

Библиографический список

1. Агаджанова, А. А. Современные методы терапии больных с привычным невынашиванием беременности. Русский медицинский журнал. – 2000. – №1. – С. 3-6.
2. Бадретдинова, Ф. Ф. Профилактика и лечение последствий акушерских травм шейки матки у первородящих женщин с применением лазерных технологий / Ф. Ф. Бадретдинова, Ш. Х. Ганцев, Р. Ф. Магафуров, В. Б. Трубин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – №5. – С. 27-30
3. Кузмин, А. А. Применение дилатора DILAPAN-S у первобеременных женщин в I триместре как этап подготовки шейки матки перед прерыванием беременности / А. А. Кузмин, Т. Н. Бебнева // Гинекология. – 2012. – №5. – С. 70-76.
4. Кулаков, В. И. Акушерский травматизм мягких тканей родовых путей / В. И. Кулаков, Е. А. Бутова. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 128 с.
5. Савицкий, А. Г. Роль нижнего сегмента в родовом процессе / А. Г. Савицкий, В. В. Абрамченко, Г. А. Савицкий // Журнал акушерства и женских болезней. – 2005. – Т. 54, №3. – С. 19-27.
6. Сидельникова, В. М. Привычная потеря беременности. – М. : Триада-Х, 2003. – 304 с.
7. Стадников, А. А. Стволовые клетки и репаративная регенерация в постнатальном онтогенезе млекопитающих / А. А. Стадников, Н. Н. Шевлюк // Морфология. – 2006. – Т. 130, №6. – С. 84-88.
8. Хрусталева, И. В. Анатомия домашних животных / И. В. Хрусталева, Н. В. Михайлов, Я. И. Шнейберг [и др.]. – 3-е изд., испр. – М. : Колос, 2006. – 704 с.
9. Hefler, L. The intraoperative complication rate of nonobstetric dilation and curettage / L. Hefler, A. Lemach, V. Seebacher [et al.] // Obstet Gynecol. – 2009. – №113(6). – P. 68-71.
10. Schlembach, D. Cervical ripening and insufficiency: from biochemical and molecular studies to in vivo clinical examination / D. Schlembach, L. MacKay, L. Shi [et al.] // Europ. J. Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2009. – №144. – P. 70-76.

УДК 619:616.9-07

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА Е КУР В УСЛОВИЯХ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Лапина Татьяна Ивановна, д-р биол. наук, проф., зав. межлабораторным диагностическим центром, ГНУ СКЗНИВИ Россельхозакадемии.

346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, 0.

E-mail: diacen-rd2012@yandex.ru

Клименко Александр Иванович, член-корреспондент РАСХН, д-р. с.-х. наук, проф., ФГБОУ Донской ГАУ.

346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, 0.

E-mail: diacen-rd2012@yandex.ru

Ключников Александр Геннадьевич, научный сотрудник лаборатории функциональной диагностики, ГНУ СКЗНИВИ Россельхозакадемии.

346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, 0.

E-mail: alex-roz@mail.ru

Бодрякова Мария Анатольевна, младший научный сотрудник межлабораторного диагностического центра, ГНУ СКЗНИВИ Россельхозакадемии.

346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, 0.

