), × об 40 (в)

**Рис. 5.** Архитектоника почки и крыс (контрольная группа). Окраска гематоксилин-эозин. Ок. 10 × об. 10 (а, б), × об 40 (в)

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Черняк Ю. И. Цитохром Р 450: основные представления, методы исследования, значение для практической медицины / Ю. И. Черняк, С. И. Колесников, Е. В. Черняк // Учеб. — метод. пособие. — 2-е изд., испр. — Иркутск: Изд-во ИГУ, 2014. — 47 с.
2. Konstandi M. Psychophysiological stress: a significant parameter in drug pharmacokinetics / M. Konstandi // *Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol.* — 2013. — Vol. 9, N10. — P. 317—1334. — doi: 10.1517/17425255.2013.816283.
3. Oral aloe vera-induced hepatitis / M. M. Bottenberg [et al.] // *Ann. Pharmacother.* — 2007. — Vol. 41, N10. — P. 1740—1743.
4. Бабак О. Я. Хронические гепатиты. — 1999. — С. 175—187.
5. Буеверов А. О. Лекарственные поражения печени / А. О. Буеверов // *РМЖ.* — 2001. — Т. 9. — № 13—14.
6. Шерлок Ш, Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей / (Перевод с английского). — Москва, 1999. — С. 386—423.
7. Электронный ресурс/http://provisor.com.ua/archive/2005/N5/art\_20.php// Лекарственные поражения печени: патогенез, классификация, диагностика, лечение / Ю. М. Степанов, А. Ю. Филиппова, И. Н. Кононов, Днепропетровская государственная медицинская академия.
8. Методы морфологических исследований / С. М. Сулейманов, А. В. Гребенщиков, Е. В. Михайлов, И. С. Толкачев и др. // 2-е издание, исправленное и дополненное. — ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж, 2007. — 87 с.
9. Livak K.J Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ Ct method / K. J. Livak, T. D. Schmittgen // *Methods.* — 2001. — v. 25. — p. 402—408.
10. Perazella M. A. Renal Vulnerability to Drug Toxicity / M. A. Perazella // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* — 2009. — v. 4, № 7. — P. 1275—1283.

## STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE PARENCHYMATOUS ORGANS AND EXPRESSION OF CYTOCHROMES P450 IN RATS WITH THE USE OF COLISTIN

© 2018 E. V. Mikhailov, O. Yu. Fomenko, G. A. Vostroilova, P. A. Parshin, I. S. Tolkachev, V. A. Shmarikova

*SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh*  
e-mail: voronezh81@rambler.ru

Received 23.04.2018

**Abstract.** The study was carried out on the males of white rats Wistar kept on the common housing room diet with free access to water. It was found that intramuscular injection of colistin solution with a concentration of 1000  $\mu\text{g}$  / ml of the active substance at a dose of 0.1 ml / kg of the body weight causes significant changes in patterns of expression of xenobiotic biotransformation genes in rat liver cells. It is shown that the introduction of these drugs causes a significant increase in the relative levels of Cyp1a2 and Cyp3a1 of gene expression. At the same time, the revealed features of the morpho-functional state of the liver and kidneys in white rats with intramuscular application of colistin allow to conclude that its use did not cause significant harm to the health of the experimental animals, and after the end of the course, the return of morphological changes to the physiological norm for this species of animals can be expected.

**Keywords:** liver, kidney expression, morpho-functional state, cytochrome P450, rats.

#### REFERENCES

1. Chernyak Y. I. Cytochrome P-450: key concepts, research methods, value for practice of medicine. Textbook Guide / Y. I. Chernyak, S. I. Kolesnikov, E. V. Chernyak. — 2 ed. — Irkutsk: Publishing house of ISU, 2014. — 47 p.
2. Konstandi M. Psychological stress: a significant parameter in drug pharmaceuticals / M. Konstandi // *Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol.* — 2013. — Vol. 9, N10. — P. 317—1334. — doi: 10.1517/17425255.2013.816283.
3. Oral aloe vera-induced hepatitis / M. M. Bottenberg [et al.] // *Ann. Pharmacother.* — 2007. — Vol. 41, N10. — pp. 1740—1743

4. Babak O. I. Chronic hepatitis. — 1999. — pp. 175—187.

5. Buyeverov A. O. Drug-induced liver injury // RMJ. — 2001. — Volume 9, No. 13—14.

6. Sherlock Sh, Dooley J. Diseases of the liver and biliary tract (translated from English). — Moscow, 1999. — pp. 386—423

7. Electronic resource/[http://provisor.com.ua/archive/2005/N5/art\\_20.php](http://provisor.com.ua/archive/2005/N5/art_20.php)// Drug-induced liver injury: pathogenesis, classification, diagnosis, treatment/Yu. M. Stepanov, A. Yu. Filippova, I. N. Kononov, Dnepropetrovsk state medical academy

8. Methods of morphological studies 2nd edition, corrected and supplemented/ S.M Suleymanov, et al. — SSI AVRIPPh and T, Voronezh, 2007. —87 p.

9. Livak K. J, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ Ct method / K. J. Livak, T. D. Schmittgen // Methods. — 2001. — V. 25. — p. 402—408.

10. Perazella M. A. Renal Vulnerability to Drug Toxicity / M. A. Perazella // Clinical Journal of the American Society of Nephrology. — 2009. — v. 4, No. 7. — P. 1275—1283.

Михайлов Евгений Владимирович — кандидат ветеринарных наук, зав. лабораторией

Фоменко Олег Юрьевич — кандидат биологических наук

Востроилова Галина Анатольевна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией

Паршин Павел Андреевич — доктор ветеринарных наук, профессор, заместитель директора

Толкачев Игорь Сергеевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Шмарикова Виктория Александровна — старший лаборант

Mikhailov Evgeniy Vladimirovich — candidate of veterinary sciences, head of the laboratory

Fomenko Oleg Yurievich — candidate of biological sciences

Vostroilova Galina Anatolyevna — doctor of biological Sciences, head of laboratory

Parshin Pavel Andreevich — doctor of veterinary sciences, professor, Deputy Director

Tolkachev Igor Sergeevitch — candidate of biological sciences, senior researcher

Shmarikova Victoria Alexandrovna — senior laboratory assistant

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНИЗАЦИИ В СОЧЕТАНИИ С АНТИМИКРОБНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ И ХИМИОПРОФИЛАКТИКИ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ

© 2018 А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, К. В. Тараканова,  
Н. В. Карманова, Ю. Ю. Владимирова

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
патологии, фармакологии и терапии, г. Воронеж, Россия, 394087  
e-mail: A.G.Shakhov@mail.ru*

Материал поступил в редакцию 20.04.2018 г.

**Аннотация.** Изучена эффективность иммунизации в сочетании с антимикробными препаратами и химиопрофилактики респираторных болезней свиней, вызванных цирковирусом II типа и микоплазмами, относящимся к первичным возбудителям болезней органов дыхания, а также пастереллами и сальмонеллами (вторичные возбудители). Для специфической профилактики респираторных болезней свиней использовали вакцины против цирковироза и микоплазмоза, а для химиопрофилактики — обладающие широким спектром антимикробного действия тилоколин-О, цидисепт — О и доксициклин, которые применяли и иммунизированным животным.

Проведенными исследованиями установлен более выраженный профилактический эффект при вакцинации животных против инфекций, возбудители которых являются первичными патогенами органов дыхания, в сочетании с применением в критический период выращивания (перевод на доращивание) антимикробных препаратов. Химиопрофилактика респираторных болезней свиней по эффективности уступала комплексному применению био- и антимикробных препаратов.

**Ключевые слова:** респираторные болезни свиней, цирковирус II типа, бактерии, профилактика, вакцины, антимикробные препараты.

Одной из основных причин падежа, вынужденного убоя и выбраковки поросят в период доращивания и откорма в промышленных хозяйствах являются респираторные болезни [1, 2, 3].

Ведущую роль в возникновении респираторных болезней свиней играют вирусы (гриппа, репродуктивно-респираторного синдрома свиней, болезни Ауески, цирковирусной инфекции и др.), бактерии (микоплазмы, бордетеллы, гемофилы, пастереллы, кокковая микрофлора и др.), патогенные свойства которых значительно повышаются на фоне снижения естественной резистентности организма и функционирования врожденных механизмов защиты респираторного тракта, в результате воздействия различных стресс-факторов [2, 4, 5, 6].

Одной из эпизоотических особенностей респираторных болезней поросят в промышленных свиноводческих хозяйствах является их сложная этиология, представленная, как правило, ассоциацией различных возбудителей [7, 8, 9, 10].

Для специфической профилактики инфекций, возбудители которых вызывают респираторные болезни у свиней, широко применяют вакцины против репродуктивно-респираторного синдрома свиней, цирковирусной инфекции, болезни Ауески, микоплазмоза, актинобациллезной плеввропневмонии, гемофилеза, пастереллеза и др. [11, 12, 13].

Для химиопрофилактики респираторных болезней свиней и терапии больных пневмонией животных используют различные антибактериальные средства [14, 15].

В системе профилактики вирусных и бактериальных инфекций, возбудители которых принимают участие в возникновении и (или) развитии респираторных болезней свиней, перспективно сочетанное применение вакцины и химиопрепаратов [16, 17].

Ранее нами [18] в стационарно неблагополучном хозяйстве с высокой заболеваемостью животных (на доращивании 37,5—46,9 % и откорме 39,7—44,5 %) респираторными болезнями, вызыва-

емыми ассоциациями возбудителей РРСС, ЦВИС, микоплазмоза, пастереллеза, актинобациллеза, гемофилеоза, сальмонеллеза в различных сочетаниях изучена эффективность специфической профилактики болезней органов дыхания у свиней без применения антимикробных препаратов.

Проведенными исследованиями установлено, что иммунизация поросят против пастереллеза, гемофилеоза и сальмонеллеза, возбудители которых относятся к вторичным патогенам респираторных болезней, предупреждала их возникновение незначительно (заболеваемость составила 35,0 % при 42,2 % без проведения вакцинации), вакцинация против микоплазмоза (первичный возбудитель), пастереллеза и сальмонеллеза обеспечила более выраженный профилактический эффект (заболеваемость 19,0 %) и наиболее высокая эффективность (заболеваемость 14,0 %) установлена при использовании биопрепаратов (вакцин против микоплазмоза, сальмонеллеза, пастереллеза и гемофилеоза), антигенный состав которых максимально соответствовал таковому у бактерий, участвующих в возникновении и/или развитии респираторной патологии.

Цель исследования — изучить эффективность иммунизации в сочетании с антимикробными средствами и химиопрофилактики респираторных болезней свиней.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполнены на свиноводческом комплексе Тамбовской области, рассчитанном на получение и выращивание 54 тыс. поросят. Хозяйство неблагополучно по респираторным болезням с 2012 года. Заболеваемость поросят на доращивании колеблется от 20,0 до 30,0 % с летальностью их до 40,0—50,0 %.

Серологические исследования проводили согласно утвержденным методикам и наставлениям к соответствующим диагностическим наборам в ИФА. Учет результатов иммуноферментного анализа проводили на спектрофотометре с вертикальным ходом луча «Униплан-ТМ». Молекулярно-генетические исследования проводили методом ПЦР с применением соответствующих утвержденных тест-систем, амплификацию ДНК- в программируемом термостате «Терцик ТПЧ-ПЦР01». Для регистрации продуктов ПЦР использовали метод электрофоретического разделения продуктов амплификации в агарозном геле. Бактериологические исследования проводили общепринятыми клас-

сическими методами согласно утвержденным наставлениям.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Из патологического материала от павших и убитых с диагностической целью поросят с респираторной патологией молекулярно-генетическими исследованиями выявили геномы ЦВС-2 (41,7 %) и *M.hyorneumoniae* (29,2 %), бактериологически — изолировали *P.multocida* (20,8 %) и *S.cholerae suis* (25,7 %).

Серологическими исследованиями у животных выявлены антитела в диагностических титрах к циркувирусу II типа в 88,6 % и *M.hyorneumoniae* в 6,8 % случаев.

Опыт проведен на 6 группах животных. Поросят-сосунов 1-й (n = 112), 2-й (n = 109) и 3-й (n = 348) групп в возрасте 18—21 день иммунизировали против циркувирусной инфекции вакциной «Порциллис-PCV» и микоплазмоза — «М+РАС» фирмы «Intervet» и после перевода в 28—30 дневном возрасте на доращивание им в течение 5 дней применяли соответственно тилоколин-О в дозе 0,5 г/10 кг массы тела 1 раз в сутки, цидисепт-О 0,5 мл/кг массы тела и доксициклин согласно наставлению.

В этот же корпус для доращивания переведены поросята 4-й (n = 110), 5-й (n = 117) и 6-й (n = 403) групп такого же возраста, которые не были вакцинированы против указанных инфекций, но по аналогичной схеме обработаны тилоколином-О, цидисептом-О и доксициклином соответственно.

Обоснованием для применения с профилактической целью указанных препаратов явилась их высокая антимикробная активность, которая установлена при изучении ее *in vitro* в отношении наиболее широко циркулирующих в свиноводческих хозяйствах потенциально патогенных микроорганизмов.

Минимальная ингибирующая концентрация комплексного препарата тилоколин-О (тилозин + колистин) в отношении стафилококков составила 0,78—1,65 мкг/мл; стрептококков — 1,56—3,12; пастерелл — 0,39—0,78; эшерихий — 1,56—3,12; сальмонелл — 0,78—3,12 мкг/мл.

Минимальная ингибирующая концентрация неантибиотического препарата цидисепт-О, содержащего в своем составе 0,2 % альдегида циминаля, в отношении стафилококков и стрептококков составила 6,25 мкг/мл; эшерихий, сальмонелл и пастерелл — 12,5 мкг/мл.

Доксициклин оказывает бактериостатическое действие на многие грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, некоторые про-

стейшие и микоплазмы, включая эшерихии, гемофилы, пастереллы, сальмонеллы, стафилококки, стрептококки, клостридии, хламидии, микоплазмы [19].

За животными в течение всего периода доращивания (60 дней) проводили клиническое наблюдение, учитывали заболеваемость, вынужденный убой и падеж от болезней органов дыхания (табл.).

Таблица

Эффективность иммунизации в сочетании с антимикробными препаратами и химиопрофилактики респираторных болезней свиней

Показатели	Группы животных					
	I	II	III	IV	V	VI
Заболело, кол./%	8/7,2	8/7,4	60/17,2	16/14,6	26/22,4	79/19,8
Пало, кол./%	3/2,7	3/2,8	25/7,2	6/5,5	8/6,8	33/8,2
Вынужденно убито, кол./%	1/0,9	1/0,9	5/1,4	2/1,8	4/3,4	7/1,7
Сохранность, кол./%	108/96,4	105/96,3	318/91,4	102/92,7	105/89,8	363/90,1

Из таблицы видно, что наиболее высокий эффект при профилактике респираторных болезней поросят достигнут при вакцинации животных против цирковироза и микоплазмоза в сочетании с применением в критический период выращивания (перевод на доращивание) антимикробных препаратов тилоколин-О, цидисепт-О и доксицилин. Заболеваемость поросят в группах составила 7,2 %, 7,4 % и 17,2 %, сохранность соответственно 97,4 %; 96,3 % и 91,4 %.

Химиопрофилактика респираторных болезней поросят с использованием указанных препаратов по эффективности уступала комплексному применению био- и антимикробных препаратов. Заболеваемость животных в группах составила 14,6 % (тилоколин-О), 19,8 % (доксицилин) и 22,4 % (цидисепт-О), сохранность соответственно 92,7 %, 90,1 % и 89,8 %.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В стационарно неблагополучных свиноводческих хозяйствах по респираторным болезням свиней с учетом их этиологической структуры на фоне общей профилактики целесообразно проводить иммунизацию животных против инфекций, возбудители которых являются первичными патогенами болезней органов дыхания (цирковироз II типа, микоплазмы и др.). Для повышения эффективности специфической профилактики респираторных болезней поросят в критический период их выращивания (перевод на доращивание) применять препараты с широким спектром антимикробного действия.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прудников С. И. Факторные инфекционные болезни свиней на комплексах / С. И. Прудников, В. П. Расколов // Сибирский вестник с.-х. науки. — 1995. — № 1—2. — С. 96—100.
2. Орлянкин Б. Г. Инфекционные респираторные болезни свиней / Б. Орлянкин // Животноводство России. — 2009. — № 5 — С. 35—36
3. Pejsak Z. Lekowrazliwosc bakterii chorobotworczych ukkladu oddechowego swin / Z. Pejsak, A. Jabtoriski, J. Zmudzki // Med. weter. — 2005. — Vol.61, N6. — P. 664—668.
4. Дрю Т. Инфекционная патология респираторного тракта у свиней / Е. Дрю, С. Дон // Проблемы инфекционной патологии свиней. Материалы Всероссийского ветеринарного конгресса по болезням мелких животных. — Москва 21—23 апреля 2007. — С. 16—19.
5. Foti M. Serological survey on Aujeszky's disease, swine influenza and porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections in Italian pigs / Foti M, Bottari T, Daidone A, Rinaldo D., De Leo F, Foti S, Giacobello C. // Pol. J. Vet. Sci. — 2008. — Vol. 11, N4. — P. 32—35.
6. Klinge K. L. Age-dependent resistance to Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication in swine / Klinge K.L, Vaughn E, Roof M.B, Bautista E.M, Murtaugh M. P. // Virol. J. — 2009. — N6. — P. 177—185.
7. Кукушкин С. А. Комплекс респираторных болезней свиней в свиноводческих хозяйствах России / С. А. Кукушкин, Т. З. Байбиков, М. В. Чельшева, В. Ф. Ковалишин // Проблемы инфекционной патологии сви-ней. 15-й Московский междунар. Ветеринарный конгресс по болезням мелких домашних животных, 21—23 сентября 2007. — Москва, 2007. — С. 24—27.
8. Шахов А. Г. Этиология респираторных болезней поросят в промышленных свиноводческих хозяйствах

- и меры их профилактики / А. Шахов, Л. Сашнина, М. Лебедев и др. // Свиноводство. — 2008. — № 5. — С. 26—28.
9. Chiou M. — T. Etiological and epidemiological survey of PRDS associated pathogens in Taiwan / M. — T. Chiou, C. — n. Lin, M. S. Chuang [et al.] // Proc. 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congri — Lumburg, — 2006. — P. 191.
10. Kohne K. Mixed respiratory infections associated with the porcine respiratory disease complex detected with multiplex-PCR/Kohne K., Huebert P. In: Proceeding of the 19th Int. Congress on Pigs Veterinary Society, 2006. — P. 313.
11. Русалеев В. С. Проблемы профилактики респираторных болезней свиней бактериальной этиологии / В. С. Русалеев, В. М. Гневашев, О. В. Прунтова, К. Н. Груздев // Ветеринария. — 2006. — № 7. — С. 18—21.
12. Бак Х. Повышение производительности после комбинированной вакцинации от микоплазмоза и ЦВС-2 / Х. Бак, Э. Нерргард, Б. Ингельхайм // Свиноводство. — 2011. — № 5. — С. 57.
13. Sjolund M, Wallgren P. Field experience with two different vaccination strategies aiming to control infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in a fattening pig herd / Sjolund M, Wallgren P. // Acta Vet. Scand. — 2010. — Vol. 25. — P. 52—63.
14. Кудряшов А. А. Применение флорона 2 % порошка при респираторном синдроме свиней / А. А. Кудряшов, А. А. Климов, Е. М. Степанов. — РацВетИнформ. — 2007. — № 6. — С. 34.
15. Овчеренко А. Ф. Оценка эффективности препарата Драхин на крупной свиноводческой ферме в России / А. Ф. Овчеренко, С. П. Демин, Д. Н. Пилюгин и др. // Ветеринария. — 2008. — № 10 — С. 33—37.
16. Кузнецова Т. С. Эффективность применения премикса и вакцины против респираторных болезней свиней / Т. С. Кузнецова, В. В. Коржов // Ветеринария. — 2008. — № 2 — С. 12—14.
17. Брунне Э. Антибиотики или вакцинация / Э. Брунне, ТТ. Дан, НТТ. Нам, ЛТ. Лунг, ПС. Гианг // Свиноводство. — 2012. — № 6. — С. 55.
18. Шахов А. Г. Специфическая профилактика респираторных болезней бактериальной этиологии / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, М. И. Лебедев, А. И. Никулин // Ветеринарная практика. — 2008. — № 3(42). — С. 52—55.
19. Справочник ВИДАЛЬ «Лекарственные средства для ветеринарного применения в России» М.: Видаль Рус, 2015. 416 с.

## THE EFFICIENCY OF IMMUNIZATION IN COMBINATION WITH ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOPROPHYLAXIS OF PIGS RESPIRATORY DISEASES

© 2018 A. G. Shakhov, L. Yu. Sosnina, K. V. Tarakanova, N. V. Karmanova, Y. Yu. Vladimirova

SSI All-Russian research veterinary Institute of pathology, pharmacology and therapy, Voronezh  
e-mail: A. G. Shakhov@mail.ru

Received 20.04.2018

**Abstract.** The efficiency of immunization in combination with antimicrobial drugs and chemoprophylaxis of respiratory diseases in pigs caused by type II circovirus and mycoplasma related to the primary pathogens of respiratory diseases, as well as pasteurellas and salmonellas (secondary pathogens) was studied. For the specific prophylaxis of respiratory diseases of pigs vaccine against circovirus and mycoplasma were used, and for chemoprophylaxis with a wide spectrum of antimicrobial action tilokolin- O, cidicept-O, which were used for immunized animals.

The studies show more evident preventive effect in the vaccination of the animals against infections, pathogens which are the primary pathogens of the respiratory system, in combination with the use of a critical period of cultivation (transfer to rearing) of antimicrobial agents. Chemoprophylaxis of respiratory diseases of pigs was not so efficient compared to the combined application of bio and antimicrobial agents.

**Keywords:** respiratory diseases of pigs, type II circovirus, bacteria, prevention, vaccines, antimicrobial agents.

### REFERENCES

1. Prudnikov S. I. Factorial infectious diseases of pigs on complexes / S. I. Prudnikov, V. P. Raskolov // Siberian Bulletin of agricultural science. — 1995. — No.1—2. — pp. 96—100.
2. Orlyankin B. G. Infectious respiratory diseases of pigs / B.G.. Orlyankin // Animal Husbandry of Russia. — 2009. — No.5 — pp. 35—36
3. Pejsak Z. Lekowrazliwosc bakterii chorobotworczych ukkladu oddechowego swin / Z. Pejsak, A. Jabtor-

iski, J. Zmudzki // *Med. weter.* — 2005. — Vol.61, N6. — P. 664—668.

4. *Drew T.* Infectious pathology of the respiratory tract in pigs/E. drew, S. don// problems of infectious pathology of pigs. Materials of the all-Russian veterinary congress on diseases of small animals. — Moscow 21—23 April 2007. — P. 16—19.

5. *Foti M.* Serological survey on Aujeszky's disease, swine fluensa and porcine reproductive and respiratory syndrome virus infections in Italian pigs / Foti M, Bottari t, Daidone a, *Rinaldo D.*, De Leo f, Foti S, *Giacopello C.* // *Pol. J. Vet. Sci.* — 2008. — Vol. 11, N4. — pp. 32—35.

6. *Klinge K. L.* Age-dependent resistance to Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication in swine / *Klinge K. L.*, Vaughn E, *Roof M. B.*, *Bautista E. M.*, *Murtaugh M. P.* // *Virol. J.* — 2009. — N6. — P. 177—185.

7. *Kukushkin S. A.* Complex of respiratory diseases of pigs in pig farms of Russia / S. A. Kukushkin, T. Z. Baybikov, M. V. Chelysheva, V. F. Kovalishin // Problems of infectious pathology in Russia. 15-th Moscow international. Veterinary congress on diseases of small pets, 21—23 September 2007. — Moscow, 2007. — pp. 24—27.

8. *Shahs A. G.* Aetiology of respiratory diseases of pigs in industrial pig farms and measures of their prevention / A. Shakhov, L. Sosnina, M. Lebedev, and others.// *Pig breeding.* — 2008. — No. 5. — pp. 26—28.

9. *Chiou M.* — T. Etiological and epidemiological survey of PRDS associated pathogens in Taiwan / M. — T. Chiou, C. — n. Lin, M. S. Chuang [et al.] // *Proc. 18th Int. Pig Vet. Soc. Congri-Lumburg.* — 2006. — P. 191.

10. *Cope K.* Mixed respiratory infections associated with the porcine respiratory disease complex detected with multiplex-PCR/Kohne K., *Huebert P.* In: *Proceeding of the 19th Int. Congress on Pigs Veterinary Society, 2006.* — P. 313.

11. *Rusaleev V. S.* Problems of prevention of respiratory diseases of pigs by bacterial aetiology / V. S. Rusaleev, Gnevashev, V. M., O. V. Pruntova, K. N. Gruzdev // *Veterinary Medicine.* — 2006. — No. 7. — pp. 18—21.

12. *Buck X.* Production improvement after combined vaccination against mycoplasma, and PCV-2 / H. Buck, E. Nerrgard, B. Ingelheim // *Pig breeding.* — 2011. — No. 5. — P. 57.

13. *Sjolund M.*, *Wallgren P.* Field experience with two different vaccination strategies aiming to control infections with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in a fattening pig herd / *Sjolund M.*, *Wallgren P.* // *Acta Vet. Scand.* — 2010. — Vol. 25. — P. 52—63.

14. *Kudryashov A. A.* Application of floron 2 % powder in respiratory syndrome of pigs / A. A. Kudryashov, A. A. Klimov, E. M. Stepanov. — *RatsVetInform.* — 2007. — No. 6. — p. 34.

15. *Ovcharenko A. F.* Assessment of the effectiveness of the drug Draxin on a large pig farm in Russia/ A. F. Ovcharenko, S. P. Dyemin, D. N. Pilyugin, et.al. // *Veterinary medicine.* — 2008. — No10 — pp. 33—37.

16. *Kuznetsova T. S.* The effectiveness of premix and vaccines against respiratory disease of pigs/T. S. Kuznetsova, V. V. Korzhov // *Veterinary medicine.* — 2008. — No. 2 — pp. 12—14.

17. *Bruniey E.* Antibiotics or vaccination / E. *Bruniey T.* Dan, N. T. Num, LT. Lung, PS. Giang // *Pig Breeding.* — 2012. — No. 6. — p. 55.

18. *Shakhov A. G.* Specific prophylaxis of respiratory diseases of bacterial aetiology/A. G. Shakhov, L. Y. Sashnina, M. I. Lebedev, A. I. Nikulin//*Veterinary practice.* — 2008. — № 3 (42). — pp. 52—55.

19. Reference VIDAL «Medicinal products for veterinary use in Russia» M.: Vidal Rus, 2015. 416p.

**Шахов Алексей Гаврилович** — доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник

**Сашнина Лариса Юрьевна** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

**Тараканова Кира Валерьевна** — младший научный сотрудник

**Карманова Наталья Владимировна** — младший научный сотрудник

**Владимирова Юлия Юрьевна** — младший научный сотрудник

**Shakhov Alexey Gavrilovich** — doctor of veterinary sciences, professor, chief researcher

**Sashnina Larisa Yurevna** — doctor of veterinary sciences, chief researcher

**Tarakanova Kira Valeryevna** — junior researcher

**Karmanova Nataliy Vladimirovna** — junior researcher

**Vladimirova Yuliya Yuryevna** — junior researcher

## РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОЙ СХЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИНТЕРФЕРОНА-ТАУ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ПОТЕРЬ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ МОЛОЧНЫХ КОРОВ

© 2018 А. Г. Нежданов, В. И. Михалев, Н. В. Пасько

*ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
патологии, фармакологии и терапии», тел. (8473) 253-92-81  
E-mail: mikhalevvit@yandex.ru*

Материал поступил в редакцию 10.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье представлены материалы по изучению эффективности применения интерферона-тау для повышения результативности осеменения и профилактики внутриутробной гибели эмбриона у молочных коров. Установлено, что оптимальным режимом использования интерферона-тау является его трехкратное введение с 48-часовым интервалом в дозе 5 мл, начиная с 12 дня после осеменения. Эффективность данного способа применения интерферона-тау составила 75,0 %, что на 12,5 % выше в сравнении с двукратным введением в дозе 5 мл, на 37,5 % — в сравнении с однократным введением в дозе 5 мл, на 25,0 % — в сравнении с однократным введением в дозе 10 мл и на 35,0 % — в сравнении с отрицательным контролем. Применение интерферона-тау в оптимальном режиме сопровождается снижением синдрома задержки развития плода в 1,2—2,4 раза по сравнению с другими режимами применения и в 1,98 раза — чем в отрицательном контроле, при отсутствии эмбриональной смертности.

**Ключевые слова:** коровы, внутриутробная гибель, интерферон-тау, прогестерон.

Внутриутробная задержка развития и гибель эмбриона и плода является одной из причин, снижающих плодовитость и темпы воспроизводства высокопродуктивного молочного скота. Актуальность данной патологии определяется высокой частотой встречаемости задержки внутриутробного развития эмбриона и плода и гибели зародыша на этапе имплантации и плацентации. Задержка внутриутробного развития эмбриона и плода регистрируется у 34—37 % коров [1], а внутриутробная гибель эмбриона и плода достигает 20—45 % [1, 2, 3, 4, 6].

Исследованиями, проведенными в предыдущие годы, установлено, что ключевым моментом в развитии патологии беременности (синдром задержки развития плода и его гибели) является нарушение питания зародыша на этапе имплантации и ранней плацентации, связанное с незавершенностью секреторной трансформации эндометрия и задержкой формирования плацентарно-эмбрионального кровотока, вызванного дисбалансом в синтезе половых и кортикостероидных гормонов и системе генерации оксида азота [3].

В физиологических условиях формирования эмбриона достаточный для обеспечения процес-

сов имплантации уровень прогестерона обеспечивается за счет выработки трофобластомой зародыша интерферона-тау, обладающего противовоспалительными свойствами через супрессию рецепторов эстрогенов и окситоцина в эндометрии и блокады выработки простагландина  $F_{2\alpha}$ . Кроме того, интерферон-тау индуцирует лютеиновую устойчивость к действию простагландина  $F_{2\alpha}$ , тем самым обеспечивая выживание желтого тела для поддержания беременности [5]. Максимальной концентрации интерферон-тау у жвачных достигает на 17 день беременности, а затем снижается на 20—22 дни [7].

Интерферон-тау может быть использован в качестве индикатора состояния беременности у крупного рогатого скота.

В связи с этим использование экзогенного интерферона-тау для профилактики нарушений раннего эмбриогенеза является актуальным на современном этапе развития ветеринарной акушерской науки.

**Цель работы** — разработать оптимальную схему применения интерферона-тау для профилактики эмбриональных потерь у высокопродуктивных молочных коров.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по разработке оптимальной схемы применения интерферона-тау для профилактики эмбриональной смертности и задержки развития плода проведены на 53 коровах, разделенных по принципу аналогов на шесть групп.

Животным первой группы (n = 10) препараты не назначали (группа отрицательного контроля).

Коровам второй группы (n = 11) на 12 день после осеменения однократно инъектировали прогестамаг в дозе 2 мл (группа положительного контроля).

Животным третьей группы (n = 8) интерферон-тау вводили однократно в дозе 5 мл на 12 день после осеменения.

Коровам четвертой группы (n = 8) интерферон-тау инъектировали однократно на 12 день после осеменения в дозе 10 мл.

Животным пятой группы (n = 8) интерферон-тау инъектировали по 5 мл дважды — на 12—14 дни после осеменения.

Коровам шестой группы (n = 8) трижды на 12—14—16 дни после осеменения инъектировали по 5 мл интерферона-тау.

День осеменения считается «0» днем.

Клинический контроль за всеми включенными в опыт животными осуществлялся по следующим показателям: повторный приход коров в охоту и дата, УЗИ-диагностика беременности на 28—30 и 60—65 дни после осеменения с использованием линейного датчика с частотой 7,5 МГц.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено (табл.), что оптимальным режимом использования интерферона-тау является его трехкратное введение с 48-часовым интервалом в дозе 5 мл, начиная с 12 дня после осеменения. Эффективность данного способа применения интерферона-тау составила 75,0 %, что на 12,5 % выше в сравнении с двукратным введением в дозе 5 мл, на 37,5 % — в сравнении с однократным введением в дозе 5 мл, на 25,0 % — в сравнении с однократным введением в дозе 10 мл и на 35,0 % — в сравнении с отрицательным контролем. Трехкратное введение интерферона-тау с 48-часовым интервалом сопровождается снижением синдрома задержки развития плода в 1,2—2,4 раза по сравнению с другими режимами применения и в 1,98 раза — чем в отрицательном контроле, при отсутствии эмбриональной смертности.

Таблица

Эффективность применения интерферона-тау для повышения результативности осеменения и профилактики эмбриопатий у молочных коров

№№ п/п	Группа животных	Кол-во коров	Оказались стельными		Эмбриопатии, %, в том числе	
			коров	%	синдром задержки развития плода	внутриутробная гибель
1.	Отрицательный контроль	10	4	40,0	33,3	33,3
2.	Прогестамаг	11	8	72,7	12,5	0,0
3.	Тау-интерферон однократно 5 мл	8	3	37,5	40,0	20,0
4.	Тау-интерферон однократно 10 мл	8	4	50,0	20,0	40,0
5.	Тау-интерферон дважды 5 мл	8	5	62,5	20,0	20,0
6.	Тау-интерферон трижды 5 мл	8	6	75,0	16,7	0,0

Эффективность трехкратного введения интерферона-тау в дозе 5 мл находится на уровне с од-

нократным введением пролонгированного прогестагенного препарата прогестамага (72,7 %).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рациональной схемой применения бычьего рекомбинантного интерферона-тау для повышения результативности осеменения и профилактики внутриутробной гибели является трехкратное его введение в дозе 5 мл/животное с 48-часовым интервалом, начиная с 12 дня после осеменения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дюльгер Г. П. Репродуктивные потери у коров в период плодношения / Г. П. Дюльгер // Ветеринария. Сельскохозяйственные животные. — 2012. — № 11. — С. 30—35.
2. Милованов В. К. Пути устранения потерь в процессе воспроизводства молочного скота / В. К. Милованов, И. И. Соколовская // В кн.: Теория и практика воспроизведения животных. — М.: Колос, 1984. — С. 47—68.
3. Нежданов А. Г. К вопросу внутриутробной гибели и задержки развития зародышей у молочных коров /

А. Г. Нежданов, В. И. Михалев, Г. П. Дюльгер, Е. Г. Лозовая // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2014. — № 3. — С. 120—124.

