

МИКРОСПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛЕТОК ЖЕЛЕЗИСТОГО ЖЕЛУДКА ЦЫПЛЯТ ПРИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

АКЧУРИН Сергей Владимирович, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

АКЧУРИНА Ирина Владимировна, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

*Метод люминесцентного спектрального анализа с использованием метахроматического флуоресцентного красителя Stains all позволяет устанавливать коэффициенты соотношений НК и белков в клетках междольковой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки железистого желудка цыплят контрольной группы и зараженных *Klebsiella pneumoniae*. Динамика изменений этих коэффициентов отражала особенности функционального состояния клеток этой зоны в норме, при заболевании клебсиеллезом и его лечении. В контрольной группе она укладывалась в картину постепенного возрастания их функциональной активности соответственно увеличению возраста цыплят. У инфицированных цыплят изменение функционального состояния этих клеток имело сложный и неоднозначный характер, зависящий как от воздействия возбудителя, так и от действия лекарственного препарата «Энрофлон». Полученные данные могут быть приняты во внимание при формировании принципиально нового подхода к вопросу создания современных технологий профилактики и лечения клебсиеллеза.*

В ряду возбудителей бактериальной этиологии, вызывающих острые желудочно-кишечные заболевания птиц, возбудители рода *Klebsiella* занимают особое место. Они отличаются высокой степенью устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды, резистентностью и адаптацией к различным группам антимикробных препаратов, а также выраженными патогенными свойствами, вызывающими глубокие патологические метаболические изменения в клетках, которые приводят к массовому падежу птицы уже на ранних стадиях заболевания до развития характерной патоморфологической картины [4]. Поэтому своевременная диагностика и эффективная терапия играют важную роль в борьбе с клебсиеллезом.

Однако в настоящее время остаются недостаточно изученными вопросы определения функционального состояния клеток и тканей организма птиц при проведении антибактериальной терапии, так как они требуют применения высокочувствительных и информативных методов исследования.

Для изучения внутриклеточных изменений соотношений нуклеиновых кислот (НК) и белков, играющих ведущую роль в изменении функционального состояния клеток и ее органоидов, был разработан метод люминесцентного спектрального анализа клеток железистого желудка цыплят [1]. В качестве люминесцентного красителя использовался Stains all, метахроматические свойства которого обусловили возможность одновременного выявления данных органических

соединений [3, 5, 6]. Особенности протекающих физико-химических реакций устанавливались с помощью регистрации спектральных характеристик, отражающих происходящие в клетках биохимические сдвиги. Динамика соотношения НК и белков определялась по изменению их спектральных характеристик, что обеспечивало объективную регистрацию и соответственно оценку полученных результатов.

Первой мишенью на пути проникновения возбудителей клебсиеллеза в организм является слизистая оболочка железистого желудка, поэтому целью настоящей работы была оценка функционального состояния клеток междольковой соединительной ткани при лечении птиц антибактериальным препаратом «Энрофлон».

Методика исследований. Исследования проводили на 500 цыплятах породы хайсек коричневый, взятых из благополучного по инфекционным заболеваниям хозяйства. Цыплята были разделены на три группы: одна контрольная (100 цыплят) и две опытные (по 200 цыплят). Цыплятам контрольной (I) группы вводили физиологический раствор в объеме 0,4 мл/гол. Цыплят опытных групп (II и III) инфицировали бактериями *Klebsiella pneumoniae* в разведении 2,5 млрд бактериальных клеток в 1 мл в заражающей дозе 0,4 мл/голову на 2-е сутки их жизни пероральным путем с помощью однограммового шприца и иглы с булавовидным концом. Лечение цыплят III группы проводили 5%-м препаратом «Энрофлон» (производитель ИП «ВИК-здоровье животных»). Препарат начали давать на 5-е





сутки заболевания (7-е сутки жизни) в соответствии с прилагаемой инструкцией (1 мл препарата на 10 л воды в течение 5 дней).

Гистологические срезы железистого желудка цыплят контрольной и опытных групп исследовали на 1–8, 10, 15, 21, 27, 30 и 37-е сутки их жизни. Гистопрепараты толщиной 4–7 мкм изготавливали из парафиновых блоков кусочков железистого желудка, фиксированного в 10%-м нейтральном забуференном водном растворе формалина.