E-mail: mbodryakova@bk.ru

Ключевые слова: гепатит Е, куры, ПЦР, диагностика

Вирусный гепатит Е – широко распространенное заболевание с фекально-оральным путем передачи. Цель исследований – усовершенствование методов диагностики вирусного гепатита Е кур. Основное поголовье птицы, которое подвергалось обследованию, было завезено из Европейских стран. Доказано, что вирус может размножаться в организме кур, свиней и некоторых других видов животных. Проведенные исследования патологического материала павших кур с синдромом гепато- и спленомегалия позволили подтвердить циркуляцию вируса гепатита Е кур в Ростовской области. Рибонуклеиновая кислота (РНК) вируса гепатита Е кур была выделена в 8,5% случаев. С этой целью проводилась полимеразная цепная реакция (ПЦР), в которой использовались вирусная комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота (кДНК), специфические олигонуклеотидные праймеры, фланкирующие участок генома в 176 н.п. Благодаря использованию метода последовательных пассажей на первично-трипсинизированной клеточной культуре ФЭК удалось выделить и провести концентрирование вируса из суспензии внутренних органов инфицированной птицы. Путем заражения куриных эмбрионов установлено, что вирус гепатита Е кур обладает высокой вирулентностью и вызывает гибель эмбрионов на 2-4 день в зависимости от концентрации вируса в суспензии.

Птицеводство на сегодняшний день является самой динамично развивающейся отраслью животноводства. Но в той или иной степени, падежа «клинически здоровой» птицы не удается избежать, ни одному птицеводческому хозяйству. Зачастую, при этом, не удается поставить точный диагноз, а заболевание остается не диагностированным. На территории РФ к таким относится вирусный гепатит Е птиц. Повышенный интерес к этому заболеванию как зооатропонозной инфекции связан с обнаружением антител к ВГЕ

(анти-ВГЕ) среди населения. По литературным данным птица может быть резервуаром вируса гепатита Е и источником инфекции для человека и свиней. Этиологическим агентом гепатита Е является одноцепочный положительный мРНК вирус (HEV), впервые описанный в 1983 г. Первоначально возбудитель был отнесен к семейству Picornaviridae. Однако более поздние исследования показали, что вирус не принадлежит данному семейству и морфологически более сходен с представителями семейства *Caliciviridae*. Такая классификация также оказалась неверной, поскольку филогенетический анализ генома не позволил отнести вирус к какому-либо известному семейству [1, 4]. В настоящее время вирус HEV является единственным представителем рода *Hepevirus*, семейства *Hepeviridae* (Emerson и др., 2004). Генетически вирус сходен с вирусом краснухи (семейство *Togaviridae*, род *Alphavirus*) и с вирусом некротического пожелтения жилок свёклы (семейство *Togaviridae*, род *Furovirus*).

Благодаря широкому распространению, вирус гепатита Е вызывает острый спорадический и эндемический гепатит у различных видов животных и птицы во всем мире. Основной путь передачи инфекции фекально-оральный. Наиболее крупные вспышки заболевания связывают с контаминацией воды [2, 6, 8].

У животных впервые вирус был изолирован в США в 1997 г. Meng с соавторами (2003) описал заболевание у свиней. У птиц заболевание описано в 1980 году на птицефабриках Австралии, Великобритании, Японии и США. Данное заболевание у птицы характеризуется снижением яйценоскости, высокой смертностью, значительным увеличением печени и селезенки. В России Ибрагим Ел-Морси в 2004 г. проводил исследования в Екатеринбурге и у 18,3% обследуемых кур обнаружил антитела к ВГЕ, что свидетельствует о циркуляции данного вируса на территории России.

Основное поголовье птицы было завезено из Европейских стран. Ежегодные падежи «клинически здоровой птицы» только в одном птицеводческом хозяйстве исчисляются тысячами. Масштабные исследования вирусного гепатита Е кур на территории Российской Федерации ранее не проводились. В современных условиях необходима своевременная диагностика для профилактики и ликвидации заболевания среди поголовья птиц, обслуживающего его персонала и потребителей птицеводческой продукции. На сегодняшний день диагностических наборов для ПЦР существует более десяти, но все они производятся за рубежом. Авторы предлагают создать набор для ПЦР диагностики вирусного гепатита Е птиц отечественного производства, что снизит его стоимость для потребителя в разы. Диагностический набор ПЦР для вирусного гепатита Е будет адаптирован для российских условий. Своевременная диагностика позволит существенно сократить убытки.