4. Янчуков И. Пренатальные потери у высокопродуктивных коров / И. Янчуков, В. Панферов, Т. Мороз // Молочное и мясное скотоводство. — 2011. — № 8. — С. 2—4.

5. Hansen T. R. Paracrine and endocrine actions of interferon tau (IFNT). / T. R. Hansen, L.D.P. Sinedino, T. E. Spencer // Reproduction. — 2017. — № 154 (5). — P. 45—59.

6. Humblot A. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing of embryonic mortality and sources of embryonic mortality in ruminants / A. Humblot // Theriogenology. — 2001. — 56. — P. 1417—1433.

7. Kose M. Expression profile of interferon tau-stimulated genes in ovine peripheral blood leukocytes during embryonic death / M. Kose, M. S. Kaya, N. Aydilek et al. // Theriogenology. — 2016. — Apr. — 85 (6). — P. 1161—1166.

## DEVELOPMENT OF OPTIMAL SCHEMES OF APPLICATION OF INTERFERON-TAU FOR THE PREVENTION OF EMBRYONIC LOSS IN HIGH-YIELDING DAIRY COWS

© 2018 A. G. Nezhdanov, V. I. Mikhalev, N. V. Pasko

SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute  
of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh  
e-mail: mikhalevvit@yandex.ru

Received 10.05.2018

**Abstract.** The article presents the materials on the study of the effectiveness of interferon-tau to improve the efficiency of insemination and prevention of intrauterine embryo death in dairy cows. It was found that the optimal mode of interferon-tau application is its triple administration with a 48-hour interval at a dose of 5 ml, starting from the 12th day after insemination. The effectiveness of this method of application of interferon-tau was 75.0 %, which is 12.5 % higher compared to a double dose of 5 ml, 37.5 % — compared with a single dose of 5 ml, 25.0 % — compared with a single dose of 10 ml and 35.0 % — compared with a negative control. The use of interferon-Tau in the optimal mode is accompanied by a decrease in fetal development delay syndrome by 1.2—2.4 times compared to other modes of application and by 1.98 times compared to the negative control, in the absence of embryonic mortality.

**Keywords:** cows, intrauterine death, interferon-tau, progesterone.

## REFERENCES

1. Dyulger G. P. Reproductive losses in cows in the period of pregnancy / G. P. Dyulger // Veterinary medicine. Farm animals. — 2012. — No. 11. — pp. 30—35.
2. Milovanov V. K. Ways of elimination of losses in the process of reproduction of dairy cattle / V. K. Milovanov, I. I. Sokolovskaya // in book.: Theory and practice of animal reproduction. — Moscow: Kolos, 1984. — pp. 47—68.

3. Nezhdanov A. G. To the problem of intrauterine death and delayed development of embryos in dairy cows / A. G. Nezhdanov, V. I. Mikhalev, G. P. Dyulger, E. G. Lozovaya // Questions of normative-legal regulation in veterinary medicine. — 2014. — No. 3. — pp. 120—124.

4. Yanchukov I. Prenatal losses in highly productive cows / I. Yanchukov, V. Panferov, T. Moroz // Dairy and beef cattle. — 2011. — No. 8. — pp. 2—4.

5. Hansen T. R. Paracrine and endocrine actions of interferon tau (ifnt based). / T. R. Hansen, L. D. P. Sinedino, T. E. Spencer // *Reproduction*. — 2017. — No. 154 (5). — pp. 45—59.

6. Humblot A. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing of embryonic mortality and sources of embryonic mortality in ruminants / A. Humblot // *Theriogenology*. — 2001. — 56. — pp. 1417—1433.

7. Kose M. Expression profile of interferon tau-stimulated genes in ovine peripheral blood leukocytes during embryonic death / M. Kose, M. S. Kaya, N. Aydilek et al. // *Theriogenology*. — 2016. — Apr. — 85 (6). — pp. 1161—1166.

.....

**Нежданов Анатолий Григорьевич** — профессор, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

**Михалев Виталий Иванович** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

**Пасько Надежда Валерьевна** — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией

**Nezhdanov Anatoly Grigoryevich** — professor, doctor of veterinary sciences, chief researcher

**Mikhalev Vitaly Ivanovich** — doctor of veterinary sciences, chief researcher

**Pasko Nadezhda Valeryevna** — candidate of biological sciences, head of the laboratory

## ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СТРУКТУРУ ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОРОВ

© 2018 О. Б. Павленко<sup>1</sup>, С. М. Сулейманов<sup>1</sup>, Л. П. Миронова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», г. Воронеж (394087, ул. Мичурина, 1, e-mail: www.vsau.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет», Ростовская обл., Октябрьский район, пос. Персиановский, (346493, ул. Кривошлыкова, 2, e-mail: dongau@mail.ru)

Материал поступил в редакцию 22.05.2018 г.

**Аннотация.** Исследования проводили с целью установления изменений структуры молочной железы у коров под влиянием различных лекарственных препаратов применяемых при лечении субклинического мастита у коров в период сухостоя. Опыты выполнены в условиях молочной фермы учебно-опытного хозяйства «Донское» Ростовской области на 6 сухостойных коровах красной степной породы, у которых диагностировали субклинический мастит. У трех больных коров, субклинический мастит лечили антибиотиком, у трех — пробиотиком, а ультраструктурные исследования провели на базе лаборатории электронной микроскопии НИИ.

При микроскопическом исследовании молочной железы у коров при субклиническом мастите в период сухостоя было установлено, что паренхима железы состояла из системы выводных протоков и концевых секреторных отделов. Альвеолы преимущественно были полиморфными, различной величины, просветы альвеол были суженными и содержали серозную жидкость с обилием жировых и молочных включений. Строма молочной железы была значительно разрыхлена.

В симметричных долях, в которые вводился антибиотик, просветы альвеол более расширены, заполнены секретом, эпителии имели цилиндрическую, призматическую форму, а иногда — вакуолизировались.

При исследовании ультраструктурной организации молочной железы у коров, больных субклиническим маститом, леченных антибиотиком, наблюдали, что в воспалительном инфильтрате находились характерные плазматические и тучные клетки, но они находились в состоянии дистрофии. Среди эпителиальных клеток с секреторными гранулами наблюдали апоптоз.

При терапии субклинического мастита пробиотиком на основе *Bacillus amyloliquefaciens* наблюдали мелкие воспалительно-клеточные инфильтраты из лимфоцитов, гистиоцитов, макрофагов, немногочисленных полинуклеаров — сегментоядерных лейкоцитов. Выполненные исследования свидетельствуют о существенных изменениях в ткани молочной железы у коров при субклиническом мастите после лечения антибиотиками и характеризовались процессами пролиферации клеток паренхимы, разрыхлением и пролиферацией соединительной ткани в альвеолярных перегородках, а после лечения пробиотиками — субклеточная организация молочной железы у сухостойных коров улучшалась за счет гиперпластических процессов.

**Ключевые слова:** коровы, молочная железа, пробиотик, антибиотик, макро-, гисто- и ультраструктура, сухостойный период.

Сухостойный период у коров является очень важным, т. к. в молочной железе происходят выраженные биохимические, иммунологические и клеточные изменения, поэтому к лечению сухостойных коров необходимо подходить ответственно еще и потому, что такое лечение представляет собой профилактику новых случаев возникновения мастита после отелов. В настоящее время разработан ряд средств профилактики и лечения коров при акушерско-гинекологической патологии. Однако практически во все схемы терапии входят антибиотики, специфические биологически актив-

ные вещества (гормоны, простагландины и др.), которые попадают в организм человека с продуктами животноводства. Большая группа антибиотиков трансплацентарно оказывает токсическое влияние на плод, вызывает аллергию у молодняка сельскохозяйственных животных и человека, дисбактериозы и вторичные иммунодефицитные состояния. Поэтому очень важно использовать экологически чистые биологически активные препараты природного происхождения. Они должны обладать высокими терапевтическими свойствами и не снижать санитарное качество молока и мяса [1, 2, 3, 4]. Для

того чтобы научно обоснованно применять для лечения и профилактики мастита различные лекарственные препараты, необходимы знания морфологических и функциональных изменений под влиянием antimicrobных препаратов, различного происхождения.

Целью нашей работы было изучение изменений структуры молочной железы у коров под влиянием различных лекарственных препаратов применяемых при лечении субклинического мастита у коров в период сухостоя.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на молочной ферме учебно-опытного хозяйства «Донское» Ростовской области, а ультраструктурные исследования осуществлялись на базе лаборатории электронной микроскопии НИИ нейрокибернетики им. А. Б. Когана Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону). Диагностику субклинического мастита у сухостойных коров проводили в следующей последовательности: наружный осмотр и пальпация молочной железы, пробное сдаивание с органолептической оценкой секрета, лабораторное исследование секрета. Субклинический мастит в период сухостоя диагностировали с помощью 5,0 % мастидинового теста. В пораженные доли вымени ввели путем однократной инстилляции пробиотик на основе *Bacillus amyloliquefaciens* в дозе 0,3 г, растворенного в стерильном, теплом, изотоническом растворе натрия хлорида, симметричные доли служили контролем, в другие пораженные доли вымени ввели фармоксидин, в дозе 20 мл препарата 2 раза/сут. в течение 1 дня, с предварительным выдаиванием секрета и обработки сосков 70,0 % этиловым спиртом.

Материалом для морфологических исследований молочной железы служили образцы, размером  $10,0 \times 1,0 \times 1,0$  см<sup>3</sup>, затем иссекались образцы (0,05—1,0 см<sup>3</sup>) срединной части органа от 6 больных субклиническим маститом коров, убитых на убойных пунктах по производственной необходимости. Взятие материала производилось в течение первого часа после убоя животного.

Образцы ткани обрабатывались общепринятыми методами для электронно-микроскопического исследования. После промывки в фосфатном буфере (не менее 15 минут) фрагменты ткани дополнительно фиксировались в 1,0 % растворе OsO<sub>4</sub> на фосфатном буфере в течение 1,5 часов. Далее все

образцы ткани обезвоживались в спиртах восходящей концентрации, обрабатывались в ацетоне и были заключены в эпоксидную смолу на основе Эпон-812. Заливка осуществлялась плоскопараллельным методом. Блоки с заключенными в них фрагментами тканей молочной железы далее затачивались на фрезе Leica, или обычным лезвием под стереолупой. С полученных блоков изготавливались полутонкие срезы, которые окрашивались толуидиновым синим или азуром II — основным фуксином и изучались в световом микроскопе для прицельной заточки пирамиды перед приготовлением ультратонких срезов. Ультратонкие срезы толщиной 50 нм изготавливались на ультрамикротоме Ultracut-E (Leica, Германия) с использованием алмазного ножа Diamont (Швейцария), контрастировались уранилацетатом и цитратом свинца и просматривались в трансмиссионном электронном микроскопе Jem 1011 (Jeol, Япония) [6, 7, 8, 9, 10]. Приготовление гистопрепаратов, исследование гистоструктуры молочной железы и лимфатических узлов, морфометрия их структур, статистическая обработка полученных данных и их корреляционный анализ проводились в соответствии методического пособия «Методы морфологических исследований» [5].

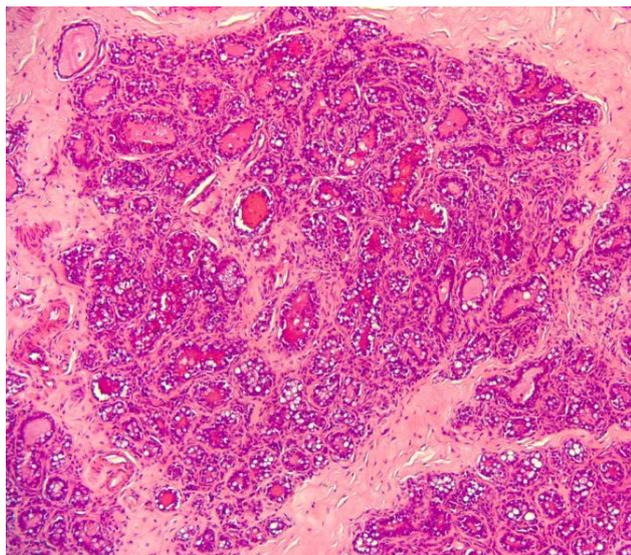
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

При взятии патматериала было отмечено, что макроскопически доли, в которые вводили антибиотик, были желто-коричневого цвета, на разрезе умеренно влажные, несколько суховатыми, симметричные — беловато-розового цвета. Поверхность разреза долей, в которые вводили пробиотик, макроскопически были сочные, по цвету не отличались от симметричных долей вымени.

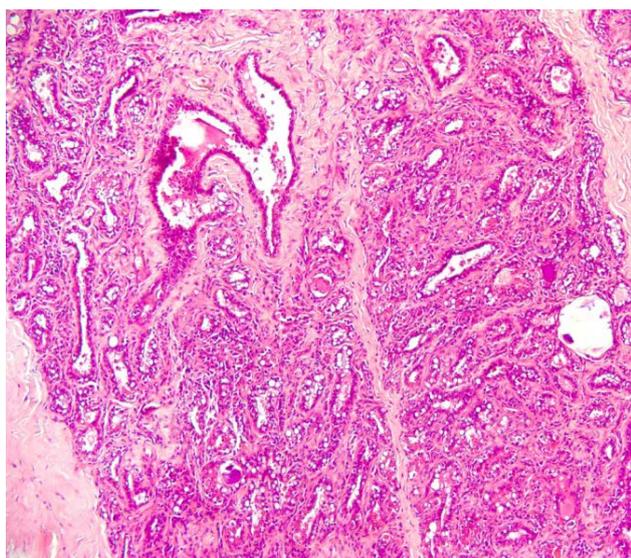
На полутонких срезах молочной железы коров при субклиническом мастите в период сухостоя было установлено, что паренхима железы состояла из системы выводных протоков и концевых секреторных отделов. Альвеолы преимущественно были полиморфными, различной величины, просветы альвеол были суженными и содержали серозную жидкость с обилием жировых и молочных включений (рис. 1, 2).

В альвеолярной жидкости плавали единичные соматические клетки, находящиеся в состоянии дистрофии. Значительно была разрыхлена строма молочной железы. Она местами обильно была инфильтрирована воспалительно-клеточными инфильтратами преимущественно из лимфоцитов,

гистиоцитов, макрофагов и немногочисленных полинуклеаров. Местами альвеолярные перегородки расширялись за счет рыхлой соединительной ткани и кровеносных капилляров (рис. 3, 4). Стенки концевых отделов железы преимущественно состояли из однослойного секреторного эпителия и миоэпителиальных клеток. Лактоциты, выстилающие стенку альвеол, имели призматическую, плоскую форму местами вакуолизировались и значительно отторгались от базальной мембраны альвеол.

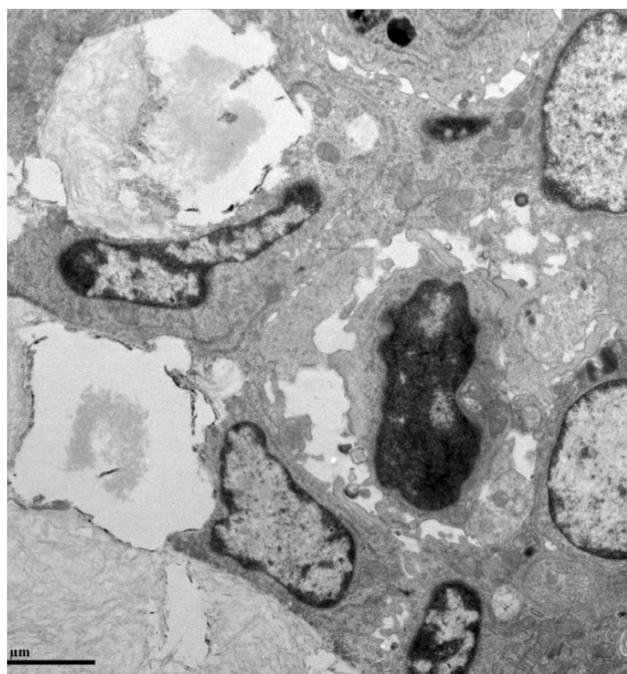


**Рис. 1.** Очаговая отечность стромы молочной железы и пропитывание ее воспалительно-клеточными инфильтратами при субклиническом мастите. ЛЗ доля коровы, леченная антибиотиком. Окр. гем. — эозин. Ув. 200

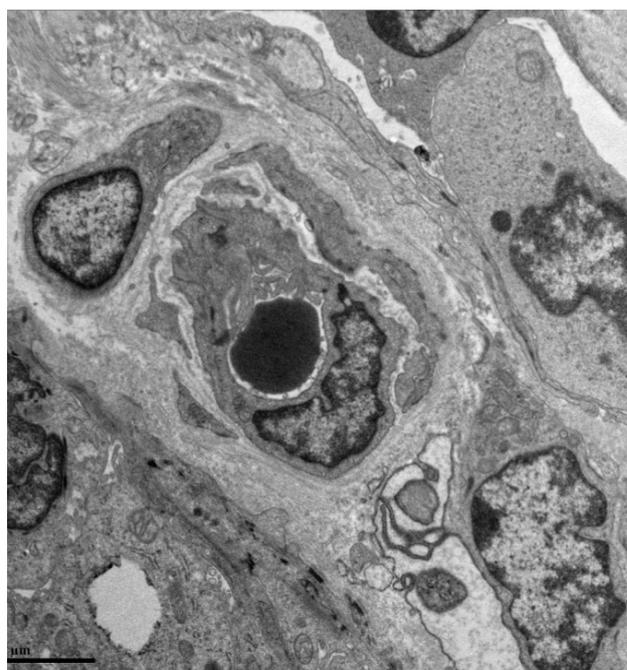


**Рис. 2.** ПЗ доля вымени коровы — симметричная, больной субклиническим маститом без лечения. Ув. 200

В симметричных долях, в которые вводили антибиотик — просветы альвеол более расширены, заполнены секретом, лактоциты имели цилиндрическую, призматическую форму, также отмечалась — вакуолизация. Более четко выражена структура ткани и разrost соединительной ткани.



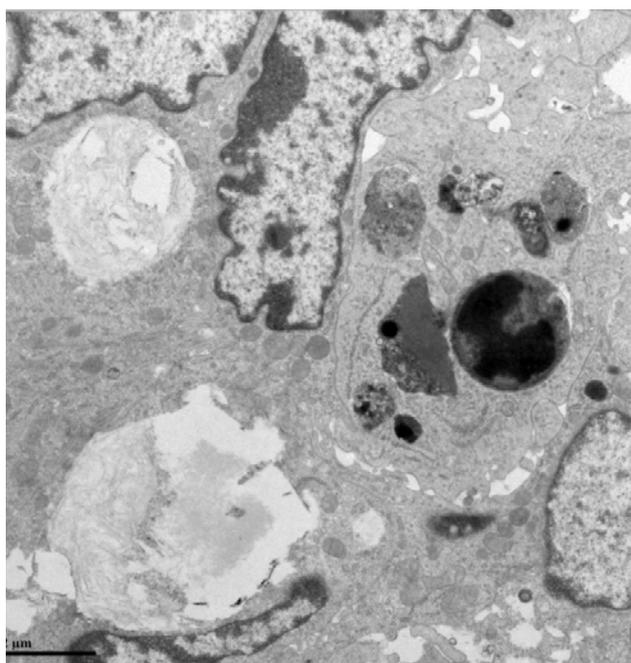
**Рис. 3.** Лимфоцит (по центру) в окружении эпителиальных клеток с гранулами. ЛЗ Ув. 20 000



**Рис. 4.** Сосуд с эритроцитом (в центре). ПЗ. Ув. 20 000

В ультраструктурной организации молочной железы у коров, больных субклиническим маститом, в период сухостоя наблюдались как эпителиальные клетки паренхимы (рис. 6), так и клетки стромы в различных функциональных состояниях, что приведены на рисунках. В воспалительном инфильтрате увеличивалось количество лимфоцитов и лейкоцитов, что свидетельствовало о развитии патологического процесса в ткани молочной железы у коров при субклиническом мастите в период сухостоя.

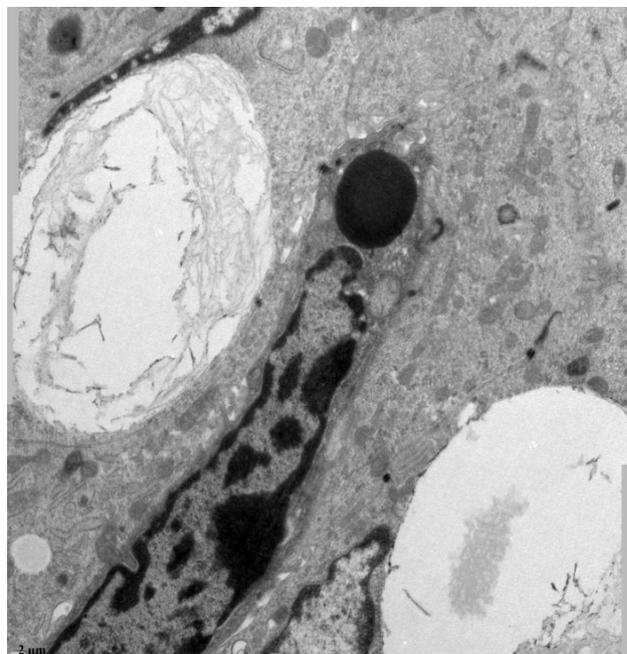
При электронной микроскопии воспалительно-клеточные инфильтраты леченных антибиотиком долей вымени преимущественно состояли из немногочисленных полинуклеарных (сегментоядерных) клеток, а также — лимфоидных, макрофагальных и плазматических клеток. Здесь же изобиловало наличие характерных плазматических и тучных клеток, но в состоянии дистрофии. Среди эпителиальных клеток с секреторными гранулами наблюдалась естественная гибель (апоптоз) эпителия (рис. 5).



**Рис. 5.** Клетка в состоянии апоптоза (по центру, справа). Эпителиальные клетки с секреторными гранулами. Ув. 20 000

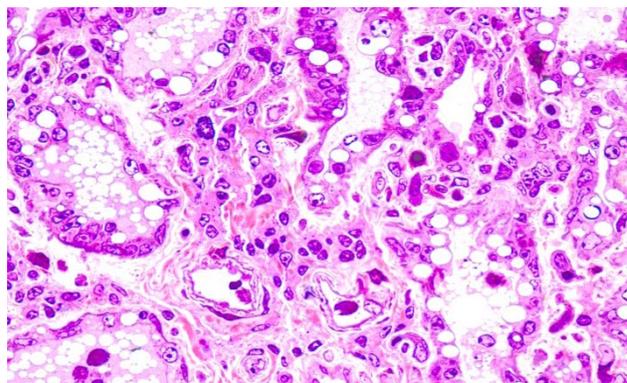
В структурной организации молочной железы у коров при терапии субклинического мастита пробиотиком на основе *Bacillus amyloliquefaciens* наблюдались мелкие воспалительно-клеточные инфильтраты из лимфоцитов, гистиоцитов, макрофагов, немногочисленных полинуклеаров —

сегментоядерных лейкоцитов. На препарате видны концевые отделы долек молочной железы, протоки, выстланные секреторным эпителием. Эпителий с хорошо выраженными ядрами и ядрышками. Хроматин равномерно распределен. (рис. 7).

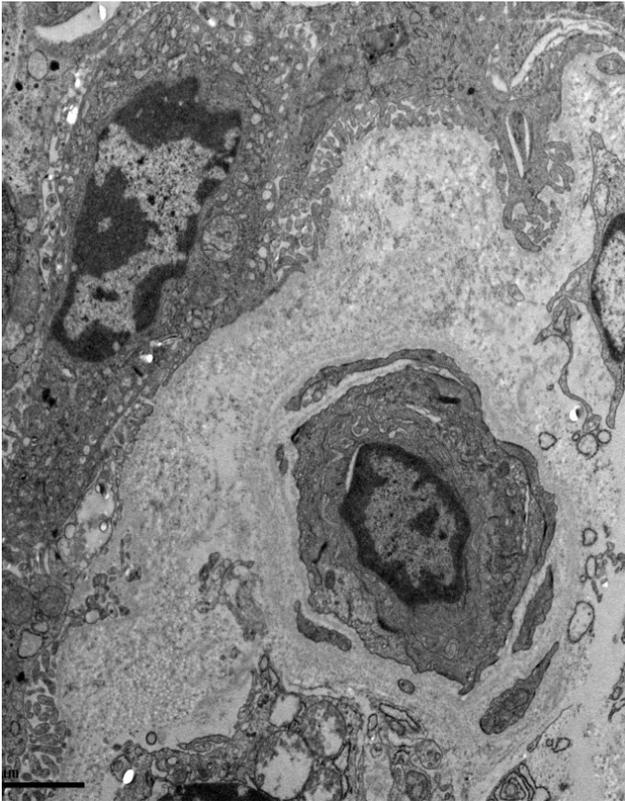


**Рис. 6.** Эпителиальные клетки с секреторными гранулами. Ув. 25 000

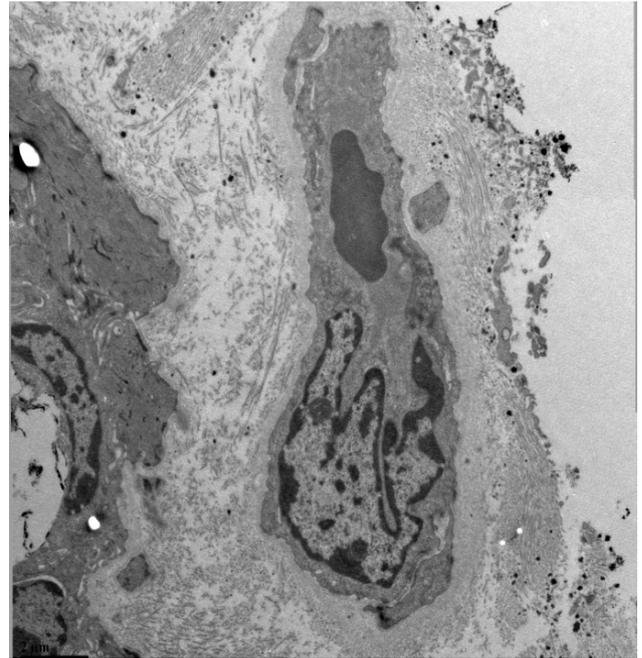
В ультраструктурной организации молочной железы у сухостойных коров, леченных пробиотиком на основе *Bacillus amyloliquefaciens*, наблюдались особенности строения мелких воспалительно-клеточных инфильтратов, состоящих из лимфоидно-макрофагальных клеток (рис. 8, 9, 10, 11).



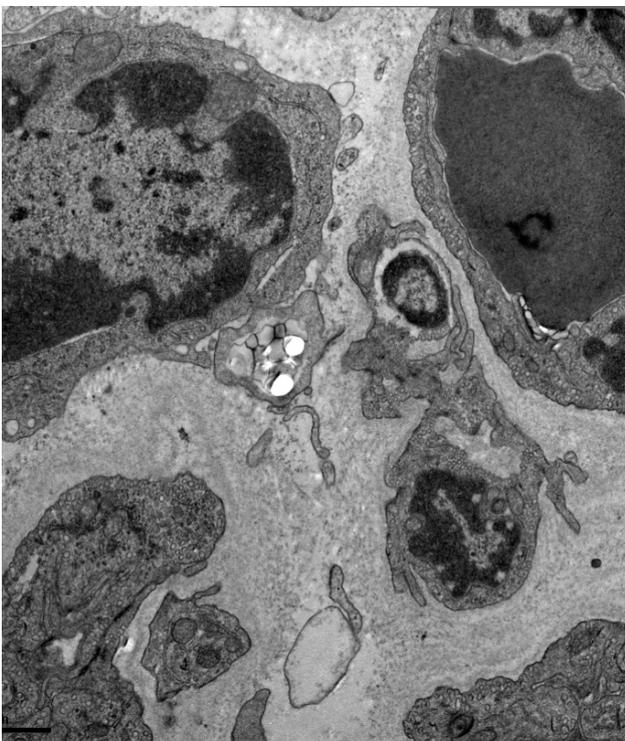
**Рис. 7.** Структурная организация молочной железы у сухостойных коров при терапии субклинического мастита пробиотиком на основе *Bacillus amyloliquefaciens*. Обилие воспалительно-клеточных инфильтратов в строме железы. Ув. x400



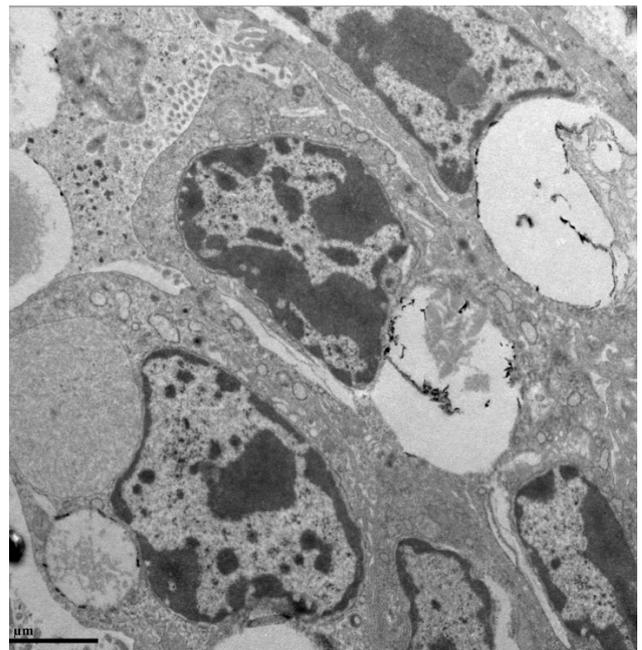
**Рис. 8.** В центре сосуд с перицитами. Ворсинки эпителиальных клеток слева иверху. Ув. x20 000



**Рис. 10.** Капилляр. Ув. x15 000



**Рис. 9.** Слеваверху моноцит (в цитоплазме визуализируются пиноцитозные микро везикулы). Справаверху часть новообразованного сосуда. Ув. x30 000



**Рис. 11.** Лимфоцит (по центру,верху. Чуть ниже эпителиальная клетка, содержащая секреторную гранулу). Ув. x20 000

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у коров при субклиническом мастите в период сухостоя, леченных антибиотиком и пробиотиком макроскопическая структура молочной железы была различной, и микроскопическая структура ее претерпевала значительные клеточ-

ные и субклеточные изменения. Развитие патологии в молочной железе у коров при субклиническом мастите, как в периоде лактации, так и в периоде сухостоя сопровождалось обильным выпотом в альвеолы серозно-катарального экссудата. В воспалительно-клеточном инфильтрате появлялись немногочисленные полинуклеарные (сегментоядерные), а также — лимфоидные, макрофагальные, плазматические и другие клетки. Немаловажным фактом является увеличение количества лимфоцитов и лейкоцитов в воспалительном инфильтрате, что указывало на начало развития патологического процесса в тканях молочной железы. После лечения антибиотиком в гистоструктуре молочной железы отмечали пролиферативную фиброзно-кистозную мастопатию, дольковый вариант, с обилием белковых депозитов в просвете концевых отделов долек и умеренным содержанием липидного материала.

Субклеточная организация молочной железы у сухостойных коров при применении пробиотиков на основе *Bacillus amyloliquefaciens* улучшалась за счет гиперпластических процессов. Мелкие воспалительно-клеточные инфильтраты обновлялись лимфоидно-макрофагальными клетками, происходила стадийная дифференциация плазматических и макрофагальных клеток в молочной железе, расширялось микроциркуляторное русло, которое содержало как моноцитарные клетки, так и формирующиеся кровеносные капилляры.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Данилов М. С. Фитотерапия при маститах у коров / М. С. Данилов, А. Л. Воробьев // Ветеринария. — 2012. — № 2. — С. 41—44.

2. Павленко О. Б. Лечебная эффективность биологического препарата при субклиническом мастите у коров / О. Б. Павленко, Б.А. Булычева // Экологические проблемы в сельскохозяйственном производстве. Материалы молодежной научной конференции. Донской государственный аграрный университет. — 2002. — С. 92—93.

3. Применение афлогилекса для лечения коров с маститом различной этиологии / А. В. Рыбакова [и др.] // Ветеринария. — 2012. — № 1. — С. 35—38.

4. Соловьева О. И., Кауфманн О. Электронная система диагностики субклинического мастита коров // Ветеринария. — 2008. — № 12. — С. 13—17.

5. Сулейманов С. М. Основы морфологических методов исследований: учеб. пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности «Ветеринария», «Зоотехния» / сост. С. М. Сулейманов [и др.] — ВГАУ, Воронеж, — 2015. — 128 с.

6. Bozzola J. J. and Russell L. D. Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists. Boston, Jones and Bartlett Publishers. — 1992.

7. Dabbs D. Diagnostic Immunohistochemistry (2nd edit.). Philadelphia, Churchill Livingstone, Elsevier. — 2006.

8. Genoud Ch., G. W. Knott, K. Sakata, B. Lu, E. Welker. Altered synapse formation in the adult somatosensory cortex of Brain-Derived Neurotrophic Factor heterozygote mice // J. Neurosci. — 2004. — 24. — 10. — p.2394—2400.

9. Potts M. A. Method for location specific histological features for electron microscopy // J. Roy. Micr. Soc. — 1965—85, 1- P. 97—102.

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

## INFLUENCE OF MEDICINES ON STRUCTURE OF TISSUE OF THE MAMMARY GLAND AT COWS

© 2018 O. B. Pavlenko<sup>1</sup>, S. M. Suleymanov<sup>1</sup>, L. P. Mironova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FGBOOU WAUGH «Voronezh State Agricultural University of a name of the emperor Peter I», Voronezh (394087, Michurin St., 1, e-mail: www.vsau.ru)

<sup>2</sup>FGBOOU WAUGH «The Don state agricultural university», Rostov Region, Oktyabrsky district, settlement of Persianovskiy, (346493, Krivoshlykov St., 2, e-mail: dongau@mail.ru)<sup>2</sup>

Received 22.05.2018

**Abstract.** Researches were conducted for the purpose of establishment of changes of structure of a mammary gland at cows under the influence of various medicines applied at treatment of subclinical mastitis at cows in the period of a dead wood. Experiences are executed in the conditions of a dairy farm of educational-experimental farm «Don» of the Rostov region on 6 sukhostoyny cows of red steppe breed for whom diagnosed subclinical mastitis. At three sick cows, subclinical mastitis treated an antibiotic, at three — a probiotic, and have conducted ultrastructural researches on the basis of laboratory of electronic microscopy of scientific research institute.