Общую картину микроскопических изменений изучали на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином-эозином по общепринятой методике, люминесцентномикроскопические характеристики – на гистопрепаратах, окрашенных 10^{-4} М спиртовым раствором Stains all по методике, разработанной применительно к гистологическим срезам. Спектры люминесценции получали с помощью универсального цветоанализатора микроскопа-спектрофотометра МСФУ-К.

Объектом для исследования методом спектрального анализа служили клетки междольковой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки железистого желудка цыплят. Величину интенсивности люминесценции регистрировали в синей (I480) и красной (I620) областях ее спектра, по полученным данным определяли коэффициенты соотношений НК и белков в соответствии с разработанной методикой [1].

Результаты исследований. В окрашенных гематоксилином-эозином гистопрепаратах стенки железистого желудка цыплят контрольной группы патологические изменения отсутствовали.

У цыплят опытных групп на 3-и сут. жизни выявляли отек тканей слизистой оболочки. К 7–8-м сут. их жизни в слизистой оболочке наблюдали отек, а также множественные кровоизлияния, дилатацию сосудов и явление стаза эритроцитов в просвете некоторых артериол. Описанную гистологическую картину с разной степенью выраженности наблюдали у цыплят II группы до 14-х сут. жизни, а у цыплят III группы – до 10-х сут.

К 21-м сут. жизни у цыплят III группы отмечали отек соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки, а у цыплят II группы обнаруживали отек тканей слизистой и серозной оболочек, единичные мелкоочаговые кровоизлияния в подслизистой основе слизистой оболочки.

К 37-м сут. жизни наблюдали нарушение кровообращения в виде умеренно выраженного отека и мелких периваскулярных кровоизлияний в слизистой оболочке у цыплят II группы.

В окрашенных Stains all гистологических срезах стенки железистого желудка отмечали своеобразную люминесцентномикроскопическую картину, которая отражала особенности распределения связанных с флуорохромом НК и белков. Она характеризовалась сочетанием синего, зеле-

новатого и малиново-красного цветов с разной степенью интенсивности на различных участках серозной, слизистой оболочек и мышечного слоя железистого желудка.

С помощью метода микроспектрального анализа клеток междольковой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки железистого желудка цыплят контрольной и опытных групп были получены коэффициенты соотношения НК и белков (рис. 1).

Результаты исследований особенностей изменений коэффициентов соотношений In/Ib цыплят контрольной группы и инфицированных *Klebsiella pneumoniae* с 1-х по 6-е сут. их жизни приведены в ранее опубликованной работе [2]. С 7-х до 37-х сут. жизни у цыплят контрольной группы отмечали умеренное постепенное увеличение значений коэффициентов In/Ib . Это могло быть следствием постепенного и опережающего увеличения интенсивности люминесценции при длине волны 480 нм (In) относительно возрастания ее величины при длине волны 620 нм (Ib), рис. 2, I. Данную тенденцию наблюдали в спектрах люминесценции клеток этой зоны на протяжении всего периода увеличения возраста.

При изучении динамики изменений коэффициентов соотношений НК и белков в клетках междольковой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки железистого желудка больных клебсиеллезом цыплят выявлена определенная закономерность, которая имела отличительные особенности, характерные для каждой опытной группы (см. рис. 1, II, III). У цыплят II группы на кривой коэффициентов соотношений отмечали три пика на 8, 21 и 30-е сут. жизни (см. рис. 1, II). Появление пика на 8-е сут. могло быть результатом более быстрого снижения In по сравнению с уменьшением величины Ib . Резкий скачок на 21-е сут. предположительно связан с более быстрым ростом величины In по сравнению с увеличением Ib , а на 30-е сут. – с более быстрым снижением Ib по сравнению с уменьшением In (см. рис. 2, II). К 37-м сут. на-

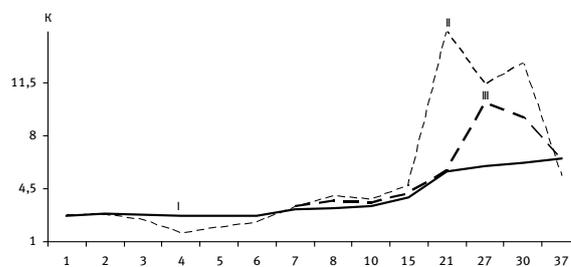


Рис. 1. Изменение показателей коэффициентов соотношений НК и белков (K) в клетках междольковой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки железистого желудка цыплят контрольной (I) и опытных групп (II – клебсиеллез, III – клебсиеллез + лечение). По оси ординат – значения коэффициентов соотношений нуклеиновых кислот (K), по оси абсцисс – сутки жизни