В связи с отсутствием доступных методов выявления вируса, **цель исследований** – усовершенствование методов диагностики вирусного гепатита Е кур. Для этого были решены следующие **задачи**: 1) культивирование вируса с использованием культуры клеток ФЭК для получения материала, свободного от других микроорганизмов; 2) заражение куриных эмбрионов для оценки вирулентности штамма; 3) разработка олигонуклеотидных праймеров для выявления вируса методом полимеразной цепной реакции.

Материалы и методы исследований. Основное поголовье птицы, которое подвергалось обследованию, было завезено из Европейских стран. От павшей птицы отбирали кусочки печени и в транспортной среде, обеспечивающей оптимальные условия сохранности РНК и ДНК, доставляли в лабораторию. В качестве положительного контроля использовали заведомо положительный материал в виде замороженной суспензии внутренних органов птиц, предоставленный ГНУ ВНИВИП Россельхозакадемии. Выделение вируса проводили с помощью первично-трипсинизированной клеточной культуры ФЭК (фибробласты эмбрионов кур). Для проверки стерильности суспензию патологического материала предварительно высевали на МПБ. После заражения клеточной культуры проводили ежедневное наблюдение под малым увеличением микроскопа в течение 7 дней. Степень дегенеративных изменений клеток в зараженной культуре оценивали крестами: +++++ – деструкция всех клеток в пробирке; +++ – большей части клеток; ++ – половины клеток; + – меньше половины; – отсутствие ЦПЭ. В обязательном порядке результат опыта сравнивали с контролем – свободной от вируса клеточной культуры. Материалом для ПЦР-исследования служили погибшие эмбрионы, культура клеток с ЦПЭ, а также полевой биологический материал от 47 павших кур, у которых отмечался синдром гепато- и спленомегалии.

Выделение вируса проводили с использованием развивающихся куриных эмбрионов 6-7-дневного возраста. Вирусосодержащий материал вносился одноразовым стерильным шприцом в объеме 0,3 мл в желточный мешок. Овоскопирование проводили ежедневно в течение 7 дней.

Выделение ДНК из образцов печени производили набором «Рибосорб» (ФГУ ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва) в соответствии с рекомендациями изготовителя. Метод выделения основан на специфической обратимой сорбции нуклеиновых кислот на частицы силикагеля.

Нуклеотидные последовательности генов-мишеней для ПЦР были получены из баз данных NCBI GenBank. Анализ нуклеотидных полноразмерных геномов и участков генов проводили с применением программы «BioEdit 6.0» и «Oligo 4.0». Постановку ПЦР проводили в реакционной смеси стандартного

состава с использованием 10 пкМ каждого праймера, 10 мкл раствора кДНК с добавлением 3 мМ MgCl₂. Продукты ПЦР анализировали путем электрофоретического разделения в 1,5% агарозном геле.

Результаты исследований. Для выделения и концентрации вируса из имеющегося клинического материала использовали метод последовательных пассажей на первично трипсинизированной клеточной культуре. Перед инокуляцией материала в предварительно подготовленную клеточную культуру, проверяли бактериологическую чистоту путем посева на МПБ. ЦПЭ регистрировали, начиная с третьего дня с момента первичного заражения культуры клеток. Следующие пассажи проводили аналогично, материалом служила среда с клеточной взвесью из опытных пробирок предыдущего пассажа.

Таблица 1

Оценка ЦПЭ в серии пассажей вируса гепатита Е кур в клеточной культуре ФЭК

День	Первичное заражение культуры клеток	Первый пассаж	Второй пассаж
1	-	-	+
2	-	++	+++
3	+	+++	++++
4	++	++++	++++
5	++	++++	++++
6	+++	++++	++++
7	+++	++++	++++

Важно отметить, что при пассажировании на КК наблюдалось увеличение монослоя в сравнении с контролем. Для оценки вирулентности вируса гепатита Е кур проводили заражение куриных эмбрионов. Начиная со второго дня, гибель эмбрионов считается специфичной.