At a microscopic research of a mammary gland at cows at subclinical mastitis in the period of a dead wood it has been established that the parenchyma of gland consisted of the system of output channels and trailer sekretorny departments. Alveoluses mainly were polymorphic, various size, gleams of alveoluses were narrowed and contained serous liquid with abundance of fatty and dairy inclusions. Strom of a mammary gland has been considerably loosened.

In symmetric shares into which the antibiotic was entered gleams of alveoluses are more expanded, filled with a secret, an epithelium had the cylindrical, prismatic form, and sometimes — vakuolizirovatsya.

At a research of the ultrastructural organization of a mammary gland at the cows sick with subclinical mastitis, lechenny an antibiotic, observed that in inflammatory infiltrate there were characteristic plasmatic and corpulent cages, but they were in a condition of dystrophy. Among epithelialny cages with sekretorny granules observed apoptosis.

At therapy of subclinical mastitis a probiotic on the basis of *Bacillus amyloliquefaciens* observed small inflammatory and cellular infiltrates from lymphocytes, gistiotsit, macrophages, not numerous polinuklear — segmen-toyaderny leukocytes. The executed researches demonstrate essential changes in tissue of a mammary gland at cows at subclinical mastitis after treatment by antibiotics and were characterized by processes of proliferation of cages of a parenchyma, loosening and proliferation of connecting fabric in alveolar partitions, and after treatment by a probiotics — the subcellular organization of a mammary gland at sukhostoyny cows improved due to hyperplastic processes.

**Keywords:** cows, mammary gland, probiotic, antibiotic, macro-, histo- and ultrastructure, sukhostoyny period.

#### REFERENCES

1. Danilov M. S. Phytotherapy at mastitis at cows / M. S. Danilov, A. L. Vorobyov // *Veterinary science*. — 2012. — № 2. — pp. 41—44.
2. Pavlenko O. B. Medical efficiency of biological medicine at subclinical mastitis at cows / O. B. Pavlenko, B. A. Bulycheva // *Environmental problems in agricultural production. Materials of a youth scientific conference. Don-skoy state agricultural university*. — 2002. — pp. 92—93.
3. Application of an aflogileks for treatment of cows with mastitis of various etiology / A. V. Rybakova [etc.] // *Veterinary science*. — 2012. — № 1. — pp. 35—38.
4. Solovyova O. I., Kaufmann O. Electron system of diagnostics of a subclinical mastitis of cows // *Veterinary medicine*. — 2008. — № 12. — pp. 13—17.
5. Suleymanov S. M. Bases of morphological methods of researches: studies. a grant for students of the higher educational institutions studying in «Veterinary science», «Zootechnics» / S. M. Suleymanov [etc.] — VSAU, Voronezh, — 2015. — 128 p.
6. Bozzola J. J. and Russell L. D. *Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists*. Boston, Jones and Bartlett Publishers. — 1992.
7. Dabbs D. *Diagnostic Immunohistochemistry* (2nd edit.). Philadelphia, Churchill Livingstone, Elsevier. — 2006.
8. Genoud Ch., G. W. Knott, K. Sakata, B. Lu, E. Welker. Altered synapse formation in the adult somatosensory cortex of Brain-Derived Neurotrophic Factor heterozygote mice // *J. Neurosci*. — 2004. — 24. — 10. — pp. 2394—2400.
9. Potts M. A. Method for location specific histological features for electron microscopy // *J. Roy. Micr. Soc*. — 1965. — № 85,1. — pp. 97—102.
10. Robinson G., Gray T. *Electron microscopy 2: Tissue preparation, sectioning and staining* // in: *Theory and practice of histological techniques*. (eds. Bancroft JD, Stevens A.), Churchill livingstone, New York. — 1990. — pp. 525—562.

Павленко Ольга Борисовна — доктор биологических наук, профессор кафедры

Сулейманов Сулейман Мухитдинович — доктор ветеринарных наук, профессор кафедры

Миронова Людмила Павловна — доктор ветеринарных наук, профессор, заведующая кафедрой

Pavlenko Olga Borisovna — doctor of biological sciences, the associate professor

Suleymanov Suleyman Mukhitdinovich — doctor of veterinary sciences, the associate professor

Mironova Lyudmila Pavlovna — doctor of veterinary sciences, professor managing department

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ,  
ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

УДК 636.085:615.92

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2018.2.65

КОНТАМИНАЦИЯ КОРМОВ ХОЗЯЙСТВ  
ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ ТЯЖЕЛЫМИ  
МЕТАЛЛАМИ, НИТРАТ- И НИТРИТ-ИОНАМИ

© 2018 Н. Е. Папин, И. Т. Шапошников, В. Н. Коцарев, Ю. Н. Бригадиров

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, г. Воронеж  
e-mail: vnivipat@mail.ru*

Материал поступил в редакцию 14.05.2018 г.

**Аннотация.** Приведены данные по содержанию токсикантов — тяжелых металлов (ртуть, мышьяк, кадмий, свинец), нитрат- и нитрит-ионов в 3 видах кормов (шрот подсолнечный, зернофураж, грубые корма) из хозяйств Аннинского, Лискинского, Павловского, Россошанского и Ольховатского районов Воронежской области. Исследовано 86 проб кормов, в т. ч. 57 проб шрота подсолнечного, 20 проб зернофуража и 9 проб грубых кормов. Установлено, что все образцы кормов загрязнены тяжелыми металлами, нитратами и нитритами. Концентрация экотоксикантов в кормах из хозяйств разных районов была различной и, за исключением зерносмеси из хозяйств Россошанского района, не превышала максимально допустимый уровень (МДУ). В пробах шрота подсолнечного из хозяйств Россошанского района в сравнении с таковыми из хозяйств других районов больше содержалось ртути, мышьяка, кадмия, нитратов и нитритов, а из хозяйств Павловского района — больше свинца. Самые высокие концентрации ртути и мышьяка выявлены в зернофураже из хозяйств Лискинского района. Больше всего кадмия, свинца, нитратов и нитритов содержалось в зернофураже из хозяйств Россошанского района. В пробах грубых кормов из хозяйств этого района была выше концентрация ртути, мышьяка, кадмия, свинца, нитратов и нитритов, чем в аналогичных кормах из хозяйств Павловского района. Таким образом, наиболее загрязненными токсикантами являются корма, принадлежащие хозяйствам Россошанского района, расположенных в зоне промышленных выбросов в атмосферу химкомбинатом по производству минеральных удобрений. С целью предупреждения интоксикации животных корма, содержащие токсиканты, даже в пределах МДУ, использовать для кормления с учетом их количества в рационе и продолжительности скармливания.

**Ключевые слова:** корма, тяжелые металлы, нитрат- и нитрит-ионы, степень насыщенности.

Профессором Н. П. Чирвинским сделан вывод, что «корма и кормление имеют большее значение, чем порода и происхождение» [1]. И это действительно так. Ведь корма необходимы не только для сохранения и поддержания здоровья животных, но и для получения от них достаточного количества качественной продукции, прежде всего, для человека (молоко, мясо, яйцо), а также сырья для медико-биологических и ветеринарных нужд (кровь, железы внутренней секреции, желчь), легкой и перерабатывающей промышленности (шерсть, шкуры, перо, щетина, кости, рога, копыта).

Биологическая ценность кормов зависит от содержания в них необходимых организму питательных веществ (белки, углеводы, липиды, витамины, макро- и микроэлементы, биологически активные

вещества — нуклеотиды, нуклеозиды, пептиды, азотистые основания). Нахождение в кормах различных микроорганизмов и грибов (особенно патогенных) и токсикантов органической и неорганической природы (алкалоиды, гликозиды, тяжелые металлы, пестициды и т. д.) существенно снижают биологическую ценность.

В связи с указанным выше следует знать, что использование животным кормов возможно только после их токсикологической оценки. Проведение последней необходимо с целью предупреждения отравлений животных, их заболевания и гибели, а также сокращения объема и ухудшения качества получаемой от них продукции и возможного ее отрицательного воздействия на человека. Наличие токсикантов в кормах в минимальных количест-

вах снижает их биологическую ценность и усвоение питательных ингредиентов. Присутствие хотя бы одного из этих опасных веществ в корме в концентрации, превышающей МДУ, является запретом к его использованию для кормления животных.

Попадая в клетки органов и тканей организма животных токсиканты блокируют SH-группы и другие активные центры ферментов, вследствие чего нарушаются реакции и процессы метаболизма, что отрицательно влияет на образование энергии, прохождение в клетки и органы нервных импульсов, воспроизводительные функции, иммунитет [2]. В итоге у животных могут возникать различные заболевания. Поэтому знания о наличии и количестве токсикантов в кормах позволяют предупреждать отравления животных, принимать (в случае необходимости) меры лечебного характера и рационально использовать корм.

Учитывая выше указанное, мы проводили токсикологический анализ кормов, для чего исследовали наличие экотоксикантов — тяжелые металлы (ртуть, мышьяк, кадмий, свинец), нитрат- и нитрит-ионы в кормах из хозяйств пяти районов (Аннинский, Лискинский, Павловский, Россошанский, Ольховатский) Воронежской области.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В анализах использовали пробы шрота подсолнечного, зернофуража (кукуруза, пшеница), грубых кормов (сено, солома, сенаж). Определение ртути проводили атомно-абсорбционным методом «холодного пара» [3, 4], а мышьяка — по методу Марша [5]. Кадмий и свинец определяли с использованием атомно-абсорбционного спектрофотометра

[6], а нитрат- и нитрит-ионы — колOMETрическим методом с помощью спектрофотометра СФ-46А [7]. Всего было исследовано 86 проб кормов, в т. ч. 57 проб шрота подсолнечного, 20 проб зернофуража и 9 проб грубых кормов. Полученные данные были обработаны биометрически [8]. Достоверная разница между средними величинами отдельных показателей кормов в пределах статистических рядов составила от  $p < 0,05$  до  $p < 0,001$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных, представленных в таблицах 1—3, показывает, что все исследованные корма на 100 % загрязнены тяжелыми металлами, нитратами и нитритами. Однако, концентрация указанных экотоксикантов в кормах, в т. ч. и в одноименных, из хозяйств разных районов Воронежской области оказалась различной. Так, содержание токсикантов в шроте подсолнечном из хозяйств Аннинского, Лискинского и Павловского районов (см. табл. 1) было в пределах МДУ [9, 10, 11, 12], а в пробах из хозяйств Россошанского района обнаружено больше ртути соответственно на 40,0 % ( $p < 0,01$ ), 40,0 % и 75 % ( $p < 0,05$ ), мышьяка — на 34,1 % ( $p < 0,001$ ), 17,0 % и 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), кадмия — на 22,7 % ( $p < 0,001$ ), 56,6 % ( $p < 0,001$ ) и 22,7 %, нитратов — на 57,0 % ( $p < 0,02$ ), 39,4 % ( $p < 0,05$ ) и 60,6 % ( $p < 0,02$ ), нитритов — на 72,5 % ( $p < 0,001$ ), 9,8 % и 44,0 % ( $p < 0,01$ ). Вместе с тем, в пробах шрота из хозяйств Павловского района содержание свинца превышало аналогичный показатель проб шрота из хозяйств Аннинского, Лискинского и Россошанского районов соответственно в 2,1 раза ( $p < 0,01$ ), на 10,6 % и 52,3 %.

Таблица 1

Содержание токсикантов в шроте подсолнечном

Наименование районов	Токсиканты (мг/кг)					
	ртуть	мышьяк	кадмий	свинец	нитраты	нитриты
1	2	3	4	5	6	7
Аннинский (n = 19)	0,010 ±0,001	0,041 ±0,001	0,185 ±0,001	0,163 ±0,037	138,380 ±13,540	0,910 ±0,082
% от МДУ	50,0	8,2	46,3	32,6	30,8	9,1
Лискинский (n = 15)	0,010 ±0,002	0,047 ±0,004	0,145 ±0,016	0,303 ±0,047	155,870 ±13,310	1,430 ±0,163
% от МДУ	50,0	9,4	36,3	60,6	34,6	14,3

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Павловский (n = 13)	0,008 ±0,002	0,021 ±0,003	0,185 ±0,024	0,335 ±0,040	135,28 ±17,97	1,090 ±0,010
% от МДУ	40,0	4,2	46,3	67,0	30,7	10,9
Россошанский (n = 10)	0,014 ±0,001	0,055 ±0,002	0,227 ±0,007	0,220 ±0,031	217,290 ±26,540	1,570 ±0,152
% от МДУ	70,0	11,0	45,4	44,0	48,3	15,7

Что касается зернофуража (см. табл. 2), то в его пробах из хозяйств Лискинского, Россошанского и Ольховатского районов токсиканты обнаружены также в разном количестве. При этом их содержание в зернофураже из хозяйств этих районов, в основном, колебалось в пределах МДУ [9, 13]. Только содержание нитрат- и ионов в пробах зернофуража из хозяйств Россошанского района превышало МДУ на 0,7 %. Самые высокие концентрации ртути и мышьяка выявлены в зернофураже из хозяйств Лискинского района, в котором в сравнении с пробами зернофуража из хозяйств Россошанского и Ольховатского районов больше содержалось ртути соответственно в 1,5 и 2,7 раза ( $p <$

0,02), мышьяка — в 1,8 раза ( $p < 0,02$ ) и 2,3 раза ( $p < 0,01$ ). Наибольшее количество кадмия, свинца, нитратов и нитритов содержалось в зернофураже из хозяйств Россошанского района. Из упомянутых токсикантов в нем была выше концентрация кадмия, чем в зернофураже из хозяйств Лискинского и Ольховатского районов соответственно в 1,5 и 1,7 раза, свинца — в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ) и на 16,9 %, нитратов — в 1,9 раза ( $p < 0,01$ ) и 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), нитритов — в 7,2 раза ( $p < 0,001$ ) и 2,4 раза ( $p < 0,002$ ). Самые низкие уровни ртути и мышьяка обнаружены в зернофураже из хозяйств Ольховатского, а нитрат-ионов и нитрит-ионов — в зернофураже хозяйств Лискинского района.

Таблица 2

Содержание токсикантов в зернофураже

Наименование районов	Токсиканты (мг/кг)					
	ртуть	мышьяк	кадмий	свинец	нитраты	нитриты
Лискинский (n = 6)	0,068 ±0,009	0,087 ±0,003	0,029 ±0,004	0,958 ±0,079	161,390 ±26,15	0,790 ±0,130
% от МДУ	68,0	17,4	5,8	19,2	53,8	7,9
Россошанский (n = 7)	0,046 ±0,007	0,048 ±0,009	0,044 ±0,007	1,863 ±0,071	301,930 ±27,510	5,720 ±0,791
% от МДУ	46,0	9,6	8,8	37,3	100,6	57,2
Ольховатский (n = 7)	0,025 ±0,005	0,038 ±0,012	0,026 ±0,006	1,594 ±0,124	239,02 ±7,95	2,340 ±0,280
% от МДУ	25,0	7,6	5,2	31,9	79,7	23,4

При исследовании грубых кормов установлено (см. табл. 3), что в их пробах из хозяйств Россошанского района содержание ртути, мышьяка, кадмия, свинца, нитратов и нитритов было выше аналогичных показателей аналогичных кормов из

хозяйств Павловского района соответственно на 73,7 % ( $p < 0,02$ ), 24,0 %, 12,7 % ( $p > 0,05$ ), 10,0 % ( $p < 0,02$ ), 138,6 % ( $p < 0,001$ ) и 34,5 % ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, судя по результатам выполненных исследований, наиболее загрязненными токсичными

кантами являются корма, принадлежащие хозяйствам Россошанского района, расположенных в зоне промышленных выбросов в атмосферу химкомбинатом по производству минеральных удобрений.

Определенное и немаловажное значение при использовании кормов животным играет степень их насыщенности токсикантами даже в соответствующих МДУ количествах. Это связано с тем, что тяжелые металлы, нитраты и нитриты обладают свойством аккумулироваться в организме. Поэтому длительное использование кормов с наличием в них токсикантов, даже в допустимых количествах, вследствие их накопления в организме может привести к хронической интоксикации.

При определении степени насыщенности каждого вида корма токсикантами установлено, что в пробах кормов их хозяйств Россошанского района наибольшей по нитратам она оказалась в зернофураже (100,6 %), по кадмию (94,3 %) — в грубых кормах, по ртути (70,0 %) — в шроте подсолнечном; в кормах их хозяйств Лискинского района по ртути (68,0 %) — в зернофураже, по свинцу (60,6 %) — в шроте подсолнечном; в кормах из хозяйств Павловского района по кадмию (83,7 %) — в грубых кормах, по свинцу (67,0 %) — в шроте подсолнечном; в кормах из хозяйств Ольховатского района по нитратам (79,7 %) — в зернофураже и в кормах из хозяйств Аннинского района по ртути (50,0 %) — в шроте подсолнечном.

Таблица 3

Содержание токсикантов в грубых кормах

Наименование районов	Токсиканты (мг/кг)					
	ртуть	мышьяк	кадмий	свинец	нитраты	нитриты
Павловский (n = 4)	0,019 ±0,002	0,196 ±0,011	0,251 ±0,010	1,728 ±0,028	334,140 ±35,510	3,850 ±0,250
% от МДУ	38,0	39,2	83,7	36,0	33,4	38,5
Россошанский (n = 5)	0,033 ±0,004	0,243 ±0,016	0,283 ±0,010	1,900 ±0,050	797,250 ±69,230	5,180 ±0,390
% от МДУ	66,0	48,6	94,3	38,0	79,7	51,8

Исходя из полученных результатов считаем, что на корма, содержащие токсиканты, даже в пределах МДУ, следует обращать особое внимание и использовать в кормлении животных только с учетом их количества в рационе и продолжительности скармливания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чирвинский Н. П. Изменение сельскохозяйственных животных под влиянием обильного и скудного питания в молодом возрасте //Изд. соч. — М., 1949. — Т. 1. — С. 127—147.
2. Жуленко В. Н. Ветеринарная токсикология /В.Н. Жуленко, М. И. Рабинович, Г. А. Таланов. — М.: Колос, 2002. — 384 с.
3. ГОСТ 26927—86. Сырье и пищевые продукты. Метод определения ртути. М., «Стандартинформ», 2010. — 15 с.
4. МИ 2740—2002. Методика выполнения измерений атомно-абсорбционным методом. Массовая доля общей ртути в пищевых продуктах и продовольственном сырье.
5. ГОСТ 26930—86. Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка. — М., «Стандартинформ», 2010. — 13 с.
6. ГОСТ 30692—2000. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Атомно-абсорбционный метод определения содержания меди, свинца, цинка и кадмия. — М. «Издательство стандартов», 2001. — 13 с.
7. Методические указания по диагностике, профилактике и лечению отравлений сельскохозяйственных животных нитратами и нитритами /Ветеринарное законодательство. — М., 1988. — Т. 4. — С. 630—646.
8. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии / В.С. Асатиани. — М.: Наука, 1965. — 544 с.
9. Технический регламент таможенного союза. ТР ТС 015/2011, утв. 09.12.2011 г., № 874.
10. Решение Комиссии таможенного союза от 17.08.2010 г., № 342.
11. ГОСТ 11246—96. Шрот подсолнечный. Технические условия. М. «Издательство стандартов», 2010. — 18 с.
12. ГОСТ 80—96. Жмых подсолнечный. Технические условия. М. «Издательство стандартов», 2009. — 16 с.

13. Временный максимально допустимый уровень (МДУ) содержания некоторых химических элементов и госсипола в кормах для сельскохозяйственных живот-

ных и кормовых добавках. Утв. ГУВ МСХ СССР, № 123—4/281-8-87. — 2 с.

## CONTAMINATION OF THE FEED ON THE FARMS WITH HEAVY METALS, NITRATE- AND NITRITE-IONS IN THE VORONEZH REGION

© 2018 H. E. Papin, I. T. Shaposhnikov, V. N. Kotsarev, Yu. N. Brigadirov

*SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute  
of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh  
e-mail: vnivipat@mail.ru*

Received 14.05.2018

**Abstract.** The data on the content of toxicants-heavy metals (mercury, arsenic, cadmium, lead), nitrate and nitrite ions in 3 types of feed (sunflower meal, grain forage, roughage) from the farms Anninsky, Liskinsky, Pavlovsky, Rossoshansky and Olkhovatsky districts of the Voronezh region is presented. 86 samples of feed were studied, including 57 samples of sunflower meal, 20 samples of grain forage and 9 samples of coarse feed. It is established that all samples of forages are polluted by heavy metals, nitrates and nitrites. The concentration of eco-toxicants in feed from farms in different areas was different and, with the exception of grain mix from farms in Rossoshansky district, did not exceed the maximum permissible level (MDI). In the samples of sunflower meal from the farms of Rossoshansky district in comparison with those from the farms of other areas contained more mercury, arsenic, cadmium, nitrates and nitrites, and from the farms of Pavlovsky district — more lead. The highest concentrations of mercury and arsenic were found in the grain-forage from the Liskinsky district farms. Most cadmium, lead, nitrates and nitrites were contained in the grain from the farms of Rossoshansky district. Samples of coarse feed from farms in the area contained higher concentrations of mercury, arsenic, cadmium, lead, nitrates and nitrites than similar feed from the farms in the Pavlovsky district. Thus, the most polluted by the toxicants are feed belonging to the farms of the Rossoshansky district, located in the zone of industrial emissions into the atmosphere by the chemical plant for the production of mineral fertilizers. To prevent intoxication of the animals the feed containing toxicants, even within the MDU, should be used, taking into account their amount in the diet and duration of feeding.

**Keywords:** feed, heavy metals, nitrate and nitrite ions, saturation degree.

### REFERENCES

1. Chirvinsky N. P. Changing of farm animals under the influence of abundant and scarce food at a young age // *Op.* — M., 1949. — vol. 1. — pp. 127—147.
2. Zhulenko V.N. *Veterinary toxicology* / V.N Zhulenko, M. I. Rabinovich, G. A. Talanov. — Moscow: Kolos, 2002. — 384 p.
3. GOST 26927—86. Raw materials and food. Method for the determination of mercury. M., «Standartinform», 2010. — 15 p.
4. MI 2740—2002. Measurement procedure by atomic-absorption method. Mass fraction of total mercury in food products and food raw materials.
5. GOST 26930—86. Raw materials and food. Method for the determination of arsenic. — M., «Standartinform», 2010. — 13 p.
6. GOST 30692—2000. Feed, feed stuff, feed raw materials. Atomic absorption method for determination of copper, lead, zinc and cadmium content. — M. «Publishing standards», 2001. — 13 p.
7. Guidelines for the diagnosis, prevention and treatment of poisoning of farm animals with nitrates and nitrites / *Veterinary legislation.* — M., 1988. — Vol. 4. — pp.630—646.
8. Asatiani V. S. New methods of biochemical photometry / V. S. Asatiani. — Moscow: Science, 1965. — 544 p.
9. Technical regulations of the Customs Union. TR CU015/2011, app. 09.12.2011, No. 874.
10. The decision of the Commission of the customs Union dated 17.08.2010, No. 342.
11. GOST 11246—96. Sunflower protein meal. Technical conditions. M. «Standards Publishing house», 2010. — 18 p.
12. GOST 80—96. Sunflower presscake. Technical conditions. M. «Standards Publishing house», 2009. — 16 p.
13. Temporary maximum allowable level (MRL) of some chemical elements and gossypol in feed for farm animals and feed additives. Approved. SVD MA of the SOVIET UNION, No. 123-4/281-8-87. — 2 p.



## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ НИТРАТОВ И НИТРИТОВ В КОРМАХ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ИХ БИОТЕСТИРОВАНИЕ

© 2018 Л. И. Денисенко, Г. И. Трофимова, В. В. Шпилов, Н. Н. Иванова

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии, Воронеж, Россия*  
E-mail: [icrsa@mail.ru](mailto:icrsa@mail.ru)

Материал поступил в редакцию 8.05.2018 г.

**Аннотация.** Исследование посвящено оценке экологической безопасности кормовой базы хозяйств Воронежской области. Было исследовано 55 проб различных кормов из 17 хозяйств Воронежской области. Анализ проводился на базе научно-исследовательского центра ГНУ ВНИВИПФиТ.

Проведено токсикологическое исследование кормов растительного происхождения на содержание нитратов и нитритов. Анализ нитратов проводился ионометрическим методом. Исследованные образцы соответствуют ветеринарно-санитарным требованиям по содержанию нитратов, предъявляемым к кормам для животных, кроме проб жома свекловичного, с превышением предельно допустимой концентрации в 2,6 раза. Оценку токсического действия нитратов и нитритов в пределах значений предельно допустимых концентраций проводили на инфузориях *Paramecium caudatum*. Характер токсического действия нитрата калия оценивали по показателям жизнедеятельности культуры инфузорий. Экспозицию нитрата калия с тест-объектом проводили в течение 10 минут, 1 и 3 часов. Выявлено, что нитрат калия в концентрациях 800 мг/кг и 1500 мг/кг оказывает токсическое действие на инфузорий, выражающееся в изменении движения клеток до их полной фиксации. Проведенное исследование показало биологическое действие загрязнителя кормов — нитратов — на инфузорий.

**Ключевые слова:** корма для сельскохозяйственных животных, нитраты, нитриты, биотестирование, культура инфузорий *Paramecium caudatum*, общая токсичность.

Нитраты — соли азотной кислоты, нитриты соли азотистой кислоты. Они являются нормальными продуктами обмена азотистых веществ любого живого организма — растительного и животного [2].

Главную опасность в токсикологическом отношении представляют кормовые растения, обладающие свойством, при наличии в почве большого количества азота, накапливать в себе нитраты. К ним относятся злаковые культуры (рожь, пшеница, ячмень и т. д.), а также кормовая трава, солома пшеницы, ржи, ячменя, овса, тимофеевки, овсяницы луговой, люцерны, клевера, гороха, люпина. Наибольшее количество нитратов накапливает в себе сахарная свекла и продукты ее переработки [4].

При определенных условиях (замораживание и оттаивание, запарка кормов и последующее их длительное хранение) нитраты восстанавливаются в более токсичные нитриты, которые чаще всего становятся причиной острых отравлений животных. При потреблении в повышенных количествах

нитраты в пищеварительном тракте частично восстанавливаются до нитритов (более токсичного соединения), а последние при поступлении в кровь могут вызвать метгемоглобинемию. Из нитритов в присутствии аминов могут образовываться N — нитрозамины, обладающие канцерогенной активностью [4].

Методы биологического мониторинга, основанные на использовании простейших организмов, чувствительны к конкретным химическим веществам и не требуют больших экономических затрат [3]. Наиболее часто в качестве биотестов используются инфузории *Paramecium caudatum*. Чувствительность этих организмов и достоверность результатов биотестирования во многом зависит от условий их культивирования и подготовки к исследованию.

Преимущество использования инфузорий для тестирования состоит в том, что они просты в содержании и культивировании. При воздействии внешних химических раздражителей заданной

среды реагируют целым комплексом биологических и физиологических изменений, как единый организм [3].

Целью исследований явилось количественное определение содержания нитратов и нитритов в кормах для сельскохозяйственных животных и оценка токсического действия нитрата калия на культуру простейших инфузорий.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение содержания нитратов проводилось ионометрическим методом, нитритов фотометрическим методом по ГОСТ 13496.19—2015.

Ионометрический метод заключается в извлечении нитратов экстрагирующим раствором и последующим измерением молярной концентрации нитратов с помощью ионоселективного электрода ЭЛИС-121NO<sub>3</sub>.

Фотометрический метод заключается в извлечении нитритов раствором хлористого калия

и получении окрашенного соединения при их взаимодействии с сульфаниламидом и N-этил-1-нафтиламингидрохлоридом. Концентрация нитратов определялась последующим измерением на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 520 нм [1].

Оценку токсичности нитратов проводили методом биотестирования с помощью культуры инфузорий *Paramecium caudatum* [5].

Принцип метода основан на определении жизненных параметров этих микроорганизмов в среде, содержащей нитраты в разных концентрациях. Оценка результатов проводится методом прямой микроскопии.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по исследованию растительных кормов на содержание нитратов и нитритов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание нитратов и нитритов, мг/кг

Наименование корма	Количество исследуемых проб	Нитраты	Нитриты	Предел допустимой концентрации содержания нитратов	Предел допустимой концентрации содержания нитритов
Силос кукурузный	10	62,9—212,4	0,4—1,1	500	10
Жом свекловичный	7	78,1—2084,1	0,5—12,7	800	10
Кукуруза	6	84,4—272,9	0,4—0,7	300	10
Шрот подсолнечный	7	130,8—219,7	0,4—1,1	450	10
Зернофураж (пшеница, ячмень)	10	71,9—258,2	0,5—1,1	300	10
Комбикорм	16	73,6—212,9	0,5—2,3	500	10
Сено	6	105,9—185,7	0,3—1,0	1000	10
Меласса свекловичная	5	167,5—303,4	0,4—0,8	1500	10

Проведенные испытания показали, что в силосе кукурузном содержание нитратов находится в пределах от 62,9 до 212,4 мг/кг, зерне кукурузы от 84,7 до 272,9 мг/кг, зернофураже от 71,9 до 258,2 мг/кг, комбикорме от 73,6 до 212,9 мг/кг, сене от 105,9 до 185,7 мг/кг и мелассе свекловичной от 167,5 до 303,4 мг/кг, что соответствует нормам ПДК. В пробах жома свекловичного обнаружено содержание

нитратов от 78,1 до 2084,1 мг/кг, что превышает нормы ПДК в 2,6 раза. Содержание нитритов во всех видах кормов не выходит за пределы допустимых концентраций. На культуре инфузорий *Paramecium caudatum* проведено биотестирование с нитратом калия в заданных концентрациях ПДК от 300 до 1500 мг/кг для исследуемых кормов. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Оценка токсичного действия нитрата калия на культуру инфузорий *Paramecium caudatum*

Концентрация KNO <sub>3</sub>	Показатель токсичности в тест-реакции		
	Время инкубации		
	10 мин	1 час	3 часа
300 мг/кг	Живы, активны	Живы, активны	Живы, активны
450 мг/кг	Живы, активны	Живы, активны	Живы, активны
500 мг/кг	Живы, активны	Живы, активны	Живы, активны
800 мг/кг	Живы, активны	Живы, активны	Живы, активны, единично инфузории, совершают вращательные движения
1500 мг/кг	Живы, активны	Живы, с изменением движения	Фиксация, обездвиживание, есть живые клетки с вращательным и замедленным движением

Опыт показал, что концентрации 300, 450, 500 мг/кг нитрата калия не проявляют токсического действия на инфузории. Однако, в концентрациях 800 мг/кг и 1500 мг/кг проявляется токсическое действие, выражающееся в изменении движения клеток с их полной фиксацией. Следует отметить, что ПДК 800 мг/кг и 1500 мг/кг соответствует жому свекловичному и мелассе свекловичной, тем видам кормов, которые не применяются в чистом виде для кормления животных и процент их ввода нормируется рационами. Тем самым снижается токсическое действие на организм животного.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование кормов на содержание нитратов и нитритов, полученных из хозяйств Воронежской области, показало, что в силосе кукурузном, кукурузе, шроте подсолнечном, комбикорме, сене, зернофураже (пшеница, ячмень) превышения норм ПДК не выявлено. В жоме свекловичном выявлено превышение норм в 2,6 раза. Содержание нитритов во всех видах кормов находится в пределах нормы.

Полученные данные в опыте биотестирования раствора нитрата калия на инфузориях, показывают его токсическое действие в концентрациях 800 мг/кг и 1500 мг/кг.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ГОСТ 13496.19—2015 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания нитратов и нитритов.
- Жуленко В. Н. Ветеринарная токсикология/В.М. Жуленко, М. И. Рабинович, Г. А. Таланов//под ред. В. Н. Жуленко. — М.: КолосС, 2004. — 384 с.
- Жмур Н. С. Государственный и производственный контроль токсичности методами биотестирования в России — М.: Международный дом сотрудничества, 1997.
- Арестов И. Г. Нитратно-нитритные токсикозы животных и пути их профилактики/Проблемы нитратов в животноводстве и ветеринарии//И.Г. Арестов, Н. Г. Золотова, Н. Г. Токач, А. В. Голубицкая, Т. А. Сосновская. — Киев: Изд. УСХА, 1990. — 66 с.
- Бузлама В. С. Экспресс-биотест. Биологический мониторинг экологических систем: методическое пособие/В.С. Бузлама, Ю. Т. Титов, Г. А. Востроилова. — Воронеж, 1997. — 12 с.

## TOXICOLOGICAL EVALUATION OF NITRATES AND NITRITES IN FEED FOR FARM ANIMALS AND THEIR BIOLOGICAL TESTING

© 2018 L. I. Denisenko, G. I. Trofimova, V. V. Shipilov, N. N. Ivanova

Received 8.05.2018

**Abstract.** The study is devoted to the assessment of the ecological safety of the forage base of the Voronezh region farms. 55 samples of various feeds from 17 farms of the Voronezh region were investigated. The analysis was conducted on the basis of the research centre of the SSI AVIPPhandT.

The toxicological study of plant feeds on the content of nitrates and nitrites was carried out. The analysis of nitrates was carried out by ionometric method. The studied samples correspond to the veterinary-sanitary requirements on the contents of nitrate, to be met by animal feed, except for the samples of sugar beet pulp with the maximum allowable concentration by 2.6 times.

Evaluation of the toxic effect of nitrates and nitrites in the range of values of maximum permissible concentrations has been conducted on the ciliate *Paramecium caudatum*. The character of toxic effect of potassium nitrate was evaluated by the indices of vital activity of the culture of infusorium. Exposure of potassium nitrate with the test object was carried out for 10 minutes, 1 and 3 hours. It was found that potassium nitrate in concentrations of 800 mg/kg and 1500 mg / kg has a toxic effect on the infusoria, which is expressed in the change of cell movement until they are fully fixed. The study showed the biological effect of the pollutant feed-nitrates-on infusorium.