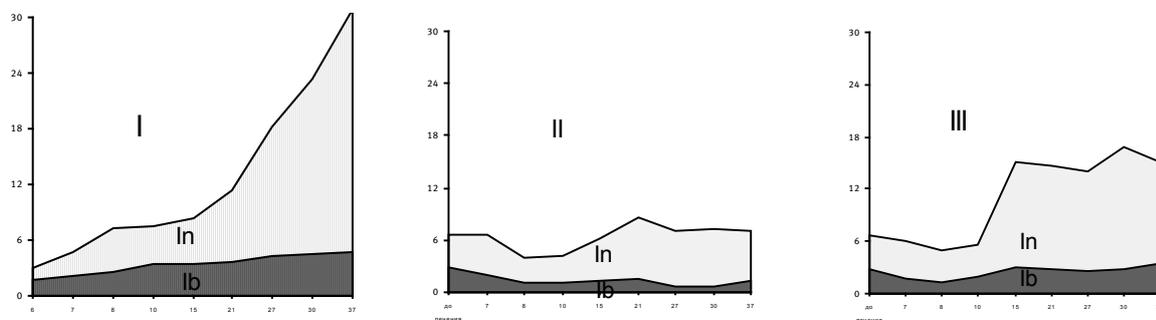


Рис. 2. Величина интенсивности люминесценции НК (*In*) и белков (*Ib*) в спектре люминесценции клеток междольковой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки железистого желудка цыплят контрольной (I) и опытных групп (II – клебсиеллез, III – клебсиеллез + лечение). По оси ординат – величина интенсивности люминесценции, по оси абсцисс – сутки жизни

блюдали уменьшение коэффициента соотношения In/Ib , при этом его значение было несколько ниже аналогичных значений контрольной группы (см. рис. 1), что могло быть следствием некоторого увеличения значения *Ib* на фоне некоторой стабилизации величины *In* к этому сроку жизни больных цыплят (см. рис. 2, II).

У цыплят III группы кривая коэффициентов соотношений в исследуемый период имела тот же характер, что и у цыплят II группы. Однако их значения были несколько ниже, что могло быть результатом более высоких показателей *In* и *Ib*. Это свидетельствовало о повышении функциональной активности клеток междольковой соединительной ткани подслизистой основы, которое регистрировалось уже на начальном этапе лечения клебсиеллеза. К 37-м сут. значение коэффициентов соотношений органических веществ приблизилось к аналогичным показателям цыплят контрольной группы. Это могло быть связано с более быстрым ростом величины *Ib* на фоне относительной стабилизации значений *In* (см. рис. 2, III).

Анализ изменений величин *In* и *Ib* в клетках междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят II группы свидетельствовал о значительном их снижении по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы (см. рис. 2, I, II). Это могло указывать на изменение функционального состояния данных клеток, характеризующегося уменьшения в них НК и белков. В то же время в III группе эти значения превышали величину аналогичных показателей, регистрируемых во II группе, но были ниже, чем в контрольной группе. Это могло быть результатом увеличения в клетках этой зоны НК и белков вследствие усиления их функциональной активности, которая оставалась ниже, чем в контрольной группе (см. рис. 2).

Выводы. Динамика изменений коэффициентов соотношения НК и белков в клетках междольковой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки железистого желудка

ка цыплят, установленная методом микроспектрального анализа с использованием метакроматического флуоресцентного красителя Stains all, отражала особенности их функционального состояния в норме при заболевании клебсиеллезом и его терапии. Применение для лечения лекарственного средства «Энрофлон» приводило к усилению функциональной активности этих клеток, что нашло отражение на кривой коэффициентов соотношения НК и белков.

Результаты проведенного исследования показали, что с помощью данного метода можно регистрировать изменения функционального состояния клеток этой зоны в процессе проводимого лечения. Полученные результаты могут оказаться полезными при разработке принципиально нового подхода к вопросу создания современных технологий профилактики и лечения этой широко распространенной желудочно-кишечной инфекции птиц.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акчурун С.В., Ларионов С.В. Анализ соотношений нуклеиновых кислот и белков в стенке железистого желудка цыплят методом люминесцентного спектрального анализа с использованием флуорохрома Stains all // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2012. – № 02. – С. 3–7.
2. Акчурун С.В. Использование микроспектрального метода для оценки функционального состояния клеток железистого желудка цыплят при кишечных инфекциях // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013. – № 5. – С. 214–218.
3. Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток. – Режим доступа: <http://cam.psn.ru>.
4. Ольховик О.П. Клебсиеллез бройлеров: дис. ... канд. вет. наук. – Краснодар, 2009. – 135 с.
5. Dahlberg A.E., Dingenon C.W., Peacock A.C. Electrophoretic characterization of bacterial polyribosomes in agaroseacrylamide composite gels // J. Mol. Biol., 1969, Vol. 41, P. 139–147.
6. Haag D., Tschahargane C., Goerttler K. Simultaneous differential staining of nucleic acids and proteins in histological tissues by means of j-band effect // Histochemie, 1971, Vol. 26, P. 190–193.