Таблица 2

Сравнительная оценка вирулентности возбудителя гепатита Е кур в зависимости от концентрации вируса

Показатель	Очищенная суспензия внутренних органов больных цыплят	Культура клеток после второго пассажа	Контроль
Количество зараженных эмбрионов	3	3	3
Гибель первого эмбриона группы, день	4	2	нет
Гибель всех эмбрионов группы, день	7	3	нет

У павших эмбрионов, зараженных клеточной культурой после второго пассажа, встречалось скопление белого налета на сосудистой оболочке. У некоторых эмбрионов оболочка желточного мешка была дряблая и разрывалась при захвате пинцетом.

С целью выявления вируса гепатита Е кур методом ПЦР проводили выделение нуклеиновых кислот. Диагностика полученных образцов РНК на присутствие генетического материала вируса производилась с использованием стандартного набора реагентов и видоспецифических праймеров, фланкирующих участок генома размером в 176 пар нуклеотидов. После проведения обратной транскрипции полученная кДНК использовалась для проведения полимеразной цепной реакции. Нами были подобран наиболее оптимальный температурный режим амплификации и концентрация ионов магния.

В результате проведенных исследований наличие РНК вируса было подтверждено во всех опытных образцах куриных эмбрионов и культуре клеток. Из 47 образцов биологического материала павших кур наличие вируса гепатита Е кур методом ПЦР было установлено только в 4-х случаях (8,5%).

Заключение. Масштабные исследования вирусного гепатита Е кур на территории Российской Федерации ранее не проводились. Проведенные исследования позволяют сделать заключение о том, что штамм вируса гепатита Е кур обладает высокой вирулентностью. Циркуляция вируса гепатита Е кур, завезенных из европейских стран в Ростовскую область, подтверждена методом ПЦР. Мониторинговые исследования птицефабрик с использованием высокочувствительных методов позволяют существенно сократить экономические потери, своевременно скорректировать эпизоотологические и эпидемиологические мероприятия.

Библиографический список

1. Аша, П. Н. Зоонозы и инфекционные заболевания, общие для человека и животных / П. Н. Аша, Б. Цифрес // Панамериканская организация здравоохранения. – 3-е изд. – Вашингтон, 2003.
2. Ашболт, А. Дж. Микробное загрязнение питьевой воды и болезней результатов в развивающихся регионах // Токсикология. – 2004. – Вып. 198. – С. 229–238.
3. Балаян, М. С. Вирус гепатита Е у животных // Мир вирусных гепатитов. – 2000. – №1. – С. 3-4.
4. Берке, Т. Реклассификация Caliciviridae в особый род и исключение вируса гепатита Е из него на основе сравнительного филогенетического анализа / Т. Берке, Д. О. Матсон // Архив вирусологии. – 2000. – Вып. 150. – С. 1421-1436.
5. Эмерсон, С. Ю. Неревirus. Вирусологическая таксономия / С. Ю. Эмерсон, Д. Андерсон, А. В. Арранкел [и др.] // Восьмой Доклад Международного комитета по таксономии вирусов. Elsevier. – Лондон : Academic Press, 2004. – С. 851-855.

6. Купманс, М. Пищевые вирусы: новая проблема / М. Купманс, Е. Дьюайзер // Международный журнал пищевой микробиологии. – 2004. – Вып. 90. – С. 23-41.
7. Мэнг, Кс.Дж. Свиной вирус гепатита Е: межвидовая инфекция и риск в ксенотрансплантации // Текущие темы в микробиологии и иммунологии. – 2003. – Вып. 278. – С.185-216.
8. Вазикова, П. Вирусы как причина болезней пищевого происхождения: обзор литературы / П. Вазикова, Л. Дворска, А. Лоренкова, И. Павлик // Ветеринарная Медицина. – 2005. – Вып. 50. – С. 89-104.
9. Ел-Морси, Ибрагим. Распространение гепатита е среди населения эндемичных и неэндемичных регионов мира : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ел-Морси Ибрагим. – М., 2004. – 24 с.