**Keywords:** feed for farm animals, nitrates, nitrites, bioassay, the culture of the ciliate *Paramecium caudatum*, total toxicity.

#### REFERENCES

1. *Arrestov I. G.* Nitrate-nitrite toxicosis of animals and ways of their prevention / Problems of nitrates in animal husbandry and veterinary medicine // I. G. Arrestov, N. G. Zolotova, N. G. Tokach, A. V. Golubitskaya, T. A. Sosnovskaya. — Kiev: Ed. USA, 1990. — 66p.

2. *Zhulenko V. N.* Veterinary toxicology / V. M. Zhulenko, M. I. Rabinovich, Talanov, G. A. // under the editorship of V. N. Zhulenko. — Moscow: ColoS, 2004. — 384 p.

3. *Zhmur N. S.* State and industrial control of toxicity by methods of biotesting in Russia-M: International house of cooperation, 1997

4. GOST 13496.19—2015 Feed, feed stuff, feed stuff raw materials. Methods for determining the content of nitrates and nitrites.

5. *Buzlama V. S.* Expressbiotest. Biological monitoring of environmental systems: methodical manual / V. S. Buzlama, Yu. T. Titov, G. A. Vostroilova, et.al. — Voronezh: VSU, 1997. — 12 p.

Денисенко Лариса Ивановна — младший научный сотрудник

Трофимова Галина Ивановна — младший научный сотрудник

Шипилов Валерий Викторович — младший научный сотрудник

Иванова Надежда Николаевна — младший научный сотрудник

Denisenko Larisa Ivanovna — junior researcher

Trofimova Galina Ivanovna — junior researcher

Shipilov Valery Victorovich — junior researcher

Ivanova Nadezhda Nikolaevna — junior researcher

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ  
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

УДК 619:[612.015.3—438]:636.4

DOI: 10.17238/issn2541-8203.2018.2.75

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ  
АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА СУПОРОСНЫХ  
СВИНОМАТОК НА СТРУКТУРНУЮ  
ОРГАНИЗАЦИЮ ТИМУСА ПОРОСЯТ

© 2018 Е. В. Михайлов, Ю. Н. Бригадиров,  
В. Н. Коцарев, И. С. Толкачев, Н. В. Пасько

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, Воронеж  
e-mail: voronezh81@rambler.ru*

Материал поступил в редакцию 7.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье представлены данные о влиянии показателей антиоксидантного статуса супоросных свиноматок на структурную организацию тимуса поросят. Исследования выполнены в условиях свиноводческого предприятия с современной технологией производства на 16 свиноматках помеси пород крупная белая с ландрасом по 2—5 опоросам, массой тела 180—240 кг, взятых в опыт на 103—105 день супоросности. Подопытные свиноматки, в зависимости от характера течения послеродового периода, были разделены на две группы. В первую группу (n = 7) вошли клинически здоровые свиноматки, у которых послеродовой период протекал без осложнений. Вторую группу (n = 9) составили свиноматки, предрасположенные к воспалительным процессам в репродуктивных органах, у которых после опороса регистрировали острый гнойно-катаральный эндометрит и метрит-мастит-агалактию. Изучены биохимические показатели крови супоросных свиноматок, предрасположенных к воспалительным процессам в репродуктивных органах, отражающие состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма животных. Дана характеристика морфофункционального состояния тимуса новорожденных поросят, полученных от этих свиноматок.

**Ключевые слова:** супоросные свиноматки, новорожденные поросята, кровь, показатели ПОЛ-АОЗ, тимус, гистологические исследования.

Тимус занимает особое место в системе желез внутренней секреции, являясь центральным органом иммунитета и источником гормонов и гормоноподобных веществ в организме. Взаимосвязь между иммунологическими и гормональными его функциями имеет особое значение в антенатальном и постнатальном периодах, поскольку обе эти системы обеспечивают нормальное развитие плода, поддержание иммунологической толерантности, своевременное наступление родов и адаптацию новорожденных к новым условиям существования [1, 2].

Основное место в сохранении равновесия между матерью и плодом в течение беременности занимает комплексная система: «мать-плацента-плод», функциональное состояние которой оказывает определяющее влияние на иммунологические

взаимоотношения матери и плода, и от характера течения беременности зависят особенности формирования иммунной системы плода [3, 4, 5, 6].

Общепризнанно, что структурно-функциональное состояние клеточных мембран влияет на функционирование тканей, органов и организма в целом. На изменение их структурно-функциональных характеристик может оказывать влияние эндогенная интоксикация организма [7]. Синдром эндогенной интоксикации сопровождается усилением процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и накоплением малонового диальдегида (МДА), обладающего выраженной цитотоксичностью. В результате окисления липидных молекул под действием активных форм кислорода происходит необратимое повреждение мембранных структур, нарушается их проницаемость и наступает гибель клеток [8].

При наблюдении течения беременности бывают такие осложнения, как преждевременные роды, выкидыши, рождение слабозрелого потомства и рост показателей перинатальной смертности [9]. Наблюдаемые в ходе беременности реакции свободнорадикального окисления (СРО) считаются основными виновниками этих осложнений [10]. Известно, что в ткани плаценты чрезмерная активность реакций перекисного окисления липидов, создавая гистоструктурные поражения, способствует преждевременному прерыванию беременности и рождению слабого потомства. Продукты избыточной перекисидации повреждают клеточные мембраны, приводя к поражению жизненно важных органов плода [11].

МДА особенно токсичен для развивающихся плодов, поэтому окислительный стресс супоросных свиноматок препятствует нормальному эмбриогенезу лимфоидных органов у поросят.

**Цель исследования** заключалась в изучении морфофункционального состояния тимуса новорожденных поросят в зависимости от характера течения процессов свободно-радикального окисления и состояния системы антиоксидантной защиты у свиноматок во время беременности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в условиях свиноводческого предприятия с современной технологией производства на 16 свиноматках помеси пород крупная белая с ландрасом по 2—5 опоросам, массой тела 180—240 кг, взятых в опыт на 103—105 день супоросности. Подопытные свиноматки, в зависимости от характера течения послеродового периода были разделены на две группы. В первую группу ( $n = 7$ ) вошли клинически здоровые свиноматки, у которых послеродовой период протекал без осложнений. Вторую группу ( $n = 9$ ) составили свиноматки, предрасположенные к воспалительным процессам в репродуктивных органах, у которых после опороса регистрировали острый гнойно-катаральный эндометрит и метрит-мастит-агалактию. Диагноз на послеродовую патологию у свиноматок устанавливали в соответствии с Методическими рекомендациями по диагностике, терапии и профилактике болезней органов размножения и молочной железы у свиней (Воронеж, 2007). Пробы крови от свиноматок получали за 10 дней до предполагаемого опороса. В крови и сыворотке крови определяли следующие показатели — содержание молекул средней массы (МСМ при  $\lambda_{238}$  и МСМ при  $\lambda_{254}$ ), индекс эндогенной интоксика-

ции (ИЭИ), количество малонового диальдегида, активность глутатионпероксидазы (ГПО) и каталазы, уровень витамина А и Е с использованием соответствующих методик [12]. Результаты исследований подвергали ретроспективному анализу и статистической обработке. После опороса свиноматок из двух-трех гнезд каждой группы животных отбирали по три поросенка и подвергали убою и препарировали тимус для гистологических исследований. Взятый материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и подвергали обезвоживанию в спиртах возрастающей концентрации с последующей заливкой в парафин. Из парафиновых блоков на микротоме МПС-2 готовили серийные срезы толщиной 5—7 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином для проведения световой микроскопии. Для проведения электронной микроскопии патматериал фиксировали в 2,5 % глутаровом альдегиде на 0,114 М коллидиновом буфере на холоде с постфиксацией в 1 % растворе тетраоксида осмия на том же буфере. Осмолярность 360 мОсм достигали введением во второй фиксатор 0,05 М железосинеродистого калия и раствора Рингера. Материал заключали в эпон-812. Готовили полутонкие срезы, окрашивали азури-2 в сочетании с фуксином основным и просматривали в световом микроскопе «Leica». Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме Ultracut (Leica), контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и просматривали на электронном микроскопе EM-208 (Philips) [13].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

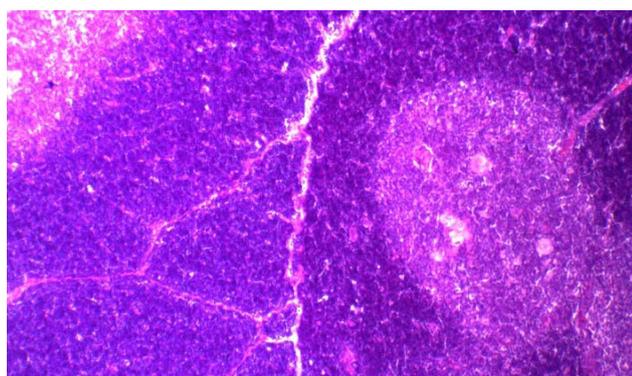
При изучении состояния процессов свободно-радикального окисления и системы антиоксидантной защиты установлено, что в крови свиноматок, предрасположенных к развитию воспалительных процессов в репродуктивных органах по отношению к клинически здоровым животным, было выше содержание МСМ при  $\lambda_{238}$  на 10,3 %, при  $\lambda_{254}$  — на 8,0 %, ИЭИ — на 20,4 % ( $p < 0,001$ ). Повышенная интенсивность течения процесса ПОЛ характеризовалась большей на 28,3 % концентрацией МДА (табл.).

На фоне повышения интенсивности процесса ПОЛ у свиноматок второй группы была менее выраженной защитная функция системы АОЗ, характеризующаяся меньшей активностью ГПО на 23,9 % при большем на 24,1 % показателе активности каталазы, обусловленной нарастанием активных форм кислорода, в обезвреживании которых она участвует. Содержание витамина А у них было меньше во время супоросности на 25,0 %, витамина Е — на 24,3 %.

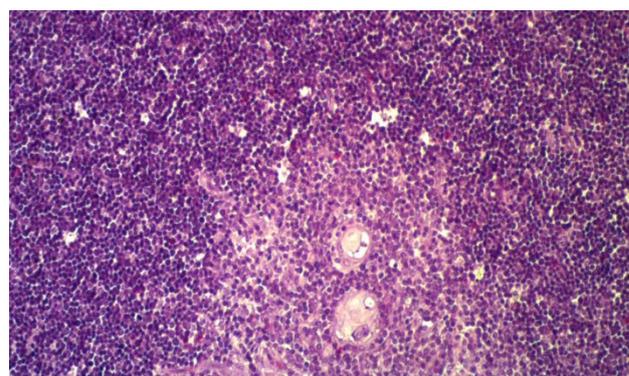
При гистологическом исследовании тимуса поросят, полученных от здоровых свиноматок, было выявлено формирование его долек. Отростки эпителиальных клеток в железе образовывали ячейки, заполненные преимущественно Т-лимфоцитами, находящимися на разной стадии дифференцировки. В корковом веществе тимуса лимфоциты располагались компактно, придавая ему темную окраску (рис. 1а). Центр долек занимал мозговое вещество, которое представлено более крупными эпителиальными клетками (рис. 1б). В отростках эпителиальных клеток находили незначительное

количество макрофагов, лимфоцитов и др. клеток. В связи с этим мозговое вещество казалось более разряженным и светлым. Тимус содержал дольки малого размера.

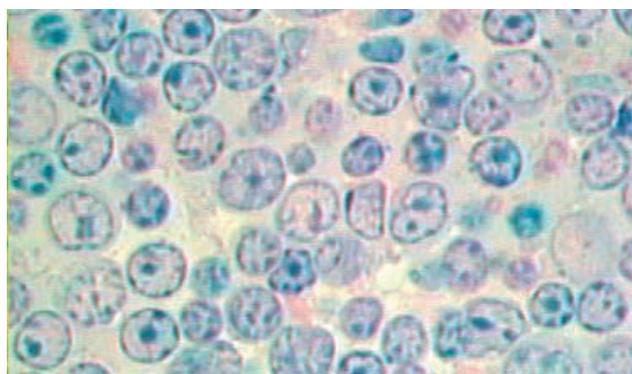
Процентная доля коркового вещества составляла  $28,4 \pm 0,9\%$ , мозгового —  $27,5 \pm 2,6\%$  с небольшим содержанием тимоцитов (Т-лимфоцитов). Тельца Гассала были единичные. Размер их составлял  $59,31 \pm 6,4$  мкм. Плотность распределения тимоцитов в коре составила  $15\,120$  п/мм<sup>2</sup> (рис. 1в). Плотность мозговых тимоцитов была существенно ниже и равнялась  $13\,850$  п/мм<sup>2</sup> (рис. 1г).



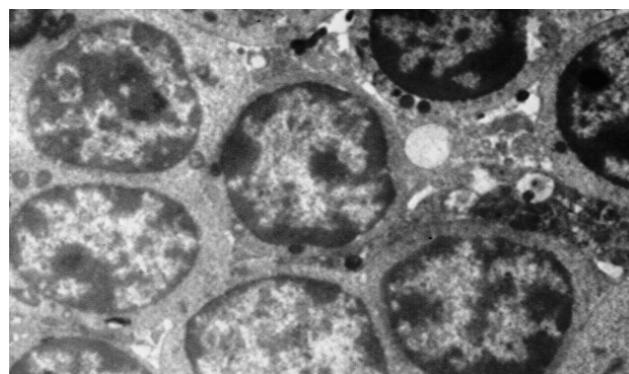
а



б



в



г

**Рис. 1.** Архитектоника и клеточный состав тимуса поросят, рожденных от клинически здоровых свиноматок. Окр. гем. — эозин. Ув. ок. 7, об. 10 (а, б). Окр. Азур-2 в сочетании фуксином основным. Ув. ок. 10, об. 20 (в). Ув.  $\times 1400$  (г)

**Таблица**

Показатели эндогенной интоксикации и системы ПОЛ-АОЗ у свиноматок

Показатели	Первая группа	Вторая группа
1	2	3
МСМ при $\lambda_{238}$ , усл. ед.	$0,68 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,02$
МСМ при $\lambda_{254}$ , усл. ед.	$0,25 \pm 0,05$	$0,27 \pm 0,01$
ИЭИ, усл. ед.	$16,23 \pm 0,33$	$19,48 \pm 0,22^*$

Окончание табл.

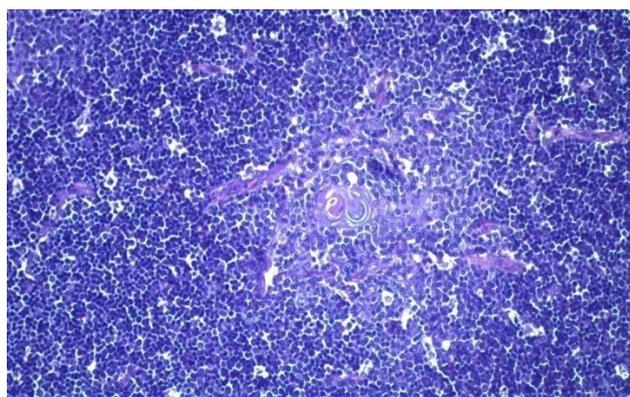
1	2	3
МДА, мкМ/л	1,20±0,07	1,54±0,23
ГПО, мМ GSH/(л×мин)	11,58±0,56	8,81±0,26***
Каталаза, мкМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / (л×мин)	27,79±1,96	34,50±2,34*
Витамин А, мкМ/л	1,12±0,11	0,84±0,10
Витамин Е, мкМ/л	12,53±1,29	9,48±0,51*

\*  $p < 0,05$

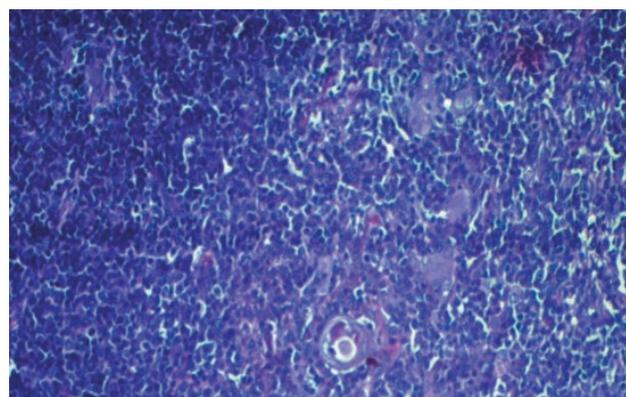
\*\*\*  $p < 0,001$

При гистологическом исследовании тимуса новорожденных поросят, полученных от свиноматок, предрасположенных к воспалительным процессам в репродуктивных органах, выявляли ярко выраженную его дисплазию с нарушением архитектоники. Его дольки имели малые размеры  $116,3 \pm 9,4$  мкм и между ними находились крупные

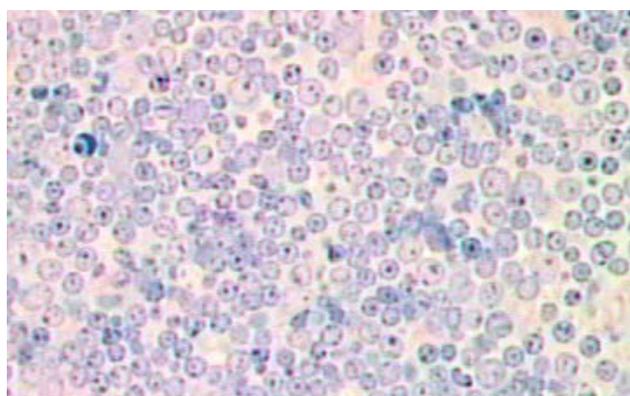
прослойки рыхлой волокнистой соединительной ткани. Четкая граница между корковым и мозговым слоями отсутствовала (рис. 2а). Отмечали закономерную тенденцию истончения коркового вещества, объемная доля которого составляла  $19,4 \pm 0,9$  %, а мозгового —  $17,5 \pm 2,6$  % (рис. 2б). Митотическую активность клеток тимуса не наблюдали (рис. 2в).



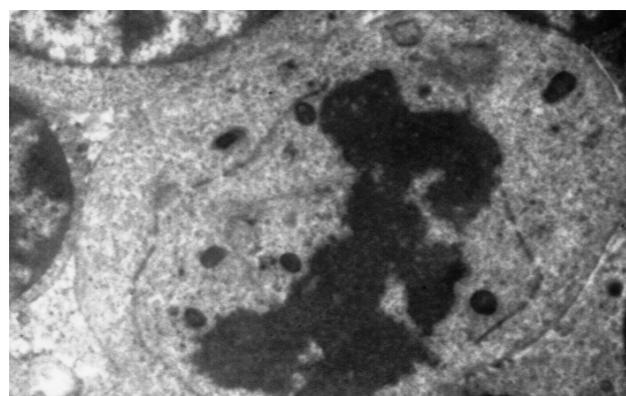
а



б



в



з

**Рис. 2.** Структурная организация тимуса поросят, рожденных от свиноматок, предрасположенных к воспалительным процессам в репродуктивных органах. Окр. гем. — эозин. Ув. ок. 7, об. 10 (а, б). Окр. Азур-2 в сочетании фуксином основным. Ув. ок. 10, об. 20 (в), Ув. × 3500 (з).

Следует отметить, что характерным изменением в тимусе являлось выравнивание количества тимоцитов, как в корковом веществе  $11\,130 \pm 967$  п/мм<sup>2</sup>, так и в мозговом —  $10\,860 \pm 965$  п/мм<sup>2</sup>. Наблюдалось незначительное полнокровие сосудов. Регистрировали низкую плотность лимфоцитов в мозговом веществе. В нем отмечали деструктивные процессы, проявляющиеся распадом тимоцитов. В мозговом слое происходило формирование парных телец Гассала (рис. 2г), диаметр которых равнялся  $40,15 \pm 2,3$  мкм.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у свиноматок, предрасположенных к воспалительным процессам в репродуктивных органах, усилены явления эндогенной интоксикации с активизацией процессов ПОЛ и накоплением их вредных продуктов при ослаблении антиоксидантной системы защиты, которое негативно отразилось на формировании структуры тимуса и морфофункциональной зрелости иммунной системы, играющей ключевую роль в запуске процессов саморегуляции, реактивности и иммунитета, обеспечивающей постнатальную адаптацию к условиям внешней среды обитания.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Новиков Д. К. Противобактериальный иммунитет // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2002. — № 2. — С. 7—12.
2. Sadler T. W. Langman's medical embryology Text. / T. W. Sadler. — Lippincott: Williams & Wilkins. 2000. — 342 p.
3. Айламазян Э. К. Роль иммунной системы фетоплацентарного комплекса в механизмах преждевременного прерывания беременности / Э. К. Айламазян, О. В. Павлов, С. А. Сельков // Акушерство и гинекология. — 2004. — № 2. — С. 9—11.

4. Вельтищев Ю. Е. Иммунологическая недостаточность у детей / Ю. Е. Вельтищев // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. — 2004. — Т. 49. — № 4. — С. 4—10.

5. Сидорова И. С. Фетоплацентарная недостаточность. Клинико-диагностические аспекты / И. С. Сидорова, И. О. Макаров. // М.: Знание, 2000. — 126 с.

6. Хаитов Р. М. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии: Сб. науч. тр. IV конгр. РААКИ. — М., 2001. Т. 1. — С. 411—425.

7. Бессмельцев С. С. Новый способ оценки реологических свойств эритроцитов у хирургических больных с эндогенной интоксикацией / С. С. Бессмельцев, И. М. Царапкин, З. Б. Федорова // Вестник хирургии им. Грекова. — 1997. Т. 156. — № 4 — С. 32—36.

8. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю. А. Владимиров // Вестник РАМН — 1998. — № 2. — С. 43—47.

9. Kulakova V. I. High-risk newborn infants / V. I. Kulakova, Ju. I. Barashneva // M.: GJeO-TAR-Media, 2006. — 528 p.

10. Евсюкова И. И. Состояние новорожденных и их дальнейшее развитие при многоплодной беременности после экстракорпорального оплодотворения // Проблемы репродукции. — 2005. — Т. 11. — № 2. — С. 49—53.

11. Lipid peroxidation and antioxidant activity in complicated pregnancies / Patil S. B., Kodliwadmth M. V., Kodliwadmth S. M. [et.al.] // Clin. Exp. Obstet. Gynecol., 2009; 36(2): P. 110—112.

12. Методические рекомендации по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / Сост. М. И. Рецкий и др. — Воронеж: ВНИВИПФиТ, 2010. — 70 с.

13. Методы морфологических исследований 2-е издание, исправленное и дополненное / С. М. Сулейманов, с соавт. ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж, 2007. — 87 с.

## THE INFLUENCE OF SOME INDICES OF THE ANTIOXIDANT STATUS OF SOWS ON THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE THYMUS OF PIGLETS

© 2018 E. V. Mikhailov, Y. N. Brigadirov, V. N. Kotsarev, I. S. Tolkachev, N. V. Pasko

SSI All-Russian research veterinary Institute of pathology, pharmacology and therapy, Voronezh  
e-mail: voronezh81@rambler.ru

Received 7.05.2018

**Abstract.** The article presents data on the influence of indicators of the antioxidant status of pregnant sows on the structural organization of the thymus of piglets. The researches were performed in the conditions of pig-breeding

enterprise with modern production technology on 16 sows of large white breed with Landrace on 2—5 farrow, weighing 180—240 kg, taken in the experiment on the 103—105 day of pregnancy. Experimental sows, depending on the nature of the course of the postpartum period were divided into two groups. The first group (n = 7) included clinically healthy sows, in which the postpartum period proceeded without complications. The second group (n = 9) consisted of sows predisposed to inflammatory processes in the reproductive organs, in which acute purulent-catarrhal endometritis and metritis-mastitis-agalactia were registered after farrow. Biochemical parameters of pregnant sow blood, predisposed to inflammatory processes in reproductive organs, reflecting the state of free radical oxidation and antioxidant protection of the animal organism were studied. The characteristics of morphological and functional state of the thymus of new-born piglets from these sows are presented.

**Keywords:** pregnant sows, new-born piglets, blood, indicators of POL-AOZ, thymus, histological studies.

#### REFERENCES

1. *Novikov D. K.* Antibacterial immunity // Immunopathology, Allergology, Infectology. — 2002. No. 2. — pp. 7—12.

2. *Sadler T. W.* Langman medical embryology Text. / T. W. Sadler. — Lippincott: Williams & Wilkins. 2000. — 342 p.

3. *Aylamazyan E. K.* The role of the immune system of the fetoplacental complex in the mechanisms of premature termination of pregnancy / E. K. Aylamazyan, O. V. Pavlov, S. A. Selkov // Obstetrics and gynecology. 2004. — No. 2. — pp. 9—11.

4. *Veltishhev Ju. E.* Immunological failure in children / Y. E. Veltischev // Russian. Vestn. Perinatology and Pediatrics. 2004. — Vol. 49, No. 4. — pp. 4—10.

5. *Sidorova I. S.* Fetoplacental insufficiency. Clinical and diagnostic aspects. Text. / I. S. Sidorova, I. O. Makarov. M.: Knowledge, 2000. — 126 p.

6. *Khaitov R. M.* Evaluation of the immune status of the person in norm and at a pathology Text. / P. M. Khaitov, B. V. Pinegin // Modern problems of allergology, immunology and immunopharmacology: collection of the articles of the RAAKI congress vol.1. — M., 2001. — pp. 411—425.

7. *Bessmeltsev S. S.* New method for evaluation of rheological properties of erythrocytes of patients with endogenous intoxication / S. S. Bessmeltsev, I. M. Tcarapkin, Z. B. Fedorov // Bulletin of surgery named after Grekov. — 1997, vol-156— No. 4—pp. 32—36.

8. *Vladimirov Yu. A.* Free radicals and antioxidants / Y. A. Vladimirov // Vestnik of RAMN — 1998. — No. 2 — pp. 43—47.

9. High risk infants / eds. V. I. Kulakova, Ju.I. Barashneva. M.: GJeO TAR Media, 2006. — 528 p.

10. *Evsyukova I. I.* State of new-borns and their further development in multiple pregnancy in vitro fertilization // Reproduction Problems, 2005, Vol. 11, № 2, pp. 49—53

11. Lipid peroxidation and antioxidant activity in complicated pregnancies / *Patil S. B., Kodliwadmam M. V., Kodliwadmam S. M.* [et.al.] // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. In 2009; 36(2): p. 110—112.

12. Methodical recommendations on studying the processes of free radical oxidation and system of antioxidant protection of organism / M. I. Retskiy et.al — Voronezh: SSI AVIPPh and T, 2010. — 70 p.

13. Methods of morphological studies. 2nd edition, corrected and supplemented/ S.M Suleymanov, et al. SSI AVIPPhandT. — Voronezh, 2007. — 87 p.

Михайлов Евгений Владимирович — кандидат ветеринарных наук, зав. лабораторией патоморфологии

Бригадиров Юрий Николаевич — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник лаборатории болезней органов воспроизводства и молочной железы

Коцарев Владимир Николаевич — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории болезней органов воспроизводства и молочной железы

Толкачев Игорь Сергеевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии

Пасько Надежда Валерьевна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетического анализа

Mikhailov Evgeniy Vladimirovich — candidate of veterinary sciences, head of the. laboratory

Brigadirov Yury Nikolaevich — doctor of veterinary sciences, chief researcher

Kotsarev Vladimir Nikolaevich — doctor of veterinary Sciences, leading researcher

Tolkachev Igor Sergeevitch — candidate of biological sciences, senior researcher

Pasko Nadezhda Valerievna — candidate of biological sciences, leading researcher

## ВЛИЯНИЕ БЫЧЬИХ РЕКОМБИНАНТНЫХ АЛЬФА- И ГАММА-ИНТЕРФЕРОНОВ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И МИКРОБНУЮ КОНТАМИНАЦИЮ МОЛОКА КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ КОРОВ

© 2018 Н. Т. Климов, В. И. Зимников, Д. А. Ерин, А. В. Пашенцев, О. А. Манжурина, Ю. С. Пархоменко, Л. Н. Каширина, И. Ф. Клементьева, Е. В. Тюрина

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», тел. (8473) 253-92-81  
E-mail [vetklimov@mail.com](mailto:vetklimov@mail.com)

Материал поступил в редакцию 18.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье представлены результаты изучения влияния бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов на иммунологические показатели и микробную контаминацию молока клинически здоровых лактирующих коров. Установлено, что ежемесячное двукратное с интервалом 48 часов применение бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов в дозах 2,5; 5,0 и 10,0 мл обеспечило профилактический эффект у 91,7—100,0 % животных, снижение количества животных, молоко которых контаминировано микрофлорой, и степень его контаминации, а также оптимизацию иммунологических показателей секрета молочной железы (лизосим, общие иммуноглобулины, ЦИК).

**Ключевые слова:** коровы, бычьи рекомбинантные  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерфероны, молоко, микробная контаминация, лизосим, общие иммуноглобулины, соматические клетки.

Проблемы, связанные с повышением удоя и качества получаемого молока, продолжают оставаться наиболее актуальными в молочном животноводстве. Воспалительные заболевания молочной железы наносят большой экономический ущерб молочным хозяйствам, который складывается из значительного сокращения молочной продуктивности животных, снижением санитарно-технологических качеств молока и затрат на лечебные мероприятия [1, 2, 3].

В настоящее время для профилактики мастита у лактирующих коров применяются вакцины, в основном зарубежного производства — Мастивак, Ваколин, Стартвак. Но они не всегда дают желаемый эффект, так как предложенные вакцины специфичны только к 2—4 из микроорганизмов, имеющих этиологическое значение и если этот возбудитель не будет идентичен тому штамму, из которого изготовлена вакцина, то применение вакцины становится не эффективным [4]. В связи с возросшими требованиями к качеству молока и широким распространением лекарственно устойчивых штаммов микроорганизмов, вызывающих развитие мастита, необходимо дальнейшее изучение новых лекарственных средств, стимулирующих об-

щую неспецифическую резистентность организма, факторы локальной защиты молочной железы коров и позволяющих тем самым ликвидировать воспалительный процесс в молочной железе или профилактировать его возникновение.

К таким лекарственным средствам относятся иммуномодуляторы — препараты, повышающие активность иммунной системы и в соответствии с существующими классификациями которые подразделяются на пять групп — препараты микробного происхождения (нуклеинат натрия, рибомунил, имудон и др.), пептидные препараты (Т-активин, миелопид, тимоген и др.), синтетические препараты (полиоксидоний, ликопид и др.), препараты на основе природных факторов (препараты иммуноглобулинов, экстракты растений), цитокины и препараты на их основе (интерфероны, интерлейкины) [5].

Интерферон бычий рекомбинантный является видоспецифичным препаратом, проявляет иммуностимулирующую и противовирусную активность у крупного рогатого скота. Эффект препарата определяется суммарным действием экзогенного белка на пораженные клетки и быстрой индукцией системы эндогенного интерферона, клеточного и гуморального иммунитета [6].

**Цель работы** — изучить влияние различных доз рекомбинантного бычьего  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов на иммунологические показатели и микробную контаминацию молока клинически здоровых лактирующих коров.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили черно-пестрые коровы со среднегодовой молочной продуктивностью 6,0—7,5 тыс. кг с привязной технологией содержания. Изучение действия  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов проведено на лактирующих коровах, разделенных по принципу аналогов на четыре группы. Коровам первой группы ( $n = 12$ ) с первого дня после отела, ежемесячно двукратно с интервалом 24 часа, внутримышечно вводили рекомбинантный  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферон по 2,5 мл, второй ( $n = 12$ ) — по 5,0 мл, третьей ( $n = 12$ ) — по 10,0 мл на

протяжении 2 месяцев, животные четвертой группы ( $n = 12$ ) служили отрицательным контролем — (без введения препарата). Оценку эффективности применения рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов для профилактики мастита проводили трижды в неделю на протяжении двух месяцев после отела с помощью диагностических исследований молока с 2 % раствором масттеста. Кроме того, от 6 животных каждой группы отбирали пробы молока для проведения лабораторных исследований.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты клинических исследований представлены в таблице 1, из которой следует, что в группе отрицательного контроля за два месяца опыта заболело 3 (25,0 %) животных, в том числе субклиническим 2 (16,7 %), клинически выраженным — 1 (8,3 %) маститом.

Таблица 1

*Профилактическая эффективность применения бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов*

Препарат	Всего в опыте	Не заболело маститом		Заболело маститом			
		всего	%	субклиническим		клиническим	
				всего	%	всего	%
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 2,5 мл	12	12	100,0	0	0,0	0	0,0
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 5,0 мл	12	1	91,7	0	0,0	1	8,3
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 10,0 мл	12	1	91,7	0	0,0	1	8,3
Отрицательный контроль	12	3	75,0	2	16,7	1	8,3

При применении рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов в дозе 2,5 мл заболевания маститом не отмечено. При использовании их по 5,0 и 10,0 мл заболело по 1 животному (8,3 %).

Установлено, что в молоке коров, обработанных рекомбинантными  $\alpha$  и  $\gamma$ -интерферонами по 2,5 мл

на протяжении опыта, отмечено (табл. 2) снижение содержания циркулирующих иммунных комплексов на 4,5—48,3 %, общих иммуноглобулинов на — 7,7—29,1 % ( $P < 0,05$ ), лизоцима на — 37,8—41,5 % ( $P < 0,01$ ), содержание соматических клеток достоверно не изменилось.

Таблица 2

*Показатели секрета молочной железы после применения бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов по 2,5 мл*

Показатели	До опыта	Через 1 мес	Через 2 мес
Лизоцим, мг/мл	0,323 ± 0,03	0,201 ± 0,02	0,189 ± 0,01
ЦИК, г/л	0,271 ± 0,04	0,153 ± 0,02	0,140 ± 0,02
Общие Ig, г/л	2,20 ± 0,1	2,03 ± 0,2	1,56 ± 0,2
СК, тыс/мл	73,8 ± 13,8	94,8 ± 25,5	73,0 ± 6,4

При использовании  $\alpha$ - и  $\gamma$ -рекомбинантных интерферонов по 5,0 мл отмечено снижение содержания циркулирующих иммунных комплексов на 2,0—14,1 %, общих иммуноглобулинов — на

23,5—42,2 % ( $P < 0,05$ ), лизоцима на 35,8—47,8 % ( $P < 0,01$ ), а количество соматических клеток достоверно не изменилось (табл. 3).