Акчурин Сергей Владимирович, канд. вет. наук, доцент кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

Акчурина Ирина Владимировна, канд. вет. наук, доцент кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза», Саратовский государственный аграрный

университет имени Н.И. Вавилова. Россия.
410012, г. Саратов, Театральная пл., 1.
Тел.: 89658865426; e-mail: akchurin@sgau.ru.

Ключевые слова: нуклеиновые кислоты и белки; Stains all; люминесцентный спектральный анализ; клебсиеллез цыплят; препарат «Энрофлон».

MICROSPECTED ANALYSIS OF CELLS OF THE FERRUTEROUS STOMACH CHICKEN IN ANTIBACTERIAL THERAPY

Akchurin Sergey Vladimirovich, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the chair "Morphology, Pathology of Animals and Biology", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.

Akchurina Irina Vladimirovna, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the chair "Morphology, Pathology of Animals and Biology", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.

Keywords: nucleonic acids and proteins; Stains all; spectral analysis; Klebsielliosis; chickens; enroflon.

The method of fluorescent spectral analysis using the metachromatic fluorescent "Stains all" dye allows finding out the ratio of nucleic acid and proteins in the cells of in-

terlobular connective tissue of the submucosa mucosa fer-ruterous stomach in the control group and infected with *Klebsiella pneumoniae*. The dynamics of changes in these ratios reflects the special aspects of the functional state of the cells in this zone normally, with klebsielliosis disease and in its treatment. In the control group, it stayed within the gradual increase in their functional activity respectively to the increase in the age of the chickens. The changes of functional status of these cells in the infected chickens were complicated, depending on both the impact of the agent and from the action of the "Enroflon" drug. These findings can be taken into account in the formation of a fundamentally new approach to the question of the creation of modern technologies of prevention and treatment of klebsielliosis.

УДК631.611:631.445.2

ВЛИЯНИЕ СПОСОБОВ ОСВОЕНИЯ ЗАЛЕЖНЫХ ЗЕМЕЛЬ НА АГРОФИЗИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЛОДОРОДИЯ ЧЕРНОЗЕМА ОПОДЗОЛЕННОГО

БОЧКАРЕВ Дмитрий Владимирович, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва

ДЕВЯТКИНА Татьяна Федоровна, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва

НЕДАЙБОРЩ Юлия Николаевна, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва

ЕМЕЛЬЯНОВ Сергей Владимирович, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва

БОЧКАРЕВ Владимир Дмитриевич, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва

Представлены результаты исследований влияния различных предшественников озимой пшеницы и приемов основной обработки почвы залежных земель на агрофизические показатели плодородия чернозема оподзоленного лесостепной зоны юга Нечерноземья. Установлено, что при освоении залежных земель эффект от применения мелиоративной дисковой бороны БДМ-2,5 не уступает по своему влиянию на агрофизические показатели плодородия почвы традиционной обработке залежи (дискование дернины с последующей вспашкой). Данный прием может быть рекомендован для основной обработки почвы. Лучшим предшественником для озимой пшеницы, оказывающим благоприятное влияние на агрофизические показатели плодородия, является занятый викоовсяный пар.



Сохранение и поддержание агрофизических показателей плодородия почвы является важной задачей при ее сельскохозяйственном использовании [4, 6, 7]. С развитием систем земледелия происходило увеличение антропогенной нагрузки на почву, что зачастую приводило к ухудшению ее агрофизических показателей – плотности сложения, структурного состояния, пористости

и т. д. [10]. Со времен примитивных систем земледелия залежь являлась эффективным средством восстановления плодородия почвы. Площадь залежных земель на территории РФ составляет более 40 млн га. Возвращение в оборот плодородных залежных земель – простой и наименее затратный способ увеличения площади продуктивной пашни и подъема аграрного потенциала страны [1, 2].