УДК 636:611.8

ХЕМОСЕНСОРНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ НОСА И ФЛЕМЕН ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Дегтярев Владимир Васильевич, д-р вет. наук, проф. кафедры «Морфология, физиология и патология», ФГБОУ ВПО Оренбургский ГАУ.
460795 г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18.
E-mail: vv-degtyarev@yandex.ru

Ключевые слова: химическая, коммуникация, флемен, хемосенсорные, образования.

Цель исследования – выявить морфологические особенности хемосенсорных образований носа и закономерности возникновения флемена у домашних животных. Объектами исследования служили домашние животные (лошадь, крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, собаки, кошки) пренатального и постнатального периодов развития. Результаты комплексных исследований позволяют утверждать, что полость носа и ходы образуют единый воздухоносный комплекс, обеспечивающий их полифункциональность. На основании результатов собственных исследований автор предлагает построить ряд макроосматиков среди домашних животных: собака, кошка, лошадь, коза, свинья, крупный рогатый скот. Хемосенсорными образованиями носа следует признать: основную обонятельную выстилку, септальный орган, сошниковоносовой орган, их одноименные нервы, а также концевой нерв и ветви тройничного нерва – внутренний носовой, решетчатый, каудальный носовой и носонебный нервы. Слизистая оболочка полости носа представляет собой единую сложную биосистему, состоящую из шести слоев с характерными региональными клеточно-тканевыми структурами. Все установленные формы флемена можно подразделить на две группы. Так, у парнокопытных животных, непарнокопытных и мозолоногих поза флемена одинакова: вытянутая напряженная шея, приподнятая голова, сморщенная и скрученная верхняя губа. У кошачьих и псовых такой позы нет. Вместо этого у них существует своеобразная «улыбка», когда приподнимаются углы рта, оголяются зубы. Возникают обе позы в ответ на запаховые стимулы, что и дало нам возможность объединить их под общим термином «флемен».

Одной из актуальнейших проблем современной биологии следует признать проблему, направленную на расшифровку строения, развития и функции сенсорных систем и их образований. Из сенсорных образований, как это ни парадоксально, наименее изучены органы чувств и прежде всего органы обоняния.

Обоняние необходимо животным не только при поисках пищи, полового партнёра или обнаружения врагов, но и обеспечивает восприятие многочисленных химических сигналов, необходимых для взаимного общения особей [2, 3]. В работе с домашними животными мало тех, кто обращает внимание на флемен и другие характеристики поведения особи. Ветеринарная наука имеет на сегодня не многочисленные данные касательно флемена [4]. Анализ литературных данных показывает, что хемосенсорные образования практически не изучены. Морфологические признаки, выявленные профессором В. В. Дегтярёвым и учениками его школы (В. Г. Богданов, Л. Д. Верхошенцева, А. С. Дымов, А. В. Никулин, Д. Г. Мустафина, А. А. Стройков) необходимо учитывать при клиническом обследовании органов обоняния [1].

Таким образом, выбранное научное направление по изучению хемосенсорных образований носа домашних животных и реакции флемена является на сегодняшний день вполне перспективным и достаточно обоснованным.

Цель исследований – выявить морфологические особенности хемосенсорных образований носа и реакции флемена у домашних животных.

Задачи исследований: 1) описать видовую, возрастную и индивидуальную морфологию сошниковоносового органа; 2) выявить гистологические региональные особенности строения слизистой оболочки и обонятельного эпителия; 3) уточнить особенности хода, ветвления и внутривольного строения нервов носа; 4) установить частоту возникновения флемена в зависимости от сезона года; 5) доказать наличие феромонов в моче, фекалиях и кожных выделениях; 6) изучить особенности полового поведения.

Материалы и методы исследований. Объектами исследования служили домашние животные (лошадь, крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, собаки, кошки) пренатального и постнатального периодов