Таблица 3

Показатели секрета молочной железы после применения бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов по 5,0 мл

Показатели	До опыта	Через 1 мес	Через 2 мес
Лизоцим, мг/мл	0,293 ± 0,03	0,188 ± 0,03	0,153 ± 0,01
ЦИК, г/л	0,205 ± 0,04	0,201 ± 0,03	0,176 ± 0,01
Общие Ig, г/л	2,3 ± 0,08	1,76 ± 0,2	1,33 ± 0,1
СК, тыс/мл	93,2 ± 20,9	126,6 ± 56,7	119,2 ± 7,6

При использовании рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов по 10,0 мл выявлено снижение содержания циркулирующих иммунных комплексов на 43,0—53,5 ( $P < 0,05$ ), общих иммуноглобулинов на

19,7—19,7 % ( $P < 0,05$ ), содержание лизоцима на 19,4—52,0 % ( $P < 0,01$ ), количество соматических клеток за период исследования достоверно не изменилось (табл. 4).

Таблица 4

Показатели секрета молочной железы после применения бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов по 10,0 мл

Показатели	До опыта	Через 1 мес	Через 2 мес
Лизоцим, мг/мл	0,273 ± 0,02	0,220 ± 0,03	0,131 ± 0,01
ЦИК, г/л	0,258 ± 0,04	0,147 ± 0,04	0,120 ± 0,11
Общие Ig, г/л	2,29 ± 0,1	1,84 ± 0,5	1,91 ± 0,07
СК, тыс/мл	119,2 ± 30,8	83,4 ± 28,5	113,6 ± 23,4

В молоке коров контрольной группы (табл. 5) за период опыта возросло содержание лизоцима на 51,1—53,8 % ( $P < 0,01$ ), циркулирующих иммун-

ных комплексов на 36,2—87,1 % ( $P < 0,01$ ), общих иммуноглобулинов — на 9,6—83,6 % ( $P < 0,05$ ), соматических клеток в 2,3—2,9 раза.

Таблица 5

Показатели секрета молочной железы коров контрольной группы

Показатели	До опыта	Через 1 мес	Через 2 мес
Лизоцим, мг/мл	0,223 ± 0,02	0,337 ± 0,02	0,343 ± 0,02
ЦИК, г/л	0,232 ± 0,02	0,316 ± 0,02	0,434 ± 0,04
Общие Ig, г/л	1,77 ± 0,13	1,94 ± 0,2	3,25 ± 0,9
СК, тыс/мл	101,4 ± 61,5	235,8 ± 41,8	303,0 ± 27,0

Из молока животных, до обработки рекомбинантными  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонами были выделены агалактийный стрептококк в 66,7 % и золо-

тистый стафилококк в 33,3 % проб в ассоциации с кишечной палочкой, эпидермальным стафилококком и энтерококком фециум. После примене-

ния препаратов в дозе 2,5 мл выделение агалактичного стрептококка снизилось до 16,7 % проб и не изолировали золотистый стафилококк, в дозе 5,0 мл — данные микроорганизмы не обнаруживали, а в дозе 10,0 мл — изоляция агалактичного стрептококка и золотистого стафилококка уменьшилась до 16,7 % проб. Сопутствующую микрофлору не выделяли во всех случаях.

Из молока животных контрольной группы в 83,3 % выделяли золотистый стафилококк и в 16,7 % случаев агалактичный стрептококк в ассоциации с эпидермальным стафилококком и энтерококком фециум. За период опыта отмечено сни-

жение изоляции только золотистого стафилококка до 16,7 % проб.

Установлено, что за период опыта произошло снижение обсемененности молока микрофлорой при применении рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов по 2,5 мл в 13,5 раз, по 5,0 мл — в 16,7 раза, по 10,0 мл в 23,5 раза, в контрольной группе она не изменилась (табл. 6).

Контаминация молочной железы микрофлорой животных, обработанных рекомбинантными  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонами в изучаемых дозах, снизилась со 100 до 41,7 %, а у коров контрольной группы осталась без изменений.

Таблица 6

Бактериальная обсемененность молока, тыс КОЕ/мл

Препарат	До опыта	Через 1 мес	Через 2 мес
количество тыс. КОЕ/мл			
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 2,5 мл	3,11 ± 0,11	0,22 ± 0,01	0,23 ± 0,02
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 5,0 мл	3,83 ± 0,21	0,17 ± 0,12	0,23 ± 0,01
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 10,0 мл	3,76 ± 0,20	0,38 ± 0,19	0,16 ± 0,14
Отрицательный контроль	1,41 ± 0,67	0,98 ± 0,67	1,52 ± 0,31
количество животных с контаминированной молочной железой			
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 2,5 мл	100,0	41,7	41,7
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 5,0 мл	100,0	41,7	41,7
Рекомб. $\alpha$ и $\gamma$ -интерфероны по 10,0 мл	100,0	41,7	41,7
Отрицательный контроль	100,0	100,0	100,0

Анализ результатов проведенных исследований показал, что двукратное, с интервалом 48 часов, введение лактирующим коровам бычьих рекомбинантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов обеспечивает на протяжении месяца снижение микробной контаминации молока более чем в 10 раз и сокращает количество животных с контаминированной молочной железой в два раза.

Полученный эффект возможно связан с тем, что альфа- и гамма-интерфероны, усиливая активность фагоцитоза [7, 8] в организме животного, способствуют более эффективной элиминации возбудителя из молочной железы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ежемесячное двукратное с интервалом 48 часов применение бычьих рекомби-

нантных  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов в изучаемых дозах обеспечило профилактический эффект у 91,7—100,0 % животных. Применение иммуномодулятора сопровождалось снижением количества контаминированных животных со 100 до 41,7 %, микробной обсемененности молока в 13,5—23,5 раза и нормализацией показателей защиты молочной железы (лизозим, общие иммуноглобулины, ЦИК).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баркова А. С. Современные средства в программе профилактики заболеваний молочной железы у коров, и оценка их эффективности / А. С. Баркова, А. Ф. Колчина, Е. И. Барашкин, Е. И. Шурманова // Аграрный вестник Урала, 2012. — № 12. — С. 18—21.
2. Конопельцев И. Г. Экологически безопасные подходы в борьбе с маститом коров / И. Г. Конопельцев //

Российский ветеринарный журнал. — 2007. — № 5. — С. 33—35.

3. Шабунин С. В. Актуальные проблемы терапии и профилактики мастита у коров /С.В. Шабунин, Н. Т. Климов, А. Г. Нежданов, Л. И. Ефанова // Ветеринария. — 2011. — № 12. — С. 3—6.

4. Тарасенко М. Н. Совершенствование методов профилактики маститов у высокопродуктивных коров: Автореф. дис. канд. вет. наук / М. Н. Тарасенко; Екатеринбург, 2016. — 18 с.

5. Машковский М. Д. Препараты коррегирующие процессы иммунитета (иммуномодуляторы, иммуно-

корректоры). В кн.: Лекарственные средства (Пособие для врачей). 1993, Часть II, с. 192—209.]

6. Прокулевич В. А. Ветеринарные препараты на основе интерферонов /В.А. Прокулевич, М. И. Потапович // Вестник БГУ, Серия 2, Химия. Биология. География. — 2011. — № 3. — С. 51—55.

7. Ершов Ф. И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств) /Ф.И. Ершов, О. И. Киселев — М., ГЭОТАР- Медиа, 2005 г.

8. Киселев О. И. Гамма-интерферон: новый цитокин в клинической практике / О. И. Киселев, Ф. И. Ершов, Э. С. Деева — Ингарон. М. — СПб., 2007 г.

## THE EFFECT OF BOVINE RECOMBINANT OF ALPHA- AND GAMMA-INTERFERONS ON IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AND MICROBIAL CONTAMINATION OF MILK OF CLINICALLY HEALTHY COWS

© 2018 N. T. Klimov, V. I. Zimnikov, D. A. Erin, V. A. Pashentsev, O. A. Manshurina, Y. S. Parkhomenko, L. N. Kashirina, I. F. Klementyeva, E. V. Tyurina

SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute  
of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh  
E-mail [vetklimov@mail.com](mailto:vetklimov@mail.com)

Received 18.05.2018

**Abstract.** The article presents the results of the study of the effect of bovine recombinant  $\alpha$ - and  $\gamma$ -interferons on immunological parameters and microbial contamination of clinically healthy lactating cow milk. It was found that the monthly two-times with an interval of 48 hours the use of bovine recombinant  $\alpha$  — and  $\gamma$ -interferons in doses of 2.5; 5.0 and 10.0 ml provided a preventive effect in 91.7—100.0 % of animals, reducing the number of animals whose milk is contaminated with microflora, and the degree of its contamination, as well as the optimization of immunological indicators of mammary gland secretion (lysozyme, total immunoglobulins, CEC).

**Keywords:** cows, bovine recombinant  $\alpha$ - and  $\gamma$ -interferons, milk, microbial contamination, lysozyme, total immunoglobulins, somatic cells.

### REFERENCES

1. Barkova A. S. the Modern means in the program of prevention of diseases of mammary gland in cows, and evaluation of their effectiveness / Barkova A. S., Kolchina A. F., E. I. Barashkin, E. I. Shurmanova// Agrarian Bulletin of Urals, 2012. — No. 12. — P. 18—21.

2. Konopeltsev I. G. Environmentally sound approaches to combat mastitis in cows / Konopeltsev I. G.// Russian veterinary journal. — 2007. — No. 5. — pp. 33—35.

3. Shabunin S. V., Klimov N. T., Nezhdanov A. G., Efanova L. I. Actual problems of therapy and prevention of mastitis in cows // Veterinary medicine. — 2011. — No. 12. — pp. 3—6.

4. Tarasenko M. N. Improvement of the methods of prevention of mastitis in highly productive cows: Dis. ... cand. vet. sciences / M. N. Tarasenko; Ekaterinburg, 2016. — 172 p.

5. Mashkovsky M. D. Drugs correcting the processes of the immune system (immune-modulators, immune-correctors). In the book.: Medicines (Manual for doctors). 1993, Part II, pp. 192—209.]

6. Prokulevitch V. A. Veterinary drugs based on interferons / Prokulevich, M. I. Potapovich // Bulletin of BSU, Series 2, Chemistry. Biology. Geography. — 2011. — No. 3. — pp. 51—55.

.....  
**Климов Николай Тимофеевич** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

**Зимников Виталий Иванович** — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

**Ерин Денис Александрович** — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

**Пашенцев Александр Викторович** — аспирант

**Манжурина Ольга Алексеевна** — кандидат ветеринарных наук, заведующая лабораторией

**Пархоменко Юлия Сергеевна** — младший научный сотрудник

**Каширина Людмила Николаевна** — младший научный сотрудник

**Клементьева Ирина Фёдоровна** — младший научный сотрудник

**Тюрина Евдокия Владимировна** — младший научный сотрудник

**Klimov Nikolay Timofeevich**—doctor of veterinary sciences, chief researcher

**Zimnikov Vitaly Ivanovich** — candidate of veterinary sciences, senior researcher

**Erin Denis Aleksandrovich** — candidate of veterinary sciences, senior researcher

**Pashentsev Aleksandr Viktorovich** — post-graduate student

**Manzhurina Olga Alekseevna** — candidate of veterinary sciences, head of the laboratory

**Parkhomenko Yuliya Sergeevna** — junior researcher

**Kashirina Lyudmila Nikolaevna** — junior researcher

**Klementyeva Irina Fyedorovna** — junior researcher

**Tyurina Evdokiya Vladimirovna** — junior researcher

## НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У ХРЯКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

© 2018 Г. Г. Чусова, В. И. Моргунова

*Федеральное агентство научных организаций России ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии, Воронеж  
E-mail: icrsa@mail.ru*

Материал поступил в редакцию 7.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье представлены результаты изучения обменных процессов в организме хряков производителей, принадлежащих трем свинокомплексам Белгородской области. Для исследования использовали 30 животных — одного возраста, одинаковой массы тела и продуктивности (по 10 хряков из каждого хозяйства).

У всех животных были выявлены достоверные различия по ряду биохимических показателей крови. На свинокомплексе-1, в результате проведенных исследований крови у хряков производителей установлено повышение уровня активности аланин-аминотрансферазы в 2,8 раза, аспаргат-аминотрансферазы на 86 %, кальциево-фосфорного соотношения на 31 %, количества сегментоядерных нейтрофилов — на 14 %, скорости оседания эритроцитов — на 89 %. У этих животных было отмечено снижение содержания общих липидов на 70 %, холестерина — на 56 %, глюкозы — на 37 %, глобулинов — на 21 %, магния — на 14 %, связанного с белком йода — на 57 %, железа — на 21 %, количества эритроцитов — на 11 %, величины гематокрита — на 16 %, цветового показателя крови — на 10 %, кислотной емкости сыворотки крови — на 17 % по сравнению с физиологической нормой.

Биохимические изменения, имевшие место у хряков производителей комплекса-1, наблюдались и у животных комплекса-2 и комплекса-3, но были более выраженными. Полученные результаты свидетельствуют о повышенной функциональной нагрузке на печень и наличии воспалительного процесса у животных. Энергетический дефицит и анемия, выявленные у хряков производителей, могут снижать качество спермы, половую активность и сократить продолжительность их эксплуатации.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости оптимизации обмена веществ у хряков производителей, что обеспечит максимальное проявление генетического потенциала продуктивности, продление сроков хозяйственного использования племенного поголовья и предупредит расстройства воспроизводительной функции.

Одним из перспективных направлений повышения воспроизводительных функций хряков может стать использование ряда биологически активных средств, обладающих иммуностимулирующим действием.

**Ключевые слова:** хряки-производители, обмен веществ, морфологические и биохимические показатели крови.

В результате внедрения в свиноводство методов искусственного осеменения возросли требования к племенным качествам хряков производителей, от которых зависит количество и качество приплода.

На образование спермы расходуется большое количество высокоценных белков и других питательных веществ. Нарушение процессов кормления и содержания хряков отрицательно отражается на половой активности и качестве спермопродукции и приводит к низкой оплодотворяемости свиноматок. Поэтому хряки должны постоянно находиться в состоянии половой кондиции, быть здоровыми, иметь высокую половую активность.

Кормление у них должно быть нормированным и полноценным [1].

Потребность хряков в питательных веществах зависит от живой массы, возраста, интенсивности использования, индивидуальных особенностей обмена веществ и физиологического состояния. Все происходящие в организме животных процессы, в той или иной степени отражаются на морфологическом составе крови и ее физико-химических свойствах. По этим изменениям можно объективно судить о физиологическом состоянии животных и уровне обмена веществ у них [2].

**Цель исследования** — по морфологическим и биохимическим показателям крови оценить со-

стояние обмена веществ у хряков производителей с учетом их физиологического состояния и дать рекомендации по его нормализации.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для сравнительной оценки морфологических и биохимических показателей крови у хряков производителей были использованы животные трех свиноккомплексов Белгородской области. На каждом комплексе была сформирована группа животных, состоящая из 10 хряков одного возраста, одинаковой массы тела и продуктивности.

В сыворотке крови определяли содержание кальция, мочевины, неорганического фосфора, холестерина, креатинина, глюкозы, активности щелочной фосфатазы (ЩФазы), гамма-глутамилтрансферазы (Г-ГТ), аланин- и аспартат-аминотрансферазы (АлАТ, АсАТ) на биохимическом анализаторе «Hitachi-902». Количество меди, цинка, железа, селена и марганца определяли на атомноабсорбционном спектрофотометре «Perkin-Elmer-703». Биохимические показатели, характеризующие липидный, углеводный и витаминный обмены, определяли унифицированными методами [3]. Морфологические показатели крови определяли унифицированными методами [4]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica v6.1, оценку достоверности — по критерию Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ полученных данных показал, что на комплексе — 1 в сыворотке крови хряков содержание общих липидов снижено на 70 %, холестерина — на 56 %, глюкозы — на 37 %, общих гло-

булинов — на 21 %, магния — на 14 %, связанного с белком йода (СБЙ) — на 57 %, железа — на 21 %.

Кроме того, у этих животных наблюдалось снижение количества эритроцитов в крови на 11 %, величины гематокрита — на 16 %, цветового показателя крови — на 10 % и кислотной емкости сыворотки крови — на 17 %. Уровень активности АлАТ у хряков превышал физиологическую норму в 2,8 раза, АсАТ — на 86 %, кальциево-фосфорное соотношение — на 31 %, количество нейтрофилов сегментоядерных — на 14 % и скорость оседания эритроцитов (СОЭ) — на 89 %.

У обследованных хряков производителей комплекса — 1 имеет место повышенная функциональная нагрузка на печень с риском развития гепатоза, на что указывает высокая активность аминотрансфераз. Высокий уровень СОЭ позволяет говорить о наличии воспалительных процессов у животных.

Кроме того, проблемой у этих животных является энергетический дефицит (низкое содержание в крови глюкозы, общих липидов, холестерина), который снижает качество спермы и половую активность хряков. Также следует отметить предрасположенность животных к анемии (низкое количество эритроцитов в крови и низкое содержание железа в сыворотке крови). Анемия у хряков является одним из факторов, которая сокращает сроки их хозяйственного использования.

Из анализа данных, представленных в таблицах 1 и 2 видно, что в сыворотке крови хряков на свиноккомплексе-2 содержание общих липидов снижено на 61 %, холестерина — на 43 %, общих глобулинов — на 14 %, коэффициента Де Ритиса — на 16 %, магния — на 12 %, СБЙ — на 14 %, железа — на 17 %, кальциево-фосфорное соотношение — на 16 %.

Таблица 1

Биохимические показатели крови у хряков-производителей

Показатели	Референтные величины	Хряки-производители		
		Свиноккомплексы Белгородской области		
		комплекс-1 (n = 10)	комплекс-2 (n = 10)	комплекс-3 (n = 10)
1	2	3	4	5
В сыворотке крови				
Общие липиды, г/л	3—4,5	0,90±0,09*	1,17±0,10*	1,54±0,06*
Холестерин, мМ/л	1,56—2,86	0,69±0,14*	0,89±0,03*	2,58±0,10*
Триглицериды, мМ/л	0,22—0,88	0,42±0,04*	0,27±0,02*	0,33±0,01*

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
Общий белок, г/л	70—85	76,54±2,83*	85,40±3,05*	74,60±1,24*
Альбумины, г/л	30—46	46,61±2,04*	51,59±1,35*	47,68±2,48*
Глобулины, г/л	39,5—60	31,09±3,56*	33,8±2,70*	31,37±2,01*
А/Г коэффициент	0,8—1,0	0,91±0,16*	1,55±0,18*	1,52±0,12*
Мочевина, мМ/л	3,3—6,7	5,17±0,22*	5,47±0,49*	2,96±0,10*
Креатинин, мкМ/л	61—167	166,0±2,58*	171,0±1,90	152,0±3,78*
Общий билирубин, мкМ/л	1,4—5,1	3,35±0,29*	3,45±0,33*	3,02±0,50*
альфа-Амилаза, мг/с л	29,93—60,50	57,3±1,02*	59,2±0,92*	59,8±0,29*
АсАТ, Е/л	8—25	46,6±4,88*	63,0±4,98*	33,0±5,00*
АлАТ, Е/л	7—15	42,2±4,02*	52,8±5,12*	42,5±5,15*
Коэф. Де Ритиса	1—1,5	1,1	0,84	0,78
гамма-ГТ, Е/л	24—44	40,4±3,74*	45,0±3,40*	33,5±3,90*
ЩФазы, Е/л	42—130	102,0±3,60*	137,0±2,96*	67,0±2,61*
Кислотная емкость сыворотки крови, мг %	300—460	247,8±4,57*	331,8±6,24*	272,0±4,00*
Концентрация иммуноглобулинов	22—35 г/л	24,95±0,81*	28,18±1,05*	49,04±0,23*
Глюкоза, мМ/л	3,3—5,5	2,07±0,12*	4,56±0,35*	4,14±0,17*
Витамин А, мкМ/л	0,6—1,6	0,60±0,05*	0,8±0,30*	0,6±0,10*
Витамин Е, мкМ/л	7,0—17,4	8,4±0,50*	7,5±0,40*	7,2±0,30*
Кальций, мМ/л	2,4—3,5	2,64±0,04*	2,53±0,05*	2,74±0,01*
Фосфор, мМ/л	1,29—2,9	2,47±0,13*	2,59±0,07*	2,38±0,10*
Са/Р	1,5—2,0	1,38	1,26	1,5
Магний, мг %	2,5—3,5	2,16±0,01*	2,19±0,05*	2,16±0,02*
СБЙ, мкг %	4—6	1,71±0,10*	3,44±0,37*	3,50±0,34*
Медь, мкг %	80—140	130,4±4,39*	129,8±4,76*	157,6±5,14*
Цинк, мкг %	100—160	117,0±4,10*	103,9±5,84*	-
Железо, мкг %	160—200	126,2±2,93*	133,2±3,84*	173,5±3,55*
В цельной крови				
Марганец, мкМ/л	2,7—3,6	2,7±0,10*	3,4±0,10*	3,2±0,30*
Селен, мкМ/л	0,9—1,3	1,2±0,10*	1,0±0,20*	1,3±0,10*
Кобальт, мкМ/л	0,4—0,9	0,6±0,10*	0,7±0,20*	0,6±0,10*
Цинк, мкМ/л	40—60	-	-	41,9±4,40*

\* P < 0,01 по сравнению с референтными величинами

Кроме того, у этих животных наблюдалось снижение в крови количества нейтрофилов палочкоядерных — на 67 % и цветового показателя крови — на 11 %. Уровень активности АлАТ у хря-

ков этого комплекса превышал физиологическую норму в 3,5 раза, АсАТ — в 2,5 раза, альбумина — на 12 %, альбумин-глобулинового коэффициента (А/Г) — на 55 %.

Таблица 2

## Морфологические показатели крови у хряков производителей

Показатели крови	Референтные величины	Хряки производителя		
		комплекс-1 (n = 10)	комплекс-2 (n = 10)	комплекс-3 (n = 10)
Лейкоциты*, 10 <sup>9</sup> /л	8—16	13,8±1,17*	11,5±0,43*	14,5±1,48*
Эритроциты*, 10 <sup>12</sup> /л	6—7,5	5,35±0,46*	6,72±0,16*	6,32±0,29*
Тромбоциты*, 10 <sup>9</sup> /л	180—300	231,4±40,6*	195,2±29,8*	217,2±30,0*
СОЭ, мм/час	2—9	17±4,29*	4,2±1,17*	3,87±1,26*
Гемоглобин, г/л	99—150	127,2±5,66*	160,5±5,85*	129,5±0,78*
Гематокрит, %	39—45	32,79±2,00*	46,03±1,71*	36,7±0,81*
Цветовой показатель	0,8—1,0	0,719±0,05*	0,71±0,02*	0,61±0,02*
Лейкограмма %:				
палочкоядерные нейтрофилы	3—6	3,0±0,59*	1,0±0,01*	2,0±0,39*
сегментоядерные нейтрофилы	25—35	40,0±2,93*	37,0±3,32*	33,0±3,12*
эозинофилы	4—12	8,0±3,51*	7,0±1,56*	5,0±0,39*
базофилы	0,3—0,8	-	-	-
моноциты	2—5	2,0±0,78*	3,0±0,78*	2,0±0,39*
лимфоциты	40—50	47,0±3,32*	52,0±3,90*	58,0±2,93*

\* P < 0,01 по сравнению с референтными величинами

Изменения, которые имели место в метаболическом профиле у хряков комплекса — 1, наблюдались у хряков комплекса — 2, только они были еще более выраженными. Анализ полученных результатов указывает на высокую индивидуальную вариабельность показателей крови. Так, коэффициент вариации общего белка составляет 17,6 %, а СБЙ — более 50 %, что свидетельствует о выраженном различии состояния здоровья у хряков комплекса-2. Факт повышения уровня ферментов

белкового обмена, в частности, аминотрансфераз и коэффициента

Де Ритиса может стать причиной развития у хряков хронических форм болезни печени. Поэтому этим животным в первую очередь рекомендуется введение в рацион гепатопротекторов, которые смогут нормализовать функцию печени.

Угрозой для хряков производителей данной группы является состояние энергетического обмена, на что указывает дефицит липидов и холесте-

рина, т. е. на фоне напряженного белкового обмена формируется дефицит энергии. Кроме того, у животных этой группы отмечены выраженные признаки нарушения минерального обмена веществ, которые проявлялись в дефиците железа, магния, СБЙ, нарушение соотношения кальция и фосфора. Эти изменения могут привести к уменьшению продолжительности эксплуатации животных и являются причиной снижения качества спермы.

Что же касается хряков производителей комплекса-3, то из данных таблиц видно, что у них в сыворотке крови содержание общих липидов снижено на 49 %, мочевины — на 10 %, коэффициента Де Ритиса — на 22 %, магния — на 14 %, СБЙ — на 13 %. Кислотная емкость сыворотки крови снижена на 9 %. У этих животных наблюдалось снижение в крови количества нейтрофилов палочкоядерных — на 33 %, цветового показателя крови — на 24 %, величины гематокрита — на 6 %.

Уровень активности АЛАТ у хряков комплекса-3 превышал физиологическую норму в 3 раза, АсАТ — на 32 %, концентрация иммуноглобулинов — на 40 %, количество меди — на 13 % и лимфоцитов — на 16 %. Полученные данные концентрации иммуноглобулинов превышают общепринятые пределы. Однако, в условиях промышленного свиноводства, по причине сравнительно высокой антигенной нагрузки, концентрация иммуноглобулинов выше рекомендуемых норм. Поэтому, при анализе результатов учитывали как показатели отдельных животных и технологических групп, так и их вариабельность в масштабе комплекса.

Полученные данные у животных комплекса-3 показывают сравнительно небольшое межгрупповое различие, что позволяет предположить отсутствие острых инфекционных заболеваний, но подтверждает повышенный уровень антигенной нагрузки. При этом возрастает значение вариабельности обмена веществ и иммунной системы, так как ослабление здоровья у отдельных животных на фоне повышенной антигенной нагрузки может привести к прорыву иммунитета и возникновению заболевания. Для многих комплексов характерен вариационно-масштабный тип изменения эпизоотической ситуации, характеризующийся одномоментным заболеванием группы животных и пороговым нарастанием заболеваемости. Однако, на комплексе — 3 имеет место вариационно-точечный тип изменения эпизоотической ситуации, характе-

ризующийся появлением явных симптомов заболевания у отдельных животных, но при этом у группы животных имеют место скрытые формы болезни. Повышенный уровень иммуноглобулинов у хряков производителей может быть обусловлен наличием у животных воспалительных процессов (высокий коэффициент СОЭ). На наличие воспаления указывает изменение лейкоцитарного профиля. У хряков комплекса-3 понижена кислотная емкость сыворотки крови, которую необходимо корректировать до требуемого уровня. Для этого нужно оценить рацион по уровню анионов и катионов с акцентом на уровень обеспеченности магнием.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суммируя представленные результаты необходимо организовать на этих свинокомплексах мониторинг состояния животных с периодичностью в 2 месяца, что позволит не только оценить состояние животных, но и динамику иммуно-метаболических процессов, а также эффективность проводимых мероприятий и покажет возникающие риски.

При корректировке рационов по минеральным веществам особенно необходимо контролировать соотношение кальция и фосфора.

Уровень кормления хряков-производителей должен быть умеренным и находиться в соответствии с условиями их содержания и использования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шапошников И. Т., Чусова Г. Г., Моргунова В. И. Оценка обмена веществ у хряков на основе биохимического анализа крови. — Актуальные вопросы современных сельскохозяйственных наук. Материалы V Международной научно-практической конференции. — Екатеринбург, 2018, с. 18—20.
2. Саломатин В. В., Ряднов А. А., Ряднова Т. А. — Физиологические показатели откармливаемых свиней при использовании в рационе биологически активных препаратов. — Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство, 2012, № 6, с. 39—41.
3. Рецкий М. И., Шахов А. Г., Шушлебин В. И., Саломатин А. М., Мисайлов В. Д., Чусова Г. Г., Золотарев А. И. и др. — «Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных» — Воронеж, 2005, с. 44—94.
4. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник // Под ред. Кондрахина И. П. — М., Колос, 2004, с. 48—64.

## THE MOST COMMON DISORDERS OF THE METABOLISM OF THE BREEDING BOARS

© 2018 G. G. Chusova, V. I. Morgunova

Federal Agency of scientific organizations of Russia All-Russian veterinary research Institute of pathology, pharmacology and therapy of the Russian agricultural Academy, Voronezh  
E-mail: icrsa@mail.ru

Received 7.05.2018

**Abstract.** The article presents the results of the study of metabolic processes in the body of the breeding boars belonging to three pig complexes of the Belgorod region. The study used 30 animals of the same age, the same body weight and productivity (10 boars from each farm).

All animals were found to have significant differences in a number of biochemical parameters of blood. At the pig farm1, the result of the boars blood samples showed the increase of alanine-aminotransferase activity by 2.8 times, aspartate-aminotransferase activity — by 86 %, calcium-phosphorus ratio by 31 %, the number of segmented neutrophils-14 %, the rate of sedimentation of red blood cells-89 %. These animals showed a decrease in total lipids by 70 %, cholesterol-by 56 %, glucose — by 37 %, globulins — by 21 %, magnesium — by 14 %, associated with iodine protein — by 57 %, iron — by 21 %, the number of red blood cells — by 11 %, hematocrit value — by 16 %, the colour index of blood — by 10 %, the acid capacity of blood serum-by 17 % compared to the physiological norm.

Biochemical changes that took place in breeding boars of complex-1 were also observed in the animals of complex-2 and complex-3, but were more pronounced. The results obtained indicate an increased functional load on the liver and the presence of inflammation in the animals. Energy deficits and anaemia detected in the boars can reduce sperm quality, sexual activity and duration of their exploitation.

The results indicate the need to optimize the metabolism of the breeding boars, which will ensure the maximum manifestation of the genetic potential of productivity, the extension of the economic use of breeding stock and prevent disorders of reproductive function.

One of the promising directions of increasing the reproductive functions of boars can be the use of a number of biologically active agents with immune-stimulating effects.

**Keywords:** breeding boars, metabolism, morphological and biochemical parameters of blood.

### REFERENCES

1. Shaposhnikov I. T., Chusova G. G., Morgunova V. I. — Evaluation of metabolism in boars on the basis of biochemical analysis of blood. — Topical issues of modern agricultural sciences. Proceedings of the Vth international scientific and practical conference. — Ekaterinburg, 2018, pp. 18—20.
2. Salomatin V. V., Varakin A. T., Nikolaev S. I., Kharlamova E. A., Kulik D. K. — Influence of complex mineral additive on morphological and biochemical parameters of blood of breeding boars. — Veterinary, 2017, no. 8, pp. 46—48.
3. Salomatin V. V., Ryadnov A. A., Ryadnova T. A. — Physiological indices of fattened pigs when using biologically active preparations in the diet. — Farm animal feeding and feed production, 2012, No. 6, pp. 39—41.
4. Retskiiy M. I., Shakhov A. G., Shushlebin V. I., Samotin A. M., Misaylov D. V., Chusova G. G., Zolotarev A. I., et.al. — «Guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of disorders of metabolism in productive animals» — Voronezh, 2005, pp. 44—94.
5. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics: Reference book / ed Kondrahin I. P. — M., Kolos, 2004, pp. 48—64.

Чусова Галина Германовна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Моргунова Валентина Ивановна — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник

Chusova Galina Germanovna — candidate of biological sciences, leading researcher

Morgunova Valentina Ivanovna — candidate of veterinary sciences, leading researcher

## ВЛИЯНИЕ УНИТИОЛА НА СОСТОЯНИЕ МУКОЦИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ ТЕЛЯТ В ПЕРИОД РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

© 2018 М. С. Жуков, Ю. Н. Алехин

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, Воронеж*  
E-mail: *exterapi@yandex.ru, maxim.zhukoff2015@yandex.ru*

Материал поступил в редакцию 24.05.2018 г.

**Аннотация.** Проведены исследования по изучению механизма действия и влияние дозы «Унитиола» (димеркаптопропансульфонат натрия моногидрат) на мукоцилиарную систему. Выявлено, что димеркаптопропансульфонат натрия моногидрат оказывает выраженное влияние на параметры внешнего дыхания и реологические свойства мокроты. Этот терапевтический эффект зависит от дозы и наиболее выражен при парентеральном введении в дозе 10 мг/кг массы тела.

**Ключевые слова:** телята, респираторные болезни, мукоцилиарная система, реконвалесценция, унитиол.

### ВВЕДЕНИЕ

Респираторные болезни крупного рогатого скота имеют широкое распространение. При их возникновении в значительной степени нарушается функция мукоцилиарной системы [8, 9], которая обеспечивает выведение мокроты из респираторного тракта. В результате сбоя мукоцилиарного транспорта возникает обструкция участков бронхиального дерева, что приводит к возникновению дыхательной недостаточности, которая отяжеляет течение респираторной патологии. Также следует отметить, что после окончания лечения в течение первых 10 суток наблюдаются остаточные патологические явления нарушенной функции мукоцилиарной системы, которые могут сохраняться у некоторых животных в дальнейшем, что создает высокий риск возникновения повторного респираторного заболевания. В соответствии с этим особую актуальность имеют мукоактивные препараты, направленные на коррекцию функции мукоцилиарной системы. В гуманной медицине для решения данной задачи часто используется ацетилцистеин, который относится к группе тиоловых производных, механизм действия которых основан на разрушении дисульфидных связей мукополисахаридов за счет сульфгидрильных групп [1, 10]. В ветеринарной медицине данную группу препаратов представляет только «Унитиол» (димеркаптопропансульфонат натрия моногидрат), который назначается для лечения отравлений тяжелыми металлами

и для снижения явлений «окислительного стресса» [2, 3, 5]. Имеются единичные источники [4], указывающие на влияние «Унитиола» на параметры мукоцилиарной системы, которые не дают оснований для широкого его применения в клинической практике. В соответствии с этим целью данной работы стало изучение механизма действия и влияние данного препарата на мукоцилиарную систему.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в ООО «Авангард-Агро-Воронеж» на телятах 4 месячного возраста голштинской породы. В опыте было задействовано 5 групп животных. В первую (n = 6) — контрольную, вошли клинически здоровые животные. Четыре опытные группы были сформированы из телят, прошедших курс лечения бронхопневмонии, обследование которых показало отсутствие у них явных клинических симптомов болезни, но наличие скрытой формы дыхательной недостаточности. Животным из групп № 2 (n = 3), № 3 (n = 3) и № 4 (n = 3) однократно внутримышечно вводили 5 % раствор унитиола в дозе соответственно 5; 10 и 15 мг/кг. В группе № 5 (n = 3) — «отрицательный» контроль, препараты не назначали. В начале опыта и через 24 часа после введения препарата все животные подвергались комплексному обследованию, включающему в себя запись трахеофонограммы во время спокойного дыхания и оценку

реологических свойств трахеобронхиального секрета на основании показателей вязкости и адгезии [6, 7]. Полученная трахеофонограмма подвергалась компьютерному анализу с определением времени фазы вдоха (Tin) и выдоха (Texp), отношения фаз дыхания (Tin/Texp), времени респираторного цикла (Tvp), интенсивности звука на частоте 200 (L<sub>200</sub>), 750 (L<sub>750</sub>), 1000 (L<sub>1000</sub>) и 1400 Гц (L<sub>1400</sub>).

Статистический анализ результатов проводили с использованием программы Statistica v6.1 («Star Soft», США). Различия между опытными группами оценивали методом парных сравнений, используя t-критерий Стьюдента с признанием их достоверными при уровне значимости (вероятность ошибки)  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что у переболевших телят в начале опыта имеет место тахипноэ и дисбаланс между фазами дыхания, наличие остаточных патологических явлений в бронхах крупного и среднего калибра, а также дольковых бронхах в краниальной доле. Инъекция 5 % раствора унитиола в дозе 5 мг/кг вызвала через 24 часа

увеличение времени вдоха на 21,9 %, но уменьшение выдоха на 8,8 %. Отношение фаз дыхания возросло на 25,5 % по сравнению с исходным состоянием, однако частота дыхания при этом значительно не изменилась.

Анализ трахеофонограммы показал, что в течение суток произошло снижение интенсивности звука на частотах 200, 750, 1000 и 1400 Гц соответственно на 7,7; 36,6; 17,1 и 6,8 %, что вероятно стало следствием изменения реологических свойств мокроты. Так, вязкость уменьшилась на 6 %, а адгезия на 6,7 %. Тем не менее последний показатель остался на высоком уровне (на 9,8 % выше показателей здоровых) (табл. 1).

При введении «Унитиола» в дозе 10 мг/кг у животных через 24 часа увеличились продолжительность респираторного цикла, время вдоха и выдоха соответственно на 15,3; 18,8 и 11,9 %. Хотя дисбаланс фаз дыхания сохранился. Акустический анализ дыхательных шумов показал снижение интенсивности звука на контрольных частотах соответственно на 25,6; 17,2; 18,4 и 2,9 %. Препарат в данной дозе нормализовал вязкость и снизил адгезию секрета, уменьшив их показатели соответственно на 6,6 и 10,2 %.

Таблица 1

Влияние «Унитиола» на показатели внешнего дыхания телят.

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
1	2	3	4	5	6
Масса	132,2±1,35	131,7±1,05	133,0±1,24	130,9±0,98	130,3±1,12
ЧДД/мин	26,0±1,00 25,5±0,80	39,3±1,10 40,0±0,58	39,0±0,90 35,0±1,15*	38,5±0,88 31,0±0,58*	39,0±1,28 39,5±1,15
Tin, с	1,15±0,023 1,13±0,018	0,64±0,024 0,78±0,012*	0,64±0,018 0,76±0,023*	0,63±0,033 1,04±0,012*	0,66±0,039 0,65±0,033
Texp, с	0,95±0,006 0,96±0,006	0,68±0,045 0,62±0,006	0,67±0,032 0,75±0,012*	0,65±0,035 0,69±0,012	0,68±0,057 0,66±0,055
Tvp, с	2,1±0,012 2,09±0,009	1,32±0,065 1,35±0,020	1,31±0,040 1,51±0,035*	1,28±0,045 1,72±0,024*	1,34±0,055 1,31±0,053
Tin/Texp	1,2±0,012 1,2±0,012	0,94±0,012 1,18±0,043*	0,96±0,032 1,01±0,012	0,97±0,033 1,51±0,046*	0,97±0,031 0,98±0,031
L200, дБ	-41,3±2,96 -42,1±0,58	-40,2±1,24 -43,3±1,45	-39,8±1,45 -50,0±2,31*	-40,8±1,88 -49,0±0,58*	-41,0±1,53 -39,8±1,45
L750, дБ	-64,7±0,88 -64,1±0,56	-54,4±1,45 -74,3±2,33*	-54,0±1,56 -63,3±1,45*	-53,6±1,64 -67,7±0,33*	-54,7±1,45 -54,9±1,45

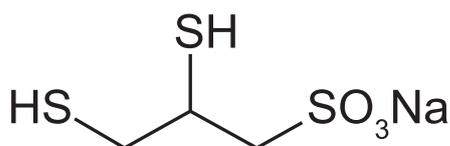
Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
L1000, дБ	-71,0±2,08 -71,5±1,88	-61,5±0,68 -72,0±1,53*	-60,8±0,98 -72,0±0,006*	-61,8±1,24 -71,0±0,58*	-61,7±0,88 -61,0±0,68
L1400, дБ	-70,7±1,20 -70,3±1,76	-70,9±0,58 -75,7±0,88*	-70,0±0,45 -72,0±2,31	72,1±0,98 -80,3±1,76*	-70,3±1,45 -70,7±1,33
Вязкость, м <sup>2</sup> /с·10 <sup>-6</sup>	1,226±0,013 1,234±0,012	1,341±0,010 1,261±0,003*	1,317±0,009 1,230±0,005*	1,354±0,012 1,190±0,007*	1,360±0,013 1,352±0,015
Адгезия, г/см <sup>2</sup>	1,020±0,011 1,031±0,006	1,213±0,012 1,132±0,016*	1,234±0,008 1,108±0,017*	1,220±0,010 1,100±0,007*	1,194±0,012 1,208±0,011

\*  $p \leq 0,05$  в сравнении с исходными данными, верхняя строка — исходные данные, нижняя строка — данные через 24 часа

Увеличение дозы препарата до 15 мг/кг вызвало увеличение продолжительности респираторного цикла, вдоха и выдоха соответственно на 34,4; 65,1 и 6,2 %. В результате частота дыхания сократилась на 19,5 %, но резко возрос дисбаланс между фазами дыхания на 55,7 % до уровня, который выше показателей здоровых на 25,8 %. Вязкость и адгезия уменьшились на 12,1 и 9,8 %, а на трахеофонограмме сила звука на частотах 200, 750, 1000 и 1400 Гц снизилась соответственно на 20,1; 26,3; 14,9 и 11,4 %.

Таким образом проведенные исследования показали, что «Унитиол» оказывает влияние на реологические свойства секрета, проявляющееся в уменьшении вязкости и адгезии мокроты. Механизм данного действия обусловлен тем, что в молекуле димеркаптопропансульфоната натрия моногидрата имеется сульфгидрильная группа (рис.), которая разрывает дисульфидные связи кислых мукосахаридов мокроты, тем самым снижая их полимеризацию, в результате чего уменьшается вязкость и адгезия мокроты. Это положительно сказывается на состоянии внешнего дыхания в следствии активизации дренажной функции бронхов, нормализации соотношения фаз дыхания и снижения выраженности одышки.



Структурная формула димеркаптопропансульфоната натрия моногидрата

Степень проявления муколитического действия зависит от дозы введения препарата. Инъекция 5 % раствора унитиола в дозе 5 мг/кг снижает вязкость мокроты, но не оказывает существенного влияния на адгезию и выраженность одышки. Более выраженное влияние на параметры внешнего дыхания и реологические свойства мокроты отмечены при введении унитиола в дозе 10 мг/кг. При этом нормализовалась вязкость и улучшилась адгезия, что облегчило отхождение мокроты, улучшило акустические параметры дыхательных шумов и снизило выраженность одышки. Увеличение дозы унитиола до 15 мг/кг, несмотря на позитивную тенденцию со стороны реологических параметров, стало причиной развития инспираторной одышки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что димеркаптопропансульфонат натрия моногидрат оказывает выраженное влияние на реологические свойства мокроты и параметры внешнего дыхания, тем самым указывая на его перспективность использования в качестве мукоактивного средства. Данный терапевтический эффект зависит от дозы и наиболее выражен при парентеральном введении в дозе 10 мг/кг массы тела.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. — 16-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: Новая волна, 2012. — 1216 с.
2. Пенькова И. Использование нетрадиционных кормовых средств для производства экологически безопасной продукции скотоводства / И. Пенькова, О. Миши-

на // Молочное и мясное скотоводство. — 2009. — № 6. — С. 23—26.

3. Рецкий М. И. Коррекция антиоксидантного статуса новорожденных телят для формирования более высокого колострального иммунитета / М. И. Рецкий, А. Г. Шахов, Д. В. Чусов и др. // Российская сельскохозяйственная наука. — 2010. — № 2. — С. 42—44.

4. Солопов В. Н. Роль серосодержащих соединений в патогенезе и лечении хронических неспецифических заболеваний легких / В. Н. Солопов, И. И. Резников, А. Г. Чучалин // Клиническая Медицина. — 1988. — Т. 66 — № 6. — С. 60—63.

5. Червяков Д. К. Лекарственные средства в ветеринарии: Справочник / Д. К. Червяков, П. Д. Евдокимов, А. С. Вишкер. — М.: Колос. — 1970. — 415 с.

6. Шабунин С. В. Методическое пособие по оценке состояния и фармакологической коррекции мукоцилиарного клиренса при респираторных заболеваниях у крупного рогатого скота / С. В. Шабунин, Ю. Н. Алехин, М. С. Жуков, И. Р. Никулина. ГНУ ВНИВИПФиТ

Россельхозакадемии. — Воронеж: издательство «Истоки», 2017. — 94 с.

7. Шабунин С. В. Устройство для регистрации звуковых проявлений функционирования внутренних органов человека и животных: пат. № 169816 Рос. Федерация: МПК А61В 7/04 / С. В. Шабунин, Ю. Н. Алехин, М. С. Жуков; патентообладатель ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии. — № 2016124513; заявл. 20.06.2016; опубл. 03.04.2017. Бюл. № 10.

8. Chilivers M. A. Local mucociliary defence mechanisms / M. A. Chilivers, C.O'. Callaghan // Paediatr Respir Rev. — 2000. — Vol. 1 (1). — P. 27—34.

9. Meyerholz David K. Antimicrobial peptides and surfactant proteins in ruminant respiratory tract disease / David K. Meyerholz, Mark R. Ackermann // Vet Immunol Immunopathol. — 2005. — Vol. 108 (1—2). — P. 91—96.

10. Rubin B. K. Mucolytics, expectorants, and mucokinetic medications / B. K. Rubin // Respir. Care. — 2007. — Vol. 52. — P. 859—865.

## THE EFFECT OF UNITHIOL ON THE STATE OF THE MUCOCILIARY SYSTEM OF CALVES IN THE PERIOD OF RECOVALESCENCE OF RESPIRATORY DISEASES

© 2018 M. S. Zhukov, Yu. N. Alekhin

State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Voronezh  
E-mail: maxim.zhukoff2015@yandex.ru

Received 24.05.2018

**Abstract.** Studies were carried out on the mechanism of action and the effect of the dose of «Unithiol» (sodium dimercaptopropanesulfonate monohydrate) on the mucociliary system. It was revealed that sodium dimercaptopropanesulfonate monohydrate exerts a pronounced effect on the parameters of external respiration and the rheological properties of sputum. This therapeutic effect is dose dependent and most pronounced with parenteral administration at a dose of 10 mg / kg body weight.

**Keywords:** calves, respiratory diseases, mucociliary system, reconvalescence, sodium dimercaptopropanesulfonate monohydrate.

### REFERENCES

1. Mashkovskij M. D. Medicinal products / M. D. Mashkovskij — 16 th ed., revised, corrected and additional. — М.: Novoya volna, 2012. — 1216 p.

2. Pen'kova I. Use of non-traditional forage means for production of ecological safe cattle-breeding products / I. Penkova, O. Mishina // Dairy and beef cattle breeding — 2009. — Vol. 6. — P. 23—26.

3. Retskij M. I. Correction of the antioxidant status — a metabolic basis of optimum formation colostral immunity at neonatal calves / M. I. Retskij, A. G. SHakhov,

D. V. Chusov et al. // Russian Agricultural Science. — 2010. — Vol. 2. — P. 42—44.

4. Solopov V. N. The role of sulfur-containing compounds in the pathogenesis and treatment of chronic non-specific lung diseases / В. Н. Солопов, И. И. Резников, А. Г. Чучалин // Clinical Medicine. — Vol.66 (6). — P. 60—63.

5. Chervyakov D. K. Medicines in veterinary medicine: Directory / D. K. Chervyakov, P. D. Evdokimov, A. S. Vishker. — М.: Kolos. — 1970. — 415 p.

6. Shabunin S. V. Methodical manual for the evaluation and pharmacological correction of mucociliary clearance in respiratory diseases of cattle / S. V. Shabunin, Yu.N.

Alekhin, M. S. Zhukov, I. R. Nikulina. State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences. — Voronezh: publishing house «Istoki», 2017. — 94 p.

7. Device for recording the sound manifestations of the functioning of the internal organs of man and animals: pat. № 169816 Russian Federation: MPC A61B 7/04 / S. V. Shabunin, Yu.N. Alekhin, M. S. Zhukov. — № 2016124513; declared. 20.06.2016; published. 03.04.2017. Bul. № 10.

8. Chilivers M. A. Local mucociliary defence mechanisms / M. A. Chilivers, C.O'. Callaghan // Paediatr Respir Rev. — 2000. — Vol. 1 (1). — P. 27—34.

9. Meyerholz David K. Antimicrobial peptides and surfactant proteins in ruminant respiratory tract disease / David K. Meyerholz, Mark R. Ackermann // Vet Immunol Immunopathol. — 2005. — Vol. 108 (1—2). — P. 91—96.

10. Rubin B. K. Mucolytics, expectorants, and mucokinetic medications / B. K. Rubin // Respir. Care. — 2007. — Vol. 52. — P. 859—865.

Жуков Максим Сергеевич — кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник

Алехин Юрий Николаевич — доктор ветеринарных наук, заведующий отделом

Zhukov Maxim Sergeevich — candidate of veterinary sciences, junior researcher

Alekhin Yuriy Nikolaevich — doctor of veterinary sciences, head of the department

## ЭМБРИОНАЛЬНАЯ СМЕРТНОСТЬ У МОЛОЧНЫХ КОРОВ И МЕТОДЫ ЕЕ ПРОФИЛАКТИКИ

© 2018 А. Г. Нежданов, В. И. Михалев, В. Н. Скориков, Е. Г. Лозовая

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
патологии, фармакологии и терапии, (8473) 253-92-81  
E-mail: mikhalevvit@yandex.ru*

Материал поступил в редакцию 14.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье представлены материалы по изучению эффективности применения сывороточного гонадотропина, получаемого из сыворотки крови жеребых кобыл, и антиоксидантного средства для профилактики синдрома задержки развития плода и внутриутробной его гибели. Установлено, что после применения сывороточного гонадотропина остались беременными 45,5 %, после селемага — 41,7 %, что на 5,3—9,1 % выше в сравнении с олиговитом и на 18,6—22,4 % — в сравнении с отрицательным контролем. После использования сывороточного гонадотропина и селемага происходило снижение случаев синдрома задержки развития плода до 8,3—9,1 % и внутриутробной гибели — до 9,1—16,7 %. Применение гонадотропных и антиоксидантных средств положительно сказалось на развитии эмбриона, размеры которого превышали аналогичные показатели интактных животных на 4,6—12,6 %.

**Ключевые слова:** коровы, внутриутробная гибель, сывороточный гонадотропин, антиоксиданты.

Обеспечение населения страны высококачественными молочными продуктами питания, в достаточном объеме, невозможно без надлежащего уровня продуктивности животных. Вместе с тем, рост молочной продуктивности отрицательно сказывается на воспроизводительной функции животных. Как отмечается в многочисленных сообщениях ученых, повышение молочной продуктивности сказывается на показателях оплодотворяемости от первого осеменения, которые в последнее время имеют тенденцию к снижению с 60—65 % до 35—38 % и менее, а также на повышении степени распространения ранней внутриутробной гибели [1, 6].

Важное значение в развитии эмбриопатий принадлежит эндогенной интоксикации и оксидативному стрессу, как универсальным звеньям патологии беременности [2, 4, 5]. У коров с нарушением эмбрионального развития регистрируется высокая активность течения процессов перекисного окисления липидов, сопровождаемая увеличением концентрации в крови МДА. При задержке развития оно составило 22,6—9,1 %, а при гибели эмбриона — 44,3—58,5 %. Патогенное токсическое воздействие на клеточные структуры развивающегося эмбриона оказывают также среднемoleкулярные продукты протеолиза — молекулы средней массы, содержание которых в крови коров при ги-

бели эмбрионов превышало у животных с физиологическим развитием зародыша на 28,6—69,0 %. О высоком уровне эндогенного токсикоза у коров с проявлением ранней эмбриональной смертности свидетельствует превышение активности в сыворотке крови  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в 1,4—2,1 раза и индекса интоксикации на 13,0—38,0 % [3].

В связи с этим, использование средств, обладающих антиоксидантным действием, является актуальным при профилактике нарушений раннего эмбриогенеза у молочных коров.

**Цель работы** — провести изучение эффективности применения гонадотропных и антиоксидантных средств для профилактики эмбриональной смертности и синдрома задержки развития плода у коров.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по изучению эффективности применения гонадотропных и антиоксидантных средств для профилактики эмбриональной смертности и задержки развития плода проведены на 47 животных, разделенных по принципу аналогов на четыре группы.

Коровам первой группы ( $n = 11$ ) внутримышечно вводили гонадотропный препарат фоллимаг на 1—3 дни после осеменения однократно в дозе 750 ИЕ.

Животным второй группы (n = 12) внутримышечно инъектировали препарат селемаг в день осеменения и на 12—14 дни после осеменения в дозе 5 мл/100 кг массы тела.

Коровам третьей группы (n = 11) внутримышечно вводили препарат олиговит в день осеменения и на 12—14 дни после осеменения в дозе 5 мл/100 кг массы тела.

Животные четвертой группы (n = 13) служили в качестве отрицательного контроля — без введения препаратов.

Оценка эффективности препаратов для профилактики внутриутробной задержки развития и смертности эмбрионов и плодов проводилась на 38—45 и 60—65 дни после осеменения методом УЗИ с использованием линейного датчика с частотой 7,5 МГц.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено (табл. 1), что после применения олиговита внутриутробная гибель регистрировалась у 9,1 % коров, синдром задержки развития плода — у 18,2 %, профилактическая эффективность составила — 36,4 %. Более высокие результаты профилактики эмбриопатий получены после применения селемага. Так, внутриутробная гибель и СЗРП зарегистрирована соответственно у 8,3 и 16,7 %. Наиболее эффективным для профилактики эмбриопатий у молочных коров оказался фоллимаг. После его применения остались беременными 45,5 %, что на 3,8—9,1 % выше в сравнении с другими средствами и на 22,4 % — в сравнении с отрицательным контролем. Применение фоллимага сопровождалось снижением синдрома задержки развития плода и внутриутробной гибели до 9,1 %.

Таблица 1

Эффективность применения гормональных и антиоксидантных средств для профилактики эмбриональной смертности и задержки развития плода у коров

Группа	Кол-во коров	Оплодотворилось		Внутриутробная гибель		Синдром задержки развития плода		Остались беременными, %
		коров	%	коров	%	коров	%	
1. Фоллимаг	11	6	54,5	1	9,1	1	9,1	45,5
2. Селемаг	12	6	50,0	1	8,3	2	16,7	41,7
3. Олиговит	11	5	45,5	1	9,1	2	18,2	36,4
4. Отрицательный контроль	13	5	38,5	2	15,4	2	15,4	23,1

Результаты клинических исследований были подтверждены эхографическими данными (табл. 2). Установлено, что копчико-теменной размер (длина) развивающегося эмбриона после применения фоллимага и селемага составили соответственно

$17,9 \pm 1,08$  и  $17,2 \pm 0,84$  мм, что на 8,2—12,6 % больше в сравнении с аналогичными показателями животных из группы отрицательного контроля, а диаметр корпуса — на 4,6—7,3 %.

Таблица 2

Метрические показатели эмбрионов у коров на 38—40 дни гестации при применении биологически активных препаратов

Группы	Копчико-теменной размер, мм	Диаметр корпуса, мм
1. Фоллимаг	$17,9 \pm 1,08$	$11,7 \pm 0,64$
2. Селемаг	$17,2 \pm 0,84$	$11,4 \pm 0,55$
3. Олиговит	$16,3 \pm 0,72$	$10,8 \pm 0,71$
4. Отрицательный контроль	$15,9 \pm 1,12$	$10,9 \pm 0,81$

Данные эхографических исследований по изучению метрических показателей сохранившихся эмбрионов на 38—40 дни гестации свидетельствуют о положительном влиянии применения гонадотропного и селенсодержащего препаратов на формирование и развитие эмбрионов.

**Заключение.** Наибольшую профилактическую эффективность показали препараты гонадотропного и антиоксидантного действия — фоллимаг и селемаг. Использование сывороточного гонадотропина и селемага позволило повысить число стельных коров на 18,6—22,4 %. Применение гонадотропных и антиоксидантных средств положительно сказалось на развитии эмбриона, размеры которого превышали аналогичные показатели интактных животных на 4,6—12,6 %.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузьмич Р. Г. Проблема ранних аборт у коров и возможности ее решения / Р. Г. Кузьмич, А. С. Клименко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена Знак Почета Государственная академия ветеринарной медицины». — 2014. — Т. 50. — № 1—1. — С 113—115.

2. Ляличкина Н. А. Значение эндогенной интоксикации в патогенезе плацентарной недостаточности при угрожающем аборте и экстрагенитальных заболеваниях у беременных / Н. А. Ляличкина, Л. П. Пешев, Ю. П. Балченкова, Л. П. Щукина // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 12—1. — С. 96—99.

3. Нежданов А. Г. Эмбриональные потери и эндогенные факторы риска их проявлений у молочных коров / А. Г. Нежданов, В. И. Михалев, Е. Г. Лозовая, Ю. Н. Масьянов, О. Ю. Фоменко // Ветеринария. — 2015. — № 7. — С. 39—43.

4. Сафонов В. А. Адаптивные изменения антиоксидантного и гормонального статуса коров / В. А. Сафонов // Ветеринария. — 2011. — № 6. — С. 32—33.

5. Сидельникова В. И. Эндогенная интоксикация и воспаление: последовательность реакций и информативность маркеров (обзор) / В. И. Сидельникова, А. Е. Черницкий, М. И. Рецкий // Сельскохозяйственная биология. — 2015. — Т. 50. — № 2. — С. 152—161.

6. Romano J. E. Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: Influence on embryo/fetal viability in dairy cattle / J. E. Romano, J. A. Thompson, D. C. Kraemer, M. E. Westhusin, D. W. Forrest, M. A. Tomaszewski // Theriogenology. — 2007. — Vol. 67. — P. 486—493.

## EMBRYONIC MORTALITY IN DAIRY COWS AND METHODS OF ITS PREVENTION

© 2018 A. G. Nezhdanov, V. I. Mikhalev, V. N. Skorikov, E. G. Lozovaya

*SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute  
of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh  
e-mail: mikhalevvit@yandex.ru*

Received 14.05.2018

**Abstract.** The article presents materials on the study of the effectiveness of serum gonadotropin obtained from the blood serum of foal mares, and antioxidant means for the prevention of fetus development delay syndrome and intrauterine death. Found that after applying serum gonadotropin remained pregnant of 45.5 %, after selamag — 41,7 %, which is 5.3 and 9.1 % higher in comparison with olegovit and 18.6 and 22.4 % in comparison with negative control. After use of serum gonadotropin and selimage there was a decrease in cases of syndrome of delayed fetus development to 8.3—9.1 % of fetus death — up to 9.1 and 16.7 %. The use of gonadotropic and antioxidant agents has a positive impact on the development of the embryo, the size of which exceeded the similar parameters of the intact animals by 4.6 12.6 per cent.

**Keywords:** cows, intrauterine death, serum gonadotropin, antioxidants.

#### REFERENCES

1. Kuzmich R. G. The problem of early abortions in cows and the possibility of its solution / R. G. Kuzmich, A. S. Klimenko // Scientific notes of the educational institution «Vitebsk order of the badge of Honour State Acade-

my of veterinary medicine». — 2014. — vol. 50. — No.1—1. — pp.113—115.

2. Larichkina N. A. The value of endogenous intoxication in the pathogenesis of placental insufficiency for threatened abortion and extra-genital diseases in pregnant women / N. A. Lanichkina, L. P. Peshev, J. P. Belchenkova,

L. P. Shchukina // Fundamental research. — 2012. — No.12—1. — pp. 96—99.

3. *Nezhdanov A. G.* Embryonic loss and endogenous risk factors of their manifestation in dairy cows / A. G. Nezhdanov, V. I. Mikhalev, E. G. Lozovaya Yu. Masanov, *Fomenko O. Yu.* // Veterinary Medicine. — 2015. — No. 7. — pp. 39—43.

4. *Safonov V. A.* Adaptive changes in the antioxidant and hormonal status of cows / V. A. Safonov // Veterinary. — 2011. — No. 6. — pp. 32—33.

5. *Sidelnikova V. I.* Endogenous intoxication and inflammation: the sequence of reactions and informative markers (review) / V. I. Sidelnikova, A. E. Chernitsky, M. I. Ret-sky // Agricultural biology. — 2015. — T. 50. — No. 2. — pp. 152—161.

6. *Romano J. E.* Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: Influence on embryo/fetal viability in dairy cattle / J. E. Romano, J. A. Thompson, D. C. Kraemer, M. E. Westhusin, D. W. Forrest, M. A. Tomaszewski // Theriogenology. — 2007. — Vol. 67. — pp. 486—493.

Нежданов Анатолий Григорьевич — профессор, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

Михалев Виталий Иванович — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

Скориков Владимир Николаевич — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Лозовая Елена Геннадьевна — аспирант

*Nezhdanov Anatoly Grigoryevich* — professor, doctor of veterinary sciences, chief researcher

*Mikhalev Vitaly Ivanovich* — doctor of veterinary sciences, chief researcher

*Skorikov Vladimir Nikolayevich* — candidate of veterinary sciences, senior researcher

*Lozovaya Elena Gennadyevna* — post-graduate student

## ГЕМОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ БЕРЕМЕННЫХ КОРОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ПОСЛЕРОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА

© 2018 В. Н. Скориков, В. И. Михалев, В. И. Моргунова, И. Ф. Климентьева

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии, г. Воронеж, Россия, 394087,  
e-mail: skorikov.75@yandex.ru*

Материал поступил в редакцию 8.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье в сравнительном аспекте рассмотрены гемоморфологические и биохимические показатели крови у коров с физиологическим течением послеродового периода и риском развития послеродового эндометрита. У животных с признаками гестоза на сроке 190—210 дней беременности в периферической крови установлено снижение показателей гранулоцитарного звена (палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов), лимфоцитов, антиоксидантного статуса. Вместе с тем отмечается напряженное функционирование системы ПОЛ-АОЗ, что может свидетельствовать о повышенной эндогенной интоксикации. У животных, предрасположенных к развитию острого послеродового эндометрита, перед отелом показатели палочкоядерных нейтрофилов,  $\gamma$ -глобулинов, общего кальция, витамина С, индекса эндогенной интоксикации, средних молекулярных пептидов были выше в сравнении с животными с физиологическим течением послеродового периода, что указывает на активизацию компенсаторно-приспособительных механизмов, на фоне высокой эндогенной интоксикации организма.

**Ключевые слова:** воспроизводство, послеродовые осложнения, гемоморфологический, биохимический профиль крови.

### ВВЕДЕНИЕ

Проблема воспроизводства крупного рогатого скота и профилактика бесплодия остаются одними из важных проблем ветеринарного акушерства. Послеродовые осложнения, в структуре которых ведущее место отводится эндометритам, значительно снижают воспроизводительную функцию коров и оказывают негативное влияние на экономические показатели отрасли [3, 5, 6, 7, 8].

Причины и предрасполагающие факторы возникновения эндометрита у коров закладываются задолго до родов и являются следствием очень сложного комплекса многочисленных факторов, проявляющихся фетоплацентарной недостаточностью, синдромом задержки развития плода и гестозом. Мероприятия по лечению и профилактики послеродовых эндометритов трудоемки и занимают много рабочего времени ветеринарных специалистов [3, 4, 5, 7].

В связи с этим, разработка новых превентивных и совершенствование раннее разработанных способов профилактики осложнений беременности и послеродового периода являются актуальными задачами ветеринарного акушерства.

Одним из методов доклинической диагностики является исследование крови. Которое позволяет выявить скрытые, не проявляющиеся клинические изменения в органах и тканях, определить возникновение осложнений заболевания, судить о тяжести болезни, функциональном состоянии отдельных органов, обеспечить контроль над терапией [1, 2].

**Цель работы** — изучить морфологические и биохимические показатели крови у беременных коров с физиологическим течением послеродового периода и риском развития послеродового эндометрита.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования являлась кровь беременных коров с физиологическим течением послеродового периода и риском развития послеродового эндометрита. В крови определяли гемоморфологические, биохимические и иммунологические показатели по общепринятым методам. Периферическую кровь получали в вакуумные пробирки до утреннего кормления. Полученный цифровой материал подвергали математической обработке

с помощью программы ExStat на ЭВМ PC AMD K7-800 Athlon.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 190—210 дней беременности (табл. 1) в крови коров с признаками гестоза в сравнении с физиологическим течением беременности содержание

палочкоядерных нейтрофилов оказалось ниже — на 35,2 % ( $P < 0,001$ ), сегментоядерных — на 13,9 %, что указывает на декомпенсацию гранулоцитарной системы этих животных. Содержание лимфоцитов, служащих основной защитной силой организма, оберегающих беременность от агрессии вирусных и бактериальных организмов было ниже — на 13,0 %.

**Таблица 1**

*Морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови коров в 190—210 дней беременности*

Показатели	Физиологически протекающая беременность, n = 12	Беременность с признаками гестоза, n = 10
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	7,5±0,6	7,6±0,5
Эозинофилы, %	9,7±0,9	10,9±0,7
Нейтрофилы, %:		
палочкоядерные	2,7±0,1	1,75±0,51***
сегментоядерные	38,2±3,0	32,9±2,8
Моноциты, %	2,3±0,12	2,6±0,2
Лимфоциты, %	54,0±2,7	47,0±4,0
Общий белок, г/л	80,4±1,9	89,2±4,1
Альбумины, %	40,3±0,7	40,9±1,8
α-глобулины, %	10,7±0,4	11,2±0,4
β-глобулины, %	23,2±0,6	23,6±0,3
γ-глобулины, %	25,8±0,7	24,3±1,5
Общие Jg, г/л	29,1±1,1	27,7±0,9
ЦИК, г/л	0,5±0,05	0,94±0,04
Кальций общий, мМ/л	2,7±0,06	2,6±0,04
Фосфор неорг., мМ/л	2,3±0,04	2,3±0,1
Магний, мМ/л	0,88±0,01	0,9±0,01
Витамин А, мкМ/л	2,3±0,1	2,0±0,2
Витамин Е, мкМ/л	18,6±1,8	11,9±1,4
Витамин С, мкМ/л	37,5±2,4	20,2±2,4***
НО, мкМ/л	66,5±3,6	42,6±4,2***
ИЭИ	13,0±1,01	18,9±1,03
СМП, у.е	0,42±0,1	0,75±0,15***

\*\*\*  $p < 0,001$

Показатели концентрации витаминов А, Е и С, обладающих проантиоксидантными свойствами были ниже соответственно — на 13,0, 36,0 и 53,9 % ( $P < 0,001$ ), оксида азота — на 35,9 % ( $P < 0,001$ ), что свидетельствует о пониженном иммунном и антиоксидантном статусе животных с послеродовыми осложнениями. Кроме того у коров с признаками гестоза содержание общего белка было выше на 10,9 %, индекс эндогенной интоксикации и средних молекулярных пептидов — соответственно — на 45,5 % и 78,6 % ( $P < 0,001$ ), что указывает на напряженное функционирование системы ПОЛ-АОЗ и эндогенную интоксикацию организма.

На заключительном этапе беременности 8,5—9,0 месяцев (табл. 2), установлено, что в крови коров с нормальным течением послеродового периода более высокое содержание моноцитов — на 46,7 % ( $P < 0,001$ ), иммуноглобулинов — на 17,1 %, витамина Е — на 55,4 % ( $P < 0,001$ ), в сравнении

с заболевшими послеродовым эндометритом, что указывает на более высокий иммунный, антиоксидантный статус их организма перед родами, при снижении индекса эндогенной интоксикации в 1,9—2,0 раза, концентрации средних молекулярных пептидов — в 1,5—2,0 раза ( $P < 0,001$ ).

У животных, предрасположенных к развитию острого послеродового эндометрита, перед отелом отмечено повышенное содержание палочкоядерных нейтрофилов на 58,3 % ( $P < 0,001$ ),  $\gamma$ -глобулинов — на 11,5 %, общего кальция — на 16,0 %, витамина С — на 70,0 % ( $P < 0,001$ ), индекса эндогенной интоксикации — в 2,05 раза ( $P < 0,001$ ), средних молекулярных пептидов — в 2,0 раза, ( $P < 0,002$ ), при снижении циркулирующих иммунных комплексов в 1,4 раза ( $P < 0,001$ ), что свидетельствует об активизации компенсаторно-приспособительных механизмов, а также о более высокой эндогенной интоксикации.

**Таблица 2**

*Морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови коров в 270—285 дней стельности*

Показатели	С физиологическим течением, n = 10	Заболевшие острым послеродовым эндометрит, n = 6
1	2	3
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	5,9±0,4	6,5±0,61
Эозинофилы, %	8,7±1,41	9,0±0,73
Нейтрофилы, %:		
палочкоядерные	2,4±0,2	3,8±0,2***
сегментоядерные	35,6±2,2	37,3±2,1
Моноциты, %	4,4±0,3***	3,0±1,2
Лимфоциты, %	49,8±3,54	47,8±4,3
Общий белок, г/л	68,7±0,51	66,9±1,4
Альбумины, %	45,6±0,71	43,5±1,3
$\alpha$ -глобулины, %	10,8±0,28	10,9±0,82
$\beta$ -глобулины, %	21,8±0,42	21,2±0,5
$\gamma$ -глобулины, %	21,8±0,3	24,3±1,3
Общие Jg, г/л	21,2±0,48	19,3±0,6
ЦИК, г/л	0,21±0,04	0,15±0,04***
Кальций общий, мМ/л	2,5±0,02	2,9±0,24

Окончание табл. 2

1	2	3
Фосфор неорг., мМ/л	2,3±0,1	2,1±0,1
Магний, мМ/л	0,94±0,01	0,93±0,01
Витамин А, мкМ/л	2,1±0,16	2,1±0,1
Витамин Е, мкМ/л	14,3±1,2	9,2±0,9***
Витамин С, мкМ/л	17,0±1,1	29,8±2,8***
NO, мкМ/л	69,1±4,4	77,3±2,1
ИЭИ	8,6±0,81	17,6±1,1***
СМП у.е	0,33±0,02	0,66±0,01***

\*\*\* p &lt; 0,001

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сроке беременности 190—210 дней в крови коров с риском развития послеродового эндометрита установлено снижение содержания палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, витаминов А, Е, С, обладающих проантиоксидантным действием, оксида азота, что свидетельствует о снижении иммунного статуса этих животных. Вместе с тем показатели эндогенной интоксикации были выше в сравнении с животными с физиологическим течением послеродового периода. У животных, предрасположенных к развитию острого послеродового эндометрита, перед отелом отмечено повышенное содержание палочкоядерных нейтрофилов,  $\gamma$ -глобулинов, общего кальция, витамина С, индекса эндогенной интоксикации, средних молекулярных пептидов, что свидетельствует об активизации компенсаторно-приспособительных механизмов, а также о высокой эндогенной интоксикации организма животных с патологией послеродового периода воспалительного характера.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барлаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Барлаган: М.: Ньюдиамед, 2008. — С. 292.
2. Долгов В. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свиринов: М.: Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. — С. 227.
3. Медведев Г. Ф. Влияние заболеваний метритного комплекса на частоту синдрома «повторение половой

охоты» у коров / Г. Ф. Медведев, Н. И. Гавриченко // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию со дня рождения Г. А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы ветеринарных акушеров. — Воронеж, 2012. — С. 332.

4. Михалев В. И. Принципы рациональной фармакотерапии послеродовых заболеваний у коров / В. И. Михалев // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию со дня рождения Г. А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы ветеринарных акушеров. — Воронеж, 2012. — С. 328.

5. Нежданов А. Г. Физиологические основы профилактики симптоматического бесплодия коров / А. Г. Нежданов: Автореф. дис. ... докт. вет. наук. — Воронеж, 1987. — 39 с.

6. Нежданов А. Г. Современные тенденции и перспективные пути решения проблемы профилактики послеродовых заболеваний у животных / А. Г. Нежданов с соавт. // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ГНУ Краснодарского НИВИ. — Краснодар, 2006. — С. 363—366.

7. Нежданов А. Г. Методическое пособие по профилактике бесплодия у высокопродуктивного скота / А. Г. Нежданов и др. — Воронеж, 2010. — 54 с.

8. Шабунин С. В. Практическое руководство по обеспечению продуктивного здоровья крупного рогатого скота / С. В. Шабунин и др. — Воронеж: Антарес, 2011. — 220 с.

## **GEOMORPHOLOGICALLY AND BIOCHEMICAL PROFILE OF PREGNANT COWS WITH RISK OF DEVELOPMENT OF POSTPARTUM ENDOMETRITIS**

© 2018 V. N. Skorikov, V. I. Mikhalev, V. I. Morgunova, I. F. Klimentyeva

*SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute  
of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh  
e-mail: skorikov.75@yandex.ru*

**Received 8.05.2018**

**Abstract.** Geomorphological and biochemical blood indices in cows with physiological course postnatal period and risk of postpartum endometritis are observed in the article in comparative perspective. In the animals with signs of preeclampsia in the period of 190—210 days of pregnancy in the peripheral blood the decline in granulocyte levels (stab and segmented neutrophils), lymphocytes, antioxidant status was registered. There is, however, a tense functioning of the LPO-AOD system, which may be indicative of high endogenous intoxication. In animals predisposed to the development of acute postpartum endometritis, before calving, indicators of rod neutrophils,  $\gamma$ -globulins, total calcium, vitamin C, endogenous intoxication index, average molecular peptides are higher in comparison with the animals with the physiological course of the postpartum period, which indicates the activation of compensatory-adaptive mechanisms, against the background of high endogenous intoxication.

**Keywords:** reproduction, post-partum complications, geomorphological, biochemical profile of blood.

### REFERENCES

1. *Barlagan Z. S.* Diagnosis and controlled therapy of haemostatic disorders / Z. S., Barlagan: M: Nudiamed, 2008. — p. 292.

2. *Dolgov V. V.* Laboratory diagnostics of haemostatic disorders / V. V. Dolgov, P. V. Svirin: M. — Tver: LLC «Publishing House «Triada», 2005. — p. 227.

3. *Medvedev G. F.* Influence of metrit complex diseases on the frequency of the syndrome «repetition of sexual heat» in cows / G. F. Medvedev, N. I. Gavrichenko // Modern problems of veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction: Materials of the international scientific-practical conference devoted to the 85th anniversary of the birth of G. A. Cheremisinov and the 50th anniversary of the Voronezh school of veterinary obstetricians. — Voronezh, 2012. — p. 332.

4. *Mikhalev V. I.* Principles of rational pharmacotherapy of postpartum diseases in cows / V. I. Mikhalev // Modern problems of veterinary obstetrics and animal reproduction biotechnology: materials of the international scientific

and practical conference devoted to the 85th anniversary of the birth of G. A. Cheremisinov and the 50th anniversary of the Voronezh school of veterinary obstetricians. — Voronezh, 2012. — p.328.

5. *Nezhdanov A. G.* Physiological bases of prevention of symptomatic infertility of cows / A. G. Nezhdanov: thesis. ... Doc. of vet. sciences. — Voronezh, 1987. — 39 p.

6. *Nezhdanov A. G.* Modern trends and promising ways to solve the problem of prevention of postpartum diseases in animals / A. G. Nezhdanov et al. // Actual problems of veterinary medicine in modern conditions: materials of the international scientific and practical conference devoted to the 60th anniversary of the Krasnodar SSU. — Krasnodar, 2006. — pp. 363—366.

7. *Nezhdanov A. G.* Methodical manual on prevention of infertility in highly productive cattle / A. G. Nezhdanov, et al.. — Voronezh, 2010. — 54 p.

8. *Shabunin S. V.* a Practical guide to creating productive health of the cattle / S. V. Shabunin, et al.. — Voronezh: «Antares», 2011. — 220 p.

**Скориков Владимир Николаевич** — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

**Михалев Виталий Иванович** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

**Моргунова Валентина Ивановна** — кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией

**Климентьев Ирина Федоровна.** — младший научный сотрудник

**Skorikov Vladimir Nikolaevitch** — candidate of veterinary sciences, senior researcher

**Mikhalev Vitaly Ivanovitch** — doctor of veterinary sciences, chief researcher

**Morgunova Valentina Ivanovna** — candidate of veterinary Sciences, head of laboratory

**Klymentyev Irina Fedorovna** — junior researcher

## КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ В КРОВИ У ОПЛОДОТВОРЕННЫХ И БЕСПЛОДНЫХ КОРОВ

© 2018 В. Н. Скориков, В. И. Михалев, И. В. Волкова, К. О. Копытина

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
патологии, фармакологии и терапии, (8473) 253-92-81  
E-mail: skorikov.75@yandex.ru*

Материал поступил в редакцию 26.04.2018 г.

**Аннотация.** В статье приводятся данные, характеризующие некоторые показатели цитокинового (ИЛ-2, ФНО- $\alpha$ ) и эндокринного (эстрадиола-17 $\beta$ , прогестерона) статуса в периферической крови у плодотворно осемененных и бесплодных коров в день осеменения. Установлены существующие различия в продукции исследуемых цитокинов и половых стероидов. Продукция ИЛ-2, ФНО- $\alpha$  была выше соответственно в 2,6 и 2,0 раза у плодотворно осемененных животных, а концентрация половых гормонов (эстрадиола-17 $\beta$  и прогестерона) ниже — на 20 и 48 %. Вышеизложенное подтверждает ведущую регулируемую роль половых стероидов и цитокинов на различных этапах репродуктивного цикла.

**Ключевые слова:** провоспалительные цитокины, половые стероиды, эндокринный статус, воспроизводство, бесплодие.

Несмотря на значительные достижения в изучении репродуктивной физиологии, проблема воспроизводства и профилактика бесплодия у высокопродуктивных коров является актуальной для ветеринарных практиков и ученых [5, 6].

Повышение оплодотворяющей способности коров и профилактика эмбриональной смертности одни из главных задач современного ветеринарного акушерства [3, 8].

В последние десятилетия благодаря современным высокочувствительным методам определения концентрации гипофизарных и других гормонов в биологических жидкостях организма животных получены новые данные о значении функционирования эндокринных желез, гормональном статусе и его контроле в механизме регуляции воспроизводительной функции млекопитающих [1].

Исследованиями, проведенными Черемисиновым Г.А., Неждановым А.Г., Лободным А.С. и др. учеными достаточно хорошо изучена роль эндокринного статуса при оценке состояния репродуктивной функции коров [3].

Вместе с тем, в работах Радченкова В.П., Петрова Г.Е. и др. показано, что весь ход созревания половых клеток, от оплодотворения до имплантации эмбриона и дальнейшего его развития в организме матери, сопровождается глубокими иммунологическими процессами [1]. Непосредственное участие

в реализации физиологических механизмов при становлении и прогрессировании беременности обеспечивают цитокины — основные медиаторы взаимодействия клеток иммунной системы организмов матери и плода. Их синтез осуществляется клетками лимфоидной ткани, трофобласта и децидуальной оболочки матки [2, 9].

Кроме того, принято считать, что ведущую роль в активном фетально-материнском взаимодействии на разных этапах репродуктивного цикла выполняют половые стероиды и цитокины [4, 7].

**Цель работы** заключалась в изучении концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-2, ФНО- $\alpha$ , половых стероидов: прогестерона и эстрадиола в периферической крови в день осеменения у плодотворно осемененных и бесплодных коров.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования являлась сыворотка крови коров, принадлежащих ОАО племзавод «Луч» Россошанского района Воронежской области, полученная в день осеменения от оплодотворенных и бесплодных коров. Периферическую кровь получали в вакуумные пробирки до утреннего кормления и исследовали набором реагентов для иммуноферментного определения концентрации ИЛ-2 и ФНО- $\alpha$  Интерлейкин-2-ИФА-БЕСТ и альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ фирмы Вектор-Бест.

Концентрацию половых стероидов: прогестерона, эстрадиола определяли с применением реагентов иммуноферментного определения эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови (ЗАО «НВО Иммунотех»). Принцип метода основан на конкуренции эстрадиола и прогестерона из измеряемой пробы меченных пероксидазой, за центры связывания специфичных к гормонам антител, иммобилизованных на поверхности лунок полистеролового планшета. Концентрацию исследуемых гормонов определяли по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания эстрадиола и прогестерона в исследуемых образцах. Полученные данные обрабатывали с помощью программы ExStat на ЭВМ PC AMD K7—800 Athlon.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На основании проведенных исследований установлено (табл. 1), что у плодотворно осемененных

коров в день осеменения концентрация ИЛ-2 составила  $5,4 \pm 0,42$  пг/мл, в то время как у оставшихся бесплодными —  $2,1 \pm 0,23$  пг/мл, что в 2,6 раза ( $P < 0,001$ ) меньше в сравнении с оплодотворенными животными. Таким образом, разница в концентрации данного цитокина дает основание предполагать, что иммунный ответ животных, оставшихся стельными, в день осеменения был выше, что может оказывать положительное влияние на фолликулогенез. Показатели ФНО- $\alpha$  также были выше у животных первой группы —  $4,4 \pm 0,38$  пг/мл, против  $2,1 \pm 0,31$  пг/мл у второй или больше в 2 раза ( $P < 0,001$ ). Таким образом процесс оплодотворения, в котором важную роль играют особенно провоспалительные цитокины, несмотря на различие взаимоотношений и разноплановости их действия, на основании полученных нами данных находился при доминировании ИЛ-2 и ФНО- $\alpha$  у оплодотворенных животных.

Таблица 1

Показатели концентрации цитокинов (пг/мл) в крови плодотворно осемененных и бесплодных коров, пг/мл

Группы животных	ИЛ-2	ФНО- $\alpha$
Плодотворно осемененные, n = 8	$5,4 \pm 0,42$	$4,4 \pm 0,38$
Бесплодные, n = 10	$2,1 \pm 0,23$	$2,1 \pm 0,31$

При определении содержания половых стероидов в периферической крови в день осеменения (табл. 2), также установлены межгрупповые различия. У коров, оставшихся бесплодными показатели эстрадиола были выше — на 20 % ( $P < 0,01$ ) и прогестерона — на 48 % или в 1,9 раза ( $P < 0,001$ )

в сравнении с плодотворно осемененными. Полученные данные, характеризующие эндокринный статус коров в стадию возбуждения полового цикла по-видимому имеют тесную взаимосвязь с цитокиновым профилем.

Таблица 2

Показатели концентрации половых гормонов (пг/мл) в крови плодотворно осемененных и бесплодных коров

Группы животных	Эстрадиол-17 $\beta$	Прогестерон
Плодотворно осемененные, n = 8	$1094,2 \pm 95,4$	$9,75 \pm 1,12$
Бесплодные, n = 10	$1371,2 \pm 1,12$	$18,6 \pm 2,03$

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В день осеменения у плодотворно осемененных коров профиль провоспалительных цитокинов ИЛ-2 и ФНО- $\alpha$  значительно превышал аналогичные показатели бесплодных животных. В тоже время концентрация половых стероидов: эстрадиола-17  $\beta$  и прогестерона была ниже. Вышеизложенное подтверждает наличие тесной взаимосвя-

зи цитокиново-стероидной регуляции репродуктивной системы.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Амагырова Т. О. Коррекция иммунобиологической реактивности организма коров биотехнологическими методами / Т. О. Амагырова: Улан-Уде, 2010. — С. 3—5.1. Нежданов, А. Г. Гормональный контроль за

воспроизводством крупного рогатого скота / А. Г. Нежданов, К. А. Лободин, Г. П. Дюльгер // Ветеринария. — 2008. — № 1. — С. 3—7.

2. *Артемьева К. А.* Морфофункциональные изменения органов иммунной системы и плаценты при спонтанных и мурамилдипептид-индуцированных абортгах у мышей / К. А. Артемьева: Дисс. ... канд. мед. наук. — Москва, 2017. — 39 с.

3. *Белик С. В.* Разработка способов повышения оплодотворяемости коров в условиях молочных комплексов / С. В. Белик: Дис. ... канд. вет. наук. — Воронеж, 2016. — 20 с.

4. *Еремеева Л. И.* Закономерности изменения цитокинов и плацентарных пептидов при гестозе / Л. И. Еремеева: Дисс. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 2006. — 28 с.

5. *Нежданов А. Г.* Современное представление о половом цикле самок животных / А. Г. Нежданов // Ветеринария. — 2003. — № 11. — С. 32—37.

6. *Нежданов А. Г.* Гормональный контроль за воспроизводством крупного рогатого скота / А. Г. Нежданов, К. А. Лободин, Г. П. Дюльгер // Ветеринария. — 2008. — № 1. — С. 3—7.

7. *Сидельникова В. М.* Привычная потеря беременности / В. М. Сидельникова. — Москва, 2002. — С. 70—111.

8. *Чомаев А.* Ранняя эмбриональная смертность у скота / А. Чомаев, О. Митяшова // Животноводство России. — Спецвыпуск. — 2015. — С. 57.

9. *Ширшев С. В.* Механизмы иммунного контроля процессов репродукции / С. В. Ширшев: Екатеринбург, 1999. — 382 с.

## THE CONCENTRATION OF SOME PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND SEX STEROIDS IN THE BLOOD FRUITFULLY INSEMINATED AND BARREN COWS

© 2018 V. N. Skorikov, V. I. Mikhalev, I. V. Volkova, K. O. Kopytina

*SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute  
of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh  
e-mail: skorikov.75@yandex.ru*

Received 26.04.2018

**Abstract.** The article presents data characterizing some indicators of cytokine (IL-2, TNF- $\alpha$ ) and endocrine (estradiol-17 $\beta$ , progesterone) status in peripheral blood of fruitfully inseminated and infertile cows on the day of insemination. The existing differences in the production of the studied cytokines and sex steroids were established. Production of IL-2, TNF- $\alpha$  was higher by 2.6 and 2.0 times, respectively, in fruitfully inseminated animals, and the concentration of sex hormones (estradiol-17 $\beta$  and progesterone) was lower by 20 and 48 %. The above confirms the leading regulatory role of sex steroids and cytokines at different stages of the reproductive cycle.

**Keywords:** proinflammatory cytokines, sex steroids, endocrine status, reproduction, infertility.

### REFERENCES

1. *Amagyrova T. O.* Correction of immune-biological reactivity of the organism of cows by biotechnological methods / T. O. Amagyrova: Ulan-Ude, 2010. — pp. 3—5.1. Nezhdanov, A. G. Hormonal control of reproduction in cattle / Nezhdanov A. G., Lobodin K. A., G. P. Dyulger. Veterinary medicine. — 2008. — No. 1. — pp. 3—7.

2. *Artemieva K. A.* Morphological and functional changes of organs of the immune system and placenta during spontaneous and muramyldipeptide-induced abortion in mice / K. A. Artemiev, Diss. ... cand. med. sciences. — Moscow, 2017. — 39 p.

3. *Belik S. V.* Development of methods of impregnation capacity increase of cows in milk production facilities / С. V. Belik: Dis. ... cand. vet. sciences. — Voronezh, 2016. — 20 p.

4. *Eremeeva L. I.* Regularities of changes in cytokines and placental peptides in gestosis / L. Eremeeva: Diss ... cand. med. sciences. — Novosibirsk, 2006. — 28 p.

5. *Nezhdanov A. G.* Modern view of the sexual cycle of female animals / A. G. Nezhdanov // Veterinary. — 2003. — No. 11. — pp. 32—37.

6. *Nezhdanov A. G.* Hormonal control of reproduction of cattle / A. G. Nezhdanov, K. A. Lobodin, G. P. Dyulger // Veterinary. — 2008. — No. 1. — pp. 3—7.

7. *Sidelnikov V. M.* Habitual pregnancy loss] / V. M. Sidelnikov. — Moscow, 2002. — pp. 70—111.

8. *Chomaev A.* Early embryonic mortality in cattle / A. Chomaev, O. Mitashova // Animal Husbandry of Russia. — Special issue. — 2015. — pp. 57.

9. *Shirshov S. V.* Mechanisms of immune control of reproduction processes / S. V. Shirshov: Ekaterinburg, 1999. — 382 p.



## АКТИВИРОВАННАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА ПТИЦЫ

© 2018 Т. Е. Лободина, Н. В. Пасько, Т. И. Ермакова,  
В. В. Левченко, Н. М. Федорова

*Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук  
vnivipat@mail.ru*

Материал поступил в редакцию 15.05.2018 г.

**Аннотация.** В обзоре рассмотрены реакции свободных радикалов, сопровождающиеся слабым свечением — хемилюминесценцией, которая может быть усилена в присутствии активаторов. Представлены возможности методик хемилюминесценции при диагностике предпатологических состояний, прогнозировании тяжести течения заболеваний, контроле безопасности и эффективности применения лекарственных средств. Целью нашей работы являлось изучить возможности использования хемилюминесцентного анализа для сравнительной оценки антиоксидантного статуса организма на модели  $Fe^{2+}$  — индуцированного перекисного окисления липидов сыворотки крови кур породы «Ломан Белый» разных возрастов. Определялась скорость расходуемости и концентрация свободных радикалов липидной природы, а также антиоксидантный потенциал. В результате проведенных исследований выявлены различия в интегральных показателях биохемилюминесценции в сыворотке крови птиц по возрастам. Исследование подтвердило, что индуцированная биохемилюминесценция, относящаяся к прямым методам изучения свободных радикалов является перспективной.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, куры, биохемилюминесценция, сыворотка крови, свободные радикалы, светосумма, биоактиваторы.

### ВВЕДЕНИЕ

Хемилюминесценция (ХЛ) со времен своего открытия превратилась в явление, нашедшее широкое применение в клинической практике: фармакологии (исследование биологически активных соединений, оценка эффективности действия антиоксидантов и подбор препаратов) [1, 2], лабораторной диагностике (выявление скрытых патологий и ранняя диагностика заболеваний, оценка активности патологического процесса) [3], токсикологии, акушерстве и неонатологии (ранняя диагностика токсикозов и внутриутробной инфицированности, наблюдение за беременными, развитием плода и новорожденного), трансплантологии (оценка жизнеспособности трансплантатов, раннее определение реакций отторжения трансплантатов) [4, 5], иммунологии и аллергологии (оценка иммунного статуса, диагностика иммунодефицитных состояний и аутоиммунных болезней, выявление аллергенов) [6, 7], судебной медицины (определение времени смерти, выявление употребления наркотических и токсических веществ) [8].

Применение метода хемилюминесценции к изучению свободных радикалов началось с обнаружения собственной хемилюминесценции животных клеток и тканей, которое получило в свое время название «сверхслабого свечения» [9].

Сверхслабое свечение или собственное излучение клеток и тканей практически всегда сопровождается процессами жизнедеятельности и может быть обусловлено тремя типами реакций: реакциями активных форм кислорода (АФК), реакциями цепного (перекисного) окисления липидов, реакциями с участием оксида азота [10].

В присутствии активаторов, хемилюминесценция при реакциях активных форм кислорода и перекисной окисления липидов может быть усилена в сотни и тысячи раз. Индуцированная ХЛ сыворотки крови, по мнению большинства исследователей, является наиболее чувствительным и объективным методом изучения процесса перекисного окисления липидов [11, 12].

Регистрация ХЛ тканей и биологических жидкостей лежит в основе многообразия методов вы-

явления ранних стадий нарушения защитно-приспособительных реакций организма, диагностики состояния предболезни [1].

Реакции цепного окисления отличаются большой сложностью и включают в себя целый ряд быстротекущих стадий. Основные участники реакций, свободные радикалы, обычными методами химического анализа определены быть не могут из-за своей крайне высокой реакционной способности и неустойчивости в биохимических системах. Поэтому регистрация интенсивности свечения в режиме реального времени представляет собой ценную информацию для анализа механизма реакций перекисного окисления липидов.

В широкой клинической практике хемилюминесцентный анализ используется в трех основных вариантах: ХЛ сыворотки крови и других биологических жидкостей, клеточная ХЛ и хемилюминесцентный иммунный анализ [4].

Принципиальное отличие метода хемилюминесценции от других аналитических методов, таких как спектрофотометрия, флуорометрия, хроматография и т. д., заключается в том, что последние регистрируют концентрацию вещества, тогда как интенсивность хемилюминесценции говорит о скорости реакции, сопровождающейся свечением.

**Цель настоящей работы** — на модели  $Fe^{2+}$  — индуцированного перекисного окисления липидов сыворотки крови кур разных возрастов изучить

перспективность использования ХЛ анализа для сравнительной оценки антиоксидантного статуса организма птиц.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены в хозяйствах Воронежской области в весенне-летний период года на курах-несушках и молодняке породы «Ломан Белый».

Исследование индуцированной биохемилюминесценции проводили на биохемилюминометре БХЛ-06М в нашей модификации [13]. Сущность метода заключается в каталитическом разложении перекиси водорода ионами двухвалентного железа, которое сопровождается сверхмалым свечением, вследствие рекомбинации неустойчивого радикала  $RO_2^-$ , который образуется наряду с другими свободными радикалами ( $R^-$ ,  $OH^-$ ,  $RO^-$ ,  $O_2^-$ ) по реакции Фентона:



Определяли светосумму вспышки хемилюминесценции контрольной и опытной пробы (с добавлением биоматериала) (S); степень сверхмалого свечения в точке наибольшей интенсивности реакции ( $I_{max}$ ) и кинетику снижения интенсивности реакции ( $tg_a$ ).

Материалы исследований подвергали статистической обработке.

Результаты приведены в таблице 1

Таблица 1

Параметры  $Fe^{2+}$  — индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови кур разного возраста

Возраст	S — светосумма (суммарный показатель интенсивности реакции за 20 сек.), mV	$I_{max}$ — степень свечения в точке наибольшей интенсивности реакции, mV	$tg_a$ — динамика снижения интенсивности излучения (*-1)
Контроль	4,57±1,02	1,06±0,15	0,118±0,03
420—450 дней	11,38±4,69*	3,59±0,83	0,292±0,021*
250—350 дней	18,62±1,34	2,17±0,39	0,513±0,110
70—85 дней	10,19±1,61*	3,69±0,35*	0,272±0,09*

\*  $P < 0,05$  относительно возраста 250—350 дней

Светосумма (S) хемилюминесценции указывает на скорость расходування свободных радикалов липидной природы вследствие их взаимодействия с биоантиоксидантами

Концентрация свободных радикалов в исследуемом объекте определяется по значению макси-

мальной интенсивности сигнала ( $I_{max}$ ), при этом амплитуда вспышки хемилюминесценции, характеризует резистентность к перекисному окислению. Антиоксидантный потенциал пробы коррелирует со скоростью падения кривой хемилюминесценции ( $tg_a$ )

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований наглядно просматриваются различия в интегральных показателях биохемилюминесценции в сыворотке крови птиц по возрастам.

Периодам зрелости организма (250—350 дней) соответствует более высокая антиокислительная активность сыворотки крови. У кур 420 дневного возраста антиокислительная активность была ниже на 61,1 %, а у молодняка на 54,7 %. Это наблюдалось вследствие большего антиоксидантного потенциала, который определяется кинетикой снижения интенсивности реакции (в 1,8 раза — в сравнении с птицей 420 дневного возраста и в 1,9 раза в сравнении с 70-дневными), при разнице в устойчивости к перекисному окислению липидов (ПОЛ). Степень свечения в точке наибольшей интенсивности реакции у старых кур была на 60,4 %, а у молодняка на 58,8 % выше по сравнению с птицей 250—350 дневного возраста.

Уровень ХЛ сыворотки крови является отражением подвижного равновесия, объективным интегральным показателем соотношения интенсивности ПОЛ и активности биологических антиоксидантных систем организма. Зрелый возраст, отличающийся оптимальной жизнедеятельностью и совершенством функции систем регуляции гомеостаза, характеризуется неким минимальным уровнем интенсивности хемилюминесценции сыворотки крови. Для периодов ускоренного роста и созревания организма с одной стороны, и старения — с другой, характерны существенно более высокие показатели интенсивности сверхмалого свечения сыворотки крови, что свидетельствует о меньшей регулируемости и жесткости контроля за процессом ПОЛ [14]. То есть, увеличение продукции радикалов в системе сопровождается ростом интенсивности ХЛ. Вещества-антиоксиданты, реагирующие со свободными радикалами и тормозящие цепное окисление, одновременно подавляют хемилюминесценцию.

Есть указания на способность половых гормонов в модельных условиях ингибировать свободно-радикальное окисление и увеличивать латентный период вспышки хемилюминесценции [15]. Это позволяет рассматривать величину сигнала индуцированной хемилюминесценции, как показатель степени совершенства репродуктивной системы

Предположительно, более низкий уровень свечения и более высокая антиоксидантная активность сыворотки крови особей 250—350 дневного воз-

раста связан, видимо, с присутствием в их крови большего количества стероидных гормонов (разгар продуктивности), обладающих антиоксидантной активностью и непосредственно тормозящих реакции ПОЛ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование хемилюминесцентного метода в изучении антиоксидантной активности сыворотки крови кур разных возрастов, показало, что перегиб кривой интенсивности хемилюминесценции и возрастание уровня свечения, могут рассматриваться как показатели снижения гибкости и регуляции гомеостаза, как лабораторные критерии биологического возраста.

Данное исследование подтвердило, что хемилюминесцентный анализ, специфичный и чувствительный по отношению к ПОЛ и относящийся к прямым методам изучения свободных радикалов является перспективным методом для оценки антиоксидантного статуса организма.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бузлама В. С. Общая теория патологии животных — принципиальные положения / В. С. Бузлама // Концепция эколого-адаптационной теории возникновения, развития массовой патологии и защиты здоровья животных в сельскохозяйственном производстве. — М. — Росинформагротех, 2000. С. 6—8.
2. Федорова Т. Н. Применение хемилюминесцентного анализа для сравнительной оценки антиоксидантной активности некоторых фармакологических веществ / Т. Н. Федорова // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2003., т. 66. — № 5. — С. 56—58.
3. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников — М.: МЕДпресс-информ, 2004
4. Владимиров Ю. А. Активированная хемилюминесценция и биолюминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях / Ю. А. Владимиров // Соровский образовательный журнал. — 2001. — Т. 7, № 1 — с. 16—23
5. Кузнецова Э. Э. Определение активности ферментов монооксигеназной системы печени / Э. Э. Кузнецова, В. Г. Горохова, А. Г. Горохов, А. А. Рунович // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. — 2006. — № 6. — С. 147—149.
6. Образцов И. В. Оценка функциональной активности нейтрофилов цельной крови методом двухстадийной стимуляции: новый подход к хемилюминесцентному анализу / И. В. Образцов, М. А. Годков, А. М. Полимова и др. // Российский иммунологический журнал. — 2015. — Т. 9(18), № 4. — С. 418—425

7. RU2431837 С2 Способ определения антибактериальной резистентности организма человека / О. А. Коленчукова, А. А. Савченко; НИИ медицинских проблем Севера Сибирского отд. РАМН. — № 2009124934/15; Заявл. 29.06.2009; Опубл. 10.10.2011, Бюл. № 29

8. Пашипян Г. А. Биофизические методы исследования в судебной медицине / Пашипян Г. А., Назаров Г. Н., Ижевск, «Экспертиза», 1999, 179 с.

9. Владимиров Ю. А. Кинетическая хемилюминесценция как метод изучения реакций свободных радикалов / Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурнина, Д. Ю. Измайлов // Биофизика. — 2011, т. 56, вып. 6, с. 1081—1090

10. Vladimirov Yu. A., Sherstnev M. P. Biophysical chemiluminescent analysis // Physicochemical Aspects of Medicine Reviews. Soviet Medical Reviews. Section B. 1—44.

11. Контрощикова К. Н. Состояние системы ПОЛ-АОС у лиц с нейросенсорной тугоухостью по данным БХЛ / Контрощикова К. Н., Бархоткина Т. М., Щербань Н. Г. // Местное и парентеральное использование озонотерапии в медицине. Матер. I междунар. науч.-практ. конф. — Харьков, 2001. — С. 124—125.

12. Кошелева И. В. Оценка эффективности озонотерапии при экземе по показателям свободно-радикального окисления / Кошелева И. В., Иванов О. Л., Обухов Ю. В., Куликов А. Г. // Озон и методы эфферентной терапии в медицине. Матер. IV Всерос. конф. — Н. Новгород, 2000. — С. 21

13. Кузьмина Е. А. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободно-радикальных реакций в биологических субстратах / Е. А. Кузьмина, А. С. Нелюбин, М. К. Щенникова // Биохимия и биофизика микроорганизмов. Межвузовский сборник. — Горький, 1983. С. 179—183.

14. Барабой В. А. Спонтанная хемилюминесценция сыворотки крови как биологический тест / В. А. Барабой // Хемилюминесцентный метод в биологии и медицине. — Киев, 1978. С. 64—66.

15. Денисов Ю. П. Влияние эстрадиола и токоферола на перекисное окисление липидов мембран эритроцитов при УФ-облучении / Ю. П. Денисов // Фармакология и токсикология. — 1978., т. 41. — № 6. — С. 697—701.

## ACTIVATED CHEMILUMINESCENCE AS A METHOD OF ASSESSING THE BIOLOGICAL AGE OF THE BIRDS

© 2018 T. E. Lobodina, N. V. Pasko, T. I. Ermakova, V. V. Levchenko, N. M. Fedorova

SSI All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS, Voronezh  
e-mail: vnivipat@mail.ru

Received 15.05.2018

**Abstract.** Free radical reactions accompanied by a weak luminescence — chemiluminescence, which can be enhanced in the presence of activators, are considered in the review. The possibilities of chemiluminescence techniques in the diagnosis of pre-pathological conditions, predicting the severity of the disease, monitoring the safety and efficacy of the drugs are presented. The aim of the work was to study the possibilities of using chemiluminescent analysis for comparative evaluation of the antioxidant status of the organism on the model  $Fe^{2+}$  — induced peroxidation of blood serum lipids of chickens of the breed «Loman White» of different ages. The rate of consumption and concentration of free radicals of lipid nature, as well as antioxidant potential were determined. The result of the research revealed differences in the integral indicators of biochemiluminescence in the blood serum of the birds by age. The study confirmed that induced biochemiluminescence related to direct methods of studying free radicals is promising.

**Keywords:** lipid peroxidation, chickens, biochemiluminescence, blood serum, free radicals, light sum, bio-activators.

### REFERENCES

1. Buzlama V. S. General theory of animal pathology-fundamental provisions / V. S. Buzlama // Concept of ecological and adaptation theory of the origin, development of mass pathology and protection of animal health in agricultural production. — M. — Rosinformagrotech, 2000. pp. 6—8.

2. Fyedorova T. N. Application of chemiluminescence analysis for comparative evaluation of antioxidant activity of some pharmacological substances / T. N. Fyedorova // Experimental and clinical pharmacology. — 2003., vol. 66. — No. 5. — pp. 56—58.

3. Kamyshnikov V. S. Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics / V. S. Kamyshnikov-M.: Medpress-inform, 2004

4. *Vladimirov Y. A.* Activated chemiluminescence and bioluminescence as a tool in biomedical researches / Y. A. Vladimirov // *Soros educational journal*. — 2001. — Vol. 7, № 1—pp. 16—23
5. *Kuznetsova E. E.* Determination of activity of enzymes of the liver monooxygenase system / E. Kuznetsova, V. G. Gorokhova, A. G. Gorokhov, A. A. Runovich // *Bulletin of the East Siberian scientific center of the Siberian branch of the Russian Academy of medical sciences*. — 2006. — No. 6. — pp. 147—149.
6. *Obraztsov I. V.* Assessment of functional activity of whole blood neutrophils by the method of two-stage stimulation: a new approach to chemiluminescence analysis / I. V. Obraztsov, M. A. Godkov, M. A. Polenova et al. // *Russian journal of immunology*. — 2015. — Vol. 9 (18), No. 4. — pp. 418—425
7. RU2431837 S2 Method of determining antibiotic resistance of the human body / *Kolenchukova O. A.*, A. A. Savchenko; Research Institute of medical problems of North, Siberian DEP. RAMS. No 2009124934/15; Appl. 29.06.2009; Publ. 10.10.2011, bull. No. 29
8. *Pashinyan G. A.* Biophysical research methods in forensic medicine / Pashinyan G. A., *Nazarov G. N.*, Izhevsk, «Expertise», 1999, 179 p.
9. *Vladimirov Yu. A.* Kinetic chemiluminescence as a method of studying the reactions of free radicals / Y. A. Vladimirov, E. V. Proskurnina, D. Y. Izmailov // *Biophysics*. — 2011, vol. 56, issue.6, pp. 1081—1090
10. *Vladimirov Yu. A.*, *Sherstnev M. P.* Biophysical chemiluminescent analysis // *Physical Aspects of Medicine Reviews. Soviet Medical Reviews. Section B*. 1—44.
11. *Kontorshchikova K. N.* The state system of POL-AOC in individuals with sensorineural hearing loss by the data of BKHL / *Kontorshchikova K. N.*, *Barkhotkina T. M.*, *Shcherban N. D.* // *Local and parenteral use of ozone therapy in medicine. Mater. Of the 1st international scientific. — pract. conf. — Kharkov, 2001. — pp. 124—125.*
12. *Kosheleva I. V.* Assessment of the effectiveness of ozone therapy in eczema on indicators of free radical oxidation / *Kosheleva I. V.*, *Ivanov O. L.*, *Obukhov, Yu.*, *Kulikov A. G.* // *Ozone and methods of efferent therapy in medicine. Matera. IV vseros. Conf. — N. Novgorod, 2000. — P. 21.*
13. *Kuzmina E. A.* Application of induced chemiluminescence for evaluation of free radical reactions in biological substrates / E. A. Kuzmina, A. S. Nelyubin, M. K. Schenikova // *Biochemistry and Biophysics of microorganisms. Inter-university collection. — Gorky, 1983. pp. 179—183.*
14. *Baraboy V. A.* Spontaneous chemiluminescence of blood serum as a biological test / V. A. Baraboy // *Chemiluminescent method in biology and medicine. — Kiev, 1978. pp. 64—66.*
15. *Denisov Yu. P.* Influence of estradiol and tocopherol on lipid peroxidation of erythrocyte membranes under UV irradiation / Yu. P. Denisov // *Pharmacology and toxicology. — 1978., vol. 41. — No. 6. — pp. 697—701.*

Лободина Татьяна Евгеньевна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетического анализа

Пасько Надежда Валерьевна — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией молекулярно-генетического анализа

Ермакова Татьяна Игоревна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетического анализа

Левченко Вера Викторовна — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии

Федорова Надежда Михайловна — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии

Lobodina Tatyana Evgenyevna — candidate of veterinary sciences, senior researcher of the laboratory of molecular genetic analysis

Pasko Nadezhda Valerievna — candidate of biological Sciences, head of the laboratory of molecular genetic analysis

Yermakova Tatyana Igorevna — candidate of biological sciences, leading researcher of the laboratory of molecular genetic analysis

Levchenko Vera Viktorovna — junior researcher, laboratory of experimental pharmacology

Fedorova Nadezhda Mikhailovna — junior researcher of the laboratory of experimental pharmacology

## ЦИТО-ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА У СВИНОМАТОК

© 2018 Е. В. Михайлов, И. С. Толкачев, Ю. Н. Бригадиров,  
В. Н. Коцарев, Н. А. Борисенко

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии  
и терапии Россельхозакадемии, Воронеж  
e-mail: voronezh81@rambler.ru*

Материал поступил в редакцию 15.05.2018 г.

**Аннотация.** В статье представлены данные о цито-гистологических особенностях эндометрия свиноматок при воспалительных процессах. Опыты проведены на пяти свиноматках с патологией репродуктивных органов, от которых для цитологического исследования отбирали маточно-вагинальную слизь тупфером (стерильным зонд-тампоном), готовили мазки и окрашивали по Романовскому—Гимзе. Материалом для гистологического исследования служила матка, полученная в результате диагностического убоя этих животных. Образцы тканей матки фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. В цитологическом профиле маточно-вагинальной слизи установлены изменения, обусловленные появлением клеток парабазальных и базальных слоев, наличием в поле зрения лейкоцитов и кокковой микрофлоры. Морфологические изменения в эндометрии характеризовались десквамацией поверхностного эпителия, отеком стромы, атрофией маточных желез, инфильтрацией его нейтрофилами и лимфоцитами, свидетельствующие о хроническом воспалительном процессе в репродуктивных органах.

**Ключевые слова:** свиноматки, цитология, гистология, эндометрий, хронический эндометрит.

Матка является важнейшим органом-мишенью репродуктивной системы, и поэтому любые патологические факторы, в том числе инфекционные, приводят к нарушению ее анатомо-функционального состояния, способствуя нарушению процессов имплантации [1].

Генез данного репродуктивного нарушения обуславливается неподготовленностью эндометрия к инвазии бластоцисты и дальнейшего его развития [2, 3].

Основными критериями патоморфологических изменений эндометрия с репродуктивной патологией при хроническом эндометрите являются: во-первых — снижение объемной плотности железистого компонента эндометрия; во-вторых — увеличение численной плотности стромальных и лимфоидных клеток, с преобладанием последних [4].

Хронический воспалительный процесс в эндометрии является одной из важных причин бесплодия и невынашивания потомства. На фоне воспалительных процессов в половых органах развивается нарушение пролиферации и нормальной циклической трансформации эндометрия. Длительная и нередко бессимптомная персистенция инфекционных агентов в эндометрии при наступлении беременности приводит к выраженным изменениям в струк-

туре ткани, препятствуя нормальной имплантации и плацентации [5, 6].

Так как в условиях постоянного присутствия повреждающего агента в тканях не происходит завершения заключительной фазы воспаления — регенерации, то нарушается тканевой гомеостаз и формируется целый каскад вторичных повреждений [7].

Кроме этого, доказано, что избыточное количество провоспалительных цитокинов ведет к активации протромбиназы, что вызывает тромбозы, инфаркты трофобласта и его отслойку. В результате наступившая беременность может прерваться в первой половине, а при ее сохранении — сформироваться первичная плацентарная недостаточность [8].

Известно, что нарушение микроциркуляции в эндометрии приводит к ишемии и гипоксии ткани [9], а активированные макрофаги в очаге воспаления являются источником активных форм кислорода и перекиси водорода, запускающих процесс перекисного окисления липидов и повреждение клеточных мембран.

**Цель исследования** — изучить структурную организацию и цитологический профиль эндометрия свиноматок при скрыто протекающих воспалительных процессах в репродуктивных органах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в условиях свиноводческого предприятия на 5 свиноматках с патологией репродуктивных органов, от которых для цитологического исследования отбирали маточно-вагинальную слизь тупфером (стерильным зонд — тампоном), готовили мазки и окрашивали по Романовскому—Гимзе.

Материалом для морфологического исследования служила матка, полученная в ходе диагностического убоя животных. Для гистологического исследования образцы тканей фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Зафиксированные образцы после промывки в проточной воде подвергали обезвоживанию путем помещения исследуемого материала в спирты с возрастающей концентрацией, которые затем заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические поперечные срезы толщиной 4—5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. [10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При гистологическом исследовании на отдельных участках матки наблюдали дистрофические процессы, полное или частичное слущивание поверхностного эпителия эндометрия вплоть до базального слоя, который из цилиндрического регрессировал в кубический, а местами в плоский (рис. 1).

В субэпителиальных участках поверхностного слоя эндометрия местами отмечали отечность, мелкие кровеносные сосуды, переполненные кровью, вокруг которых выявлено наличие нейтрофилов и небольшого количества лимфоцитов. Толщина межмышечного слоя увеличена за счет разрастания волокнистой соединительной ткани и отека. Также наблюдали спавшие кровеносные сосуды, стенки которых утолщены, вплоть до облитерации, а в просвете сосудов отмечали появление тромбов (рис. 2).

Было установлено, что маточные железы выстланы преимущественно высоким призматическим эпителием. Выявлены участки с признаками атрофических изменений в структуре маточных желез, которые были небольшого диаметра. Их просвет уменьшен за счет отека стромы, разрастания фиброцитов и образования коллагеновых волокон. Некоторые из них имели расширенную фундальную часть. Вид эпителия, выстилающий маточные железы, был низкий призматический, в отдельных железах — многорядный. В эпителиальных клетках маточных желез отмечали единичные или множественные вакуоли, занимающие боль-

шую часть клетки. В некоторых клетках выстилающего эпителия выявляли изменения в структуре клеточного ядра в виде кариопикноза. Просвет желез заполнен гомогенным секретом. Часть маточных желез запустевшие, вокруг них обнаруживалась светлая зона отека. Между маточными железами и кровеносными сосудами наблюдалась плотная разросшаяся соединительная ткань, в которой отмечали лимфоцитарные инфильтраты, состоящие из моноцитов, макрофагов, плазматических клеток (рис. 3).

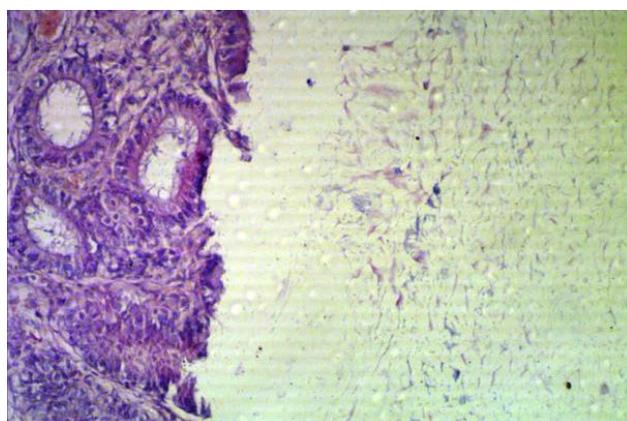
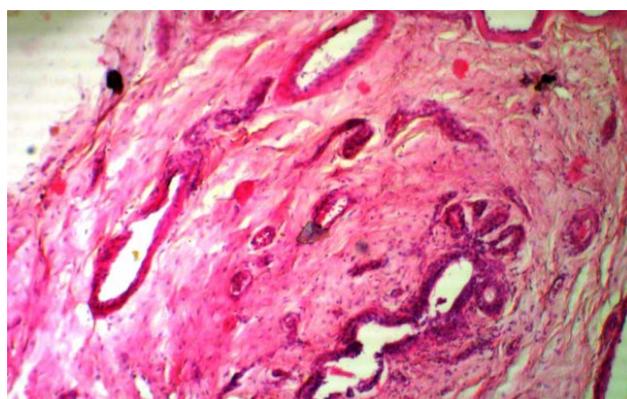
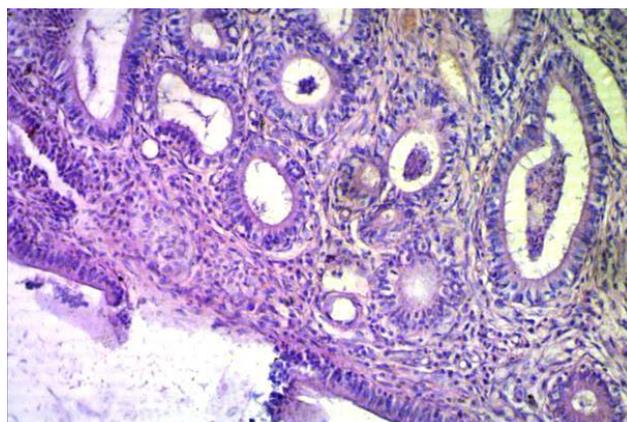
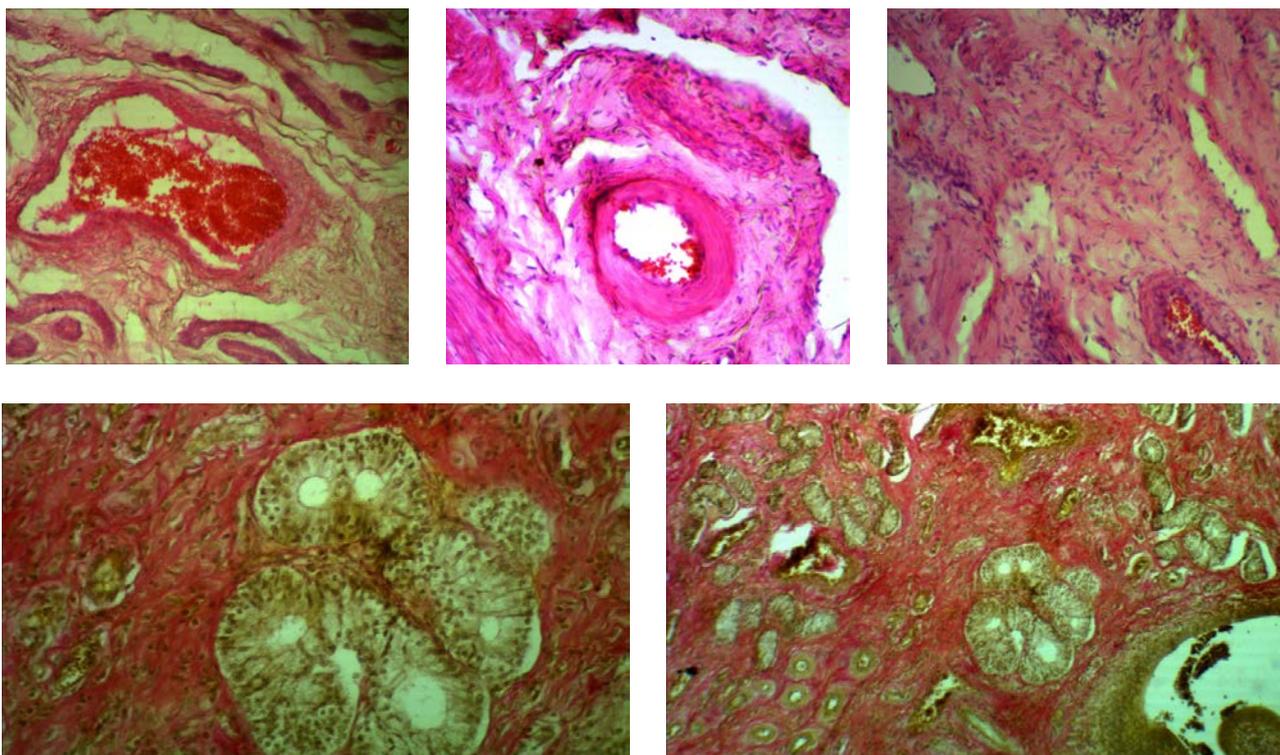
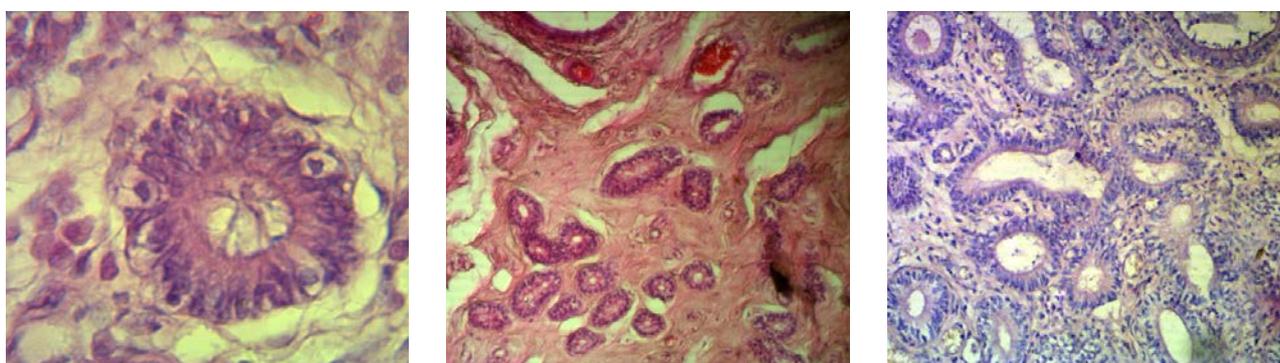


Рис. 1. Десквамация эпителия эндометрия. Окраска гематоксилин-эозин. Об. 10 × ок. 10



**Рис. 2.** Образование тромба в просвете сосуда, разрастание соединительной ткани. Окраска гематоксилин-эозин, Ван Гизон. Об. 10 × ок. 10



**Рис. 3.** Дистрофические процессы в клетках маточных желез. Окраска гематоксилин-эозин Об. 10 × ок. 40, 10 × ок. 10

При цитологическом исследовании мазков из влагалища от свиноматок со скрыто протекающими воспалительными процессами в репродуктивных органах, выявлялись пласты клеток парабазальных и базальных слоев, перемешанных со слизистой массой и находящихся в скоплениях от 4 и более клеток с четко выраженной скученностью. Клетки поверхностного эпителия единичные, вакуолизированные с кариопикнотичными ядрами. Все поле зрения покрывали лейкоциты, бактериальная микрофлора, которая преимущественно находилась внутриклеточно в стадии завершеного и, значительно чаще, незавершеного фагоцитоза (рис. 4).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в цитологическом профиле маточно — вагинальной слизи установлены изменения, обусловленные появлением клеток парабазальных и базальных слоев, наличием в поле зрения лейкоцитов и бактериальной микрофлоры. Морфологические изменения в эндометрии характеризовались десквамацией поверхностного эпителия, отеком стромы, атрофией маточных желез, инфильтрацией его нейтрофилами и лимфоцитами, свидетельствующие о хроническом воспалительном процессе в репродуктивных органах.

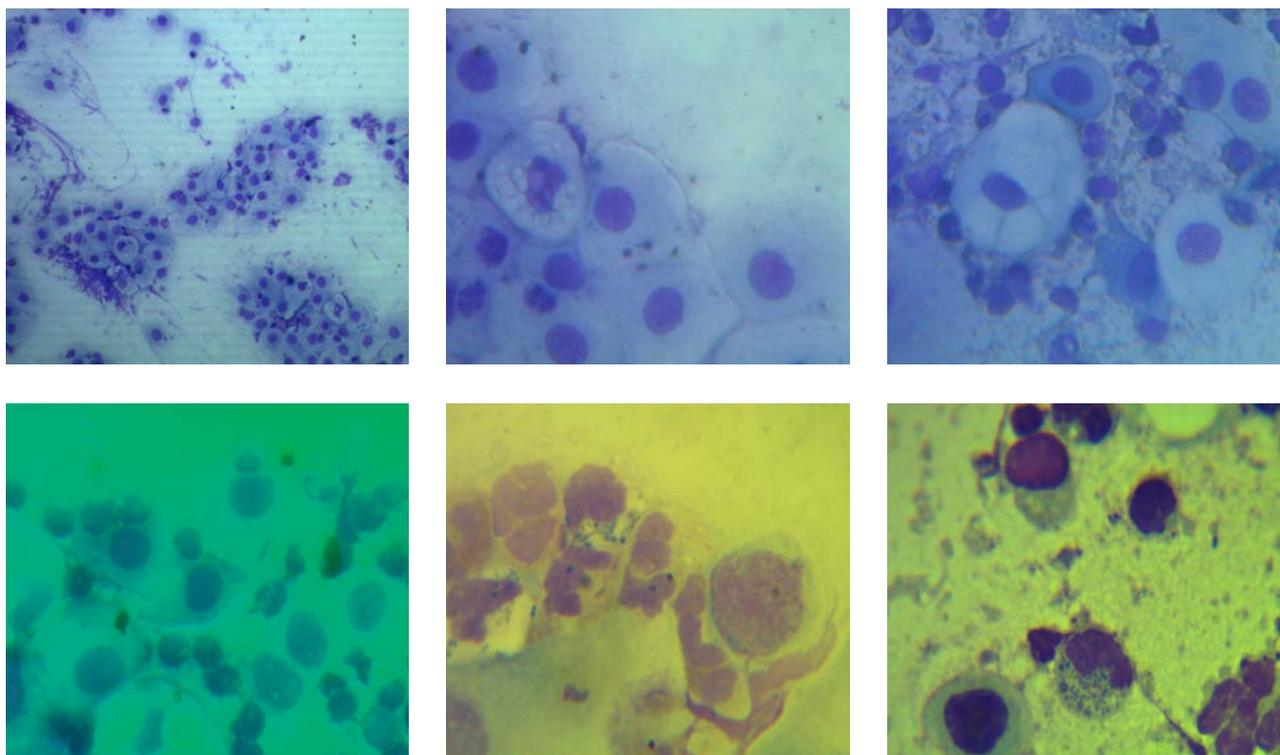


Рис. 4. Пласты клеток парабазальных и базальных слоев, лейкоцитоз. Окр. Романовским—Гимзе. Ув. Об. 10 × ок. 40, Об. 10 × ок. 100

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Феоктистов А. А. Роль хронического эндометрита в клинике женского бесплодия / А. А. Феоктистов, Т. В. Овсянникова, Д. П. Камилова // Эффективная фармакотерапия. «Акушерство и Гинекология». — 2012. — № 1. — С. 10—13.
2. Милованов А. П. Неразвивающаяся беременность: Гистологические и иммуногистохимические маркеры эндокринных нарушений в соскобах эндометрия / А. П. Милованов, М. Н. Болтовская, Т. В. Фокина и др. // Арх. патол. — 2008. — № 6. — С. 22—25.
3. Rosario G. X. Endometrial expression of immunomodulatory cytokines and their regulators during early pregnancy in bonnet monkeys (*Macaca radiata*) / G. X. Rosario, G. Sachdeva, D. D. Manjramkar et al // Hum. Reprod. — 2005. — Vol. 20. — № 11. — P. 3039—3046.
4. Котиков А. Р. Патологическая анатомия и иммуногистохимический анализ эндометрия женщин с бесплодием неясного генеза и привычным невынашиванием беременности при хроническом эндометрите: автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: 14.00.15. — Новосибирск, 2007. — 20 с.
5. Корнеева И. Е. Современная концепция диагностики и лечения бесплодия в браке: автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 14.00.01 М., 2003. — 38 с.
6. Glasser S. R. The Endometrium. / J. D. Aplin, L. C. Guidice, S. Tabibzadeh // London & New York: Taylor & Francis, 2002. — 674 p.
7. Дубницкая Л. В. Хронический эндометрит: возможности диагностики и лечения / Л. В. Дубницкая, Т. А. Назаренко // Репродуктивное здоровье женщины. — 2007. — Т. 9. — № 6. — С. 7—10.
8. Радзинский В. Е. Провоспалительные цитокины и их роль в генезе привычного невынашивания беременности / В. Е. Радзинский, К. В. Бондаренко, М. А. Союнов, Е. Ю. Запертова // Акушерство и гинекология. — 2005. — № 5. — С. 48—57.
9. Шишканова О. Л. Оптимизация тактики лечения хронического эндометрита у пациенток с нарушением репродуктивной функции с использованием импульсной электротерапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2008. — 25 с.
10. Методы морфологических исследований. 2-е издание, исправленное и дополненное / С. М. Сулейманов с соавт. // ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж, 2007. — 87 с.

## CYTO-HISTOLOGIC FEATURES OF CHRONIC ENDOMETRITIS SOWS

© 2018 E. V. Mikhailov, I. S. Tolkachev, Yu. N. Brigadirov, V. N. Kotsarev, N. A. Borisenko

**Received 15.05.2018**

**Abstract.** The article presents data on the CITO-histological features of the sow endometrium in inflammatory processes. The experiments were carried out on five sows with pathology of reproductive organs, from which the utero-vaginal mucus was selected for cytological examination by tuffer (sterile probe-tampon), smears were prepared and stained according to Romanovsky—Gimza. The material for histological examination was the uterus obtained as a result of diagnostic slaughter of these animals. Uterine tissue samples were fixed in 10 % neutral formalin solution. In the cytological profile of utero-vaginal mucus changes due to the appearance of cells of parabasal and basal layers, the presence of white blood cells and coccal microflora in the field of view are established. Morphological changes in the endometrium were characterized by desquamation of the surface epithelium, swelling of the stroma, atrophy of the uterine glands, infiltration of its neutrophils and lymphocytes, indicating a chronic inflammatory process in the reproductive organs.

**Keywords:** sows, cytology, histology, endometrium, chronic endometritis.

#### REFERENCES

1. *Feoktistov A. A.*, Role of chronic endometritis in the clinic female infertility / A. A. Feoktistov, T. V. Ovsyannikova, D. P. Kamilova // Effective pharmacotherapy. «Obstetrics and Gynecology.» — 2012. — No.1. — pp. 10—13.

2. *Milovanov A. P.* Non-developing pregnancy: Histological and immunohistochemical markers of endocrine disorders in endometrial scrapes / A. P. Milovanov, M. N. Boltovskaya, *Fokina T. V.*, et al. // Arkh. pathol. — 2008. — No.6. — pp. 22—25.

3. *Rosario G. X.* Endometrial expression of immunomodulatory cytokines and their regulators during early pregnancy in bonnet monkeys (*Macaca radiata*) / G. X. Rosario, G. Sachdeva, D. D. Manjramkar et al. // Hum. Reprod. — 2005. — Vol. 20. — № 11. — P. 3039—3046.

4. *Kotikov A. R.* Pathological anatomy and immunohistochemical analysis of the endometrium of women with infertility of unknown origin and habitual miscarriage in chronic endometritis: thesis. ... candidate of medical sciences: 14.00.15. — Novosibirsk, 2007. — 20 p.

5. *Korneeva I. E.* Modern concept of diagnosis and treatment of infertility in marriage: thesis ... doctor of medical sciences: 14.00.01 M, 2003. — 38 p.

6. *Glasser S. R.* The Endometrium. / J. D. Aplin, L. C. Guidice, S. Tabibzadeh // London & New York: Taylor & Fransis, 2002. — 674 p.

7. *Dubnitskay L. V.* Chronic endometritis: diagnosis and treatment / by L. V. Dubnitskaya, T. A. Nazarenko // Reproductive women health. — 2007. — Vol. 9, No. 6. — pp. 7—10.

8. *Radzinsky V. E.* Pro-inflammatory cytokines and their role in the genesis of habitual miscarriage of pregnancy / V. E. Radzinsky, K. V. Bondarenko, M. A. Soyunov, E. Y. Zapertova // Obstetrics and gynecology. — 2005. — No.5. — pp. 48—57.

9. *Shishkanova O. L.* Optimization of tactics of treatment of chronic endometritis in patients with reproductive dysfunction using pulsed electrotherapy: thesis ... cand. medical. sciences'. Moscow, 2008. — 25 p.

10. Methods of morphological studies. 2nd edition, corrected and supplemented / S. M. Suleymanov et al. // State Univerity. — Voronezh, 2007. — 87 p.

**Михайлов Евгений Владимирович** — кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией патоморфологии

**Толкачев Игорь Сергеевич** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии

**Бригадиров Юрий Николаевич** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник лаборатории заболеваний репродуктивных органов и молочных желез

**Коцарев Владимир Николаевич** — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории заболеваний репродуктивных органов и молочных желез

**Борисенко Наталья Александровна** — младший научный сотрудник

**Mikhailov Evgeny Vladimirovich** — candidate of veterinary sciences, head of the laboratory of pathomorphology

**Tolkachev Igor Sergeevich** — candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of pathomorphology

**Brigadirov Yury Nikolaevich** — doctor of veterinary sciences, chief researcher of the laboratory of diseases of reproductive organs and mammary glands

**Kotsarev Vladimir Nikolaevich** — doctor of veterinary sciences, leading researcher of the laboratory of diseases of the reproductive organs and mammary glands

**Borisenko Natalia Aleksandrovna** — junior researcher

## УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ И ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

### УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Редакция журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии приглашает научных сотрудников, преподавателей вузов, соискателей учёных степеней и практикующих специалистов для публикации результатов экспериментальных исследований, теоретических и обзорных статей, касающихся актуальных вопросов ветеринарной фармакологии.

Цель журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» — представление основных направлений развития ветеринарной фармакологии, привлечение внимания научных работников и специалистов к актуальным проблемам, продвижение инновационных разработок.

Основные тематические направления журнала:

1. Экспериментальная фармакология
2. Клиническая фармакология
3. Биохимическая и молекулярная фармакология
4. Фармация
5. Новые лекарственные средства и препараты для терапии и профилактики болезней
6. Средства зоогигиены, дезинфекции, дезинсекции и дератизации
7. Лечебные премиксы и кормовые добавки
8. Патофизиология, патобиохимия и экспериментальная терапия

Тематическое содержание журнала может меняться в зависимости от текущих задач науки и практики.

### УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ

Авторам необходимо предоставить в редакцию следующие материалы:

1. Статью, оформленную в соответствии с требованиями, на почту [vetfarm.journal@yandex.ru](mailto:vetfarm.journal@yandex.ru) («в редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»).

Материал, предлагаемый для публикации, должен быть тщательно **отредактирован и подписан всеми авторами**.

Статьи, направляемые в редакцию, проходят рецензирование и выносятся на рассмотрение редколлегии. При необходимости редакция связывается с авторами по телефону или электронной почте. По результатам обсуждения принимается решение о возможности включения статьи в журнал, об отказе или доработке.

Статья, направленная автору на доработку, должна быть возвращена в исправленном виде в максимально короткие сроки. К рукописи необходимо приложить письмо от авторов, содержащее ответы на все замечания. Статья, требующая повторной доработки, рассматривается как вновь поступившая. При этом датой поступления считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи.

Плата с авторов за публикацию не взимается.

Авторское вознаграждение за размещение статей в печатной и электронной версии журнала авторам статей не выплачивается.

Материалы, поступившие в редакцию, авторам не возвращаются.

2. Сведения об авторах:

Фамилия, имя, отчество

Учёная степень

Учёное звание

Должность

Полное название организации

Адрес, телефон, e-mail

Отдельно необходимо указать лицо и его контактные данные, с которым редакция будет вести переговоры и переписку.

3. Направление от учреждения, в котором выполнена работа по форме:

В редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»	
Прошу (просим) опубликовать в открытой печати мою (нашу) статью «_____».	
Материалы статьи частично или полностью не были ранее опубликованы*.	
Авторы подтверждают достоверность и оригинальность материалов, изложенных в статье; дают согласие на сбор, обработку и распространение своих персональных данных в соответствии с требованиями Федерального закона № 152-ФЗ от 27 июля 2006 года «О персональных данных»; гарантируют, что не нарушают ничьих авторских прав; не включают материалы, не подлежащие к публикации в открытой печати в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.	
Вместе со статьей автор передает редакции на неограниченный срок следующие права: право на размещение, воспроизведение и распространение статьи любым способом; право на переработку статьи и внесение изменений в статью; право на публичное использование материалов статьи и демонстрацию их в информационных, рекламных и прочих целях.	
Также авторы подтверждают, что согласны с правилами редакции по подготовке рукописи к изданию. После публикации её цитирование возможно только со ссылкой на журнал «Ветеринарный фармакологический вестник».	
_____	_____
подпись (подписи) автора (авторов)	фамилия, имя, отчество
Подпись (подписи) _____ заверяю.	
_____	
подпись и ФИО лица, заверившего подписи	
М.П. организации	
«__» _____ г.	

\* — если были опубликованы частично, то указать название издания, год выпуска, номер, страницы.

Для ускорения публикации статьи в редакцию необходимо предоставить рецензию доктора наук, заверенную в отделе кадров по месту работы.

### ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

Текст статьи объемом до 15 страниц предоставляется в программе MS Word: шрифт — Times New Roman, размер — 14 пт, межстрочный интервал — 1,5, абзацный отступ — 1,25, без переносов. Формат страницы — А4, поля: левое — 3 см, верхнее, правое и нижнее — 2 см.

Индекс УДК располагается в левом верхнем углу без абзацного отступа.

Далее без абзацного отступа располагается название статьи — заглавными буквами, полужирным шрифтом, выравнивание по центру.

Фамилия, имя, отчество автора — без абзацного отступа, по центру, строчными буквами, полужирным шрифтом.

Полное название учреждения — без абзацного отступа, по центру, строчными буквами, курсивом.

E-mail — без абзацного отступа, по центру, строчными буквами, курсивом.

Аннотация статьи (объем 1000—2000 знаков) — выравнивание по ширине, абзацный отступ 1,25. Резюме должно отражать цель исследований, методику, результаты и выводы. Составляется в соответствии с ГОСТом 7.9—95.

Ниже без интервала ключевые слова — 6—10 слов.

Текст статьи должен включать введение (без указания названия раздела), материалы и методы, результаты исследований, обсуждение и выводы (заключение).

Библиографический список составляется по ГОСТу 7.1—2003. Ссылки на источники даются по тексту цифрой в квадратных скобках и указываются в порядке цитирования. В списке литературы желательно наличие, как минимум, 20 % иностранных источников и включение в список современных авторов.

Таблицы должны быть выполнены в Microsoft Word и содержать статистически обработанный материал. Каждая таблица должна иметь номер, тематический заголовок и ссылку в тексте.

Графики, диаграммы, рисунки и фотографии необходимо предоставлять в формате jpeg, tif или gif (с разрешением не менее 300 точек) с соответствующими подписями и пронумерованными.

Сокращения терминов, отличные от нормированных, должны приводиться только после упоминания в тексте их полного значения.

Единицы измерений даются в соответствии с Международной системой СИ по ГОСТу 8.417—2002 «Единицы величин».

**На отдельной странице** следует предоставить: 1. на английском языке — название статьи, ФИО авторов, ученую степень/звание, должность, место работы, резюме, ключевые слова, список литературы.