

из Тюкалинского района. Первичное обследование методом ОТ-ПЦР дало отрицательный результат, после трехкратного паспорирования на РКЭ из патологического материала были выделены 14 изолятов вируса гриппа типа А субтипа H5N1.

Биологические и генетические особенности выделенных изолятов вирусов H5N1 в настоящее время находятся на изучении.

По данным научных учреждений занимающихся проблемами гриппа было отмечено, что все изоляты H5N1 выделенные на территории Российской Федерации во время эпизоотических вспышек, принадлежат к группе вирусов родственных вирусу гриппа, выделенного в мае 2005 г на озере Цинхай в северном Китае, и являются результатом его микроэволюции [2,3]. В связи с этим, можно предположить, что и выделенные изоляты

от дикой птицы в июне месяце также принадлежат к данной группе вирусов.

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что изоляты вирусов гриппа субтипа H5N1, выделенные в июне 2006 года на территории Омской области, были занесены с весенней миграцией перелетных птиц на территорию Западной Сибири. Отсутствие вирулентности для диких уток вероятно является результатом адаптации вируса к данной популяции птиц на протяжении длительного периода времени.

Выделенный вирус гриппа типа А субтипа H4N6, от сойки относится к группе слабопатогенных вирусов. Повсеместно циркулирующие подобные вирусы являются также потенциально опасными для окружающей фауны, учитывая способность вируса мутировать в высокопатогенный.

#### Литература:

1. Львов Д.К., Ильичев В.Д. Миграции птиц и перенос возбудителей инфекции. М., 1979. 270 с.
2. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г. Изоляция высокопатогенных (HPAI) штаммов вируса гриппа А/ H5N1 от диких птиц в очаге эпизоотии на озере Убус-Нур (июнь 2006 г.) и их депонирование в Государственную коллекцию вирусов РФ (3 июля 2006 г.). Журн. Вопросы вирусологии. 2006, 6: 14–18.
3. Онищенко Г.Г., Шестопалов А.М., Терновой В.А. и др. Выявление в Западной Сибири высокопатогенных H5N1 вирусов гриппа, генетически родственных вирусам, циркулирующим в Юго-восточной Азии в 2003-2005 гг. Журн. Доклады Академии наук. 2006, 2 (406): 1–3.
4. Рябицев В. К. Птицы Урала, Приуралья и Западной Сибири: Справочник-определитель. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2002. 608 с.
5. Ellis T.M., Bousfield R.B., Bissett L.A. et al. Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002. Avian Pathol. 2004 Oct; 33(5): 492–505.
6. Horimoto T., Kawaoka Y. Influenza: lessons from past pandemics, warnings from current incidents. Nat Rev Microbiol. 2005, 3 (8): 591–600.
7. Liu M. et al. The influenza virus gene pool in a poultry market in south central China // Virology. 2003. V. 305. N 2. P. 267-275
8. Kou Z., Lei F.M., Yu J. et al. New genotype of avian influenza H5N1 viruses isolated from tree sparrows in China. J Virol. 2005 Dec; 79(24):15460-6.
9. Kwon Y.K., Joh S.J., Kim M.C. et al. Influenza in magpies (*Pica pica sericea*) in South Korea. J Wild Dis. 2005 Jul;41(3): 618–623
10. Normil D. Avian influenza. Potentially more lethal variant hits migratory birds in China. Science. 2005, 309(5732): 231.
11. Suarez D.L. Evolution of avian influenza viruses // Vet. Microbiol. 2000. V. 74. P. 15–27
12. The National Training Course on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. Harbin, 2001. 79 p.
13. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T. et al. Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev. 1992, 56: 152–179.

УДК 619: 611.018.54:591.111

**Р.Я. Гильмутдинов, Н.И. Гурьянов, И.М. Ганиев**

(ФГУ «Федеральный Центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (г. Казань) )

## **ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ СЫВОРОТОК КРОВИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУР КЛЕТОК И РЕПРОДУКЦИЮ ВИРУСОВ**

При культивировании клеток животных для вирусологических целей обычно используется сыворотка крови крупного рогатого скота, реже - лошадей, свиней, кроликов и других видов. У них имеются как преимущества, так и недостатки, что связа-

но в первую очередь с биохимическим составом. Так, интенсивность пролиферации клеток зависит от содержания в среде культивирования одновременно низко- и высокомолекулярных компонентов сыворотки (Адамс Р, 1985; Конки Д. и др., 1989; Рян-

Таблица 2

**Пролиферативная активность отдельных культур клеток при использовании различных комбинаций сывороток крови**

№ п/п	Сыворотки крови и их комбинации	Культура клеток					
		SPEV		MDBK		TR	
		48 ч.	72 ч.	48 ч.	72 ч.	48 ч.	72 ч.
1	СКБ	3,22 ± 0,13	3,83 ± 0,14	4,47 ± 0,13	5,64 ± 0,16	3,02 ± 0,08	3,61 ± 0,11
2	СКБ + СКЛ (3:1)	3,41 ± 0,13	4,10 ± 0,14			3,20 ± 0,08	3,89 ± 0,08
3	СКБ + СКЛ (1:1)	3,53 ± 0,13	4,22 ± 0,14	4,52 ± 0,13	5,35 ± 0,13	3,48 ± 0,06	4,27 ± 0,12**
4	СКБ + СКЛ (1:3)	3,29 ± 0,11	3,91 ± 0,14			3,42 ± 0,08*	4,09 ± 0,14*
5	СКС	3,62 ± 0,13	4,38 ± 0,17	4,68 ± 0,14	5,64 ± 0,13	3,12 ± 0,06	3,71 ± 0,11
6	СКС + СКБ (3:1)	3,88 ± 0,12*	4,54 ± 0,18*			3,63 ± 0,10**	4,72 ± 0,11**
7	СКС + СКБ (1:1)	4,00 ± 0,15*	4,64 ± 0,16*	5,01 ± 0,14*	6,00 ± 0,17	3,69 ± 0,11**	4,85 ± 0,11**
8	СКС + СКБ (1:3)	3,77 ± 0,14*	4,49 ± 0,17*			3,58 ± 0,07**	4,43 ± 0,11**
9	СКЛ	3,11 ± 0,12	3,74 ± 0,16	3,99 ± 0,11*	4,95 ± 0,14**	2,83 ± 0,10	3,33 ± 0,07
10	СКЛ + СКС (3:1)	4,08 ± 0,15**	4,62 ± 0,16*			4,18 ± 0,11**	5,26 ± 0,14**
11	СКЛ + СКС (1:1)	4,33 ± 0,15**	5,36 ± 0,18**	5,21 ± 0,12**	6,29 ± 0,18*	4,79 ± 0,14**	5,78 ± 0,15**
12	СКЛ + СКС (1:3)	4,21 ± 0,15**	4,99 ± 0,18**			4,27 ± 0,11**	5,53 ± 0,12**

Примечание: \* и \*\* – уровни достоверности различия с контролем  $p \leq 0,01$  и  $p \leq 0,001$  соответственно.

Таблица 3

**Инфекционная активность вирусов ИРТ и ПГ-3 на перевиваемых линиях культур клеток MDBK и TR**

Сыворотки крови и их комбинации	Культура клеток	
	MDBK	TR
	Титр вируса lg ТЦД <sub>50</sub> мл	
	ИРТ	ПГ-3
СКБ	5,6 ± 0,2	5,3 ± 0,2
СКЛ	5,5 ± 0,1	5,1 ± 0,1
СКС	6,1 ± 0,1	5,8 ± 0,2
СКБ + СКЛ (1:1)	4,8 ± 0,2	5,2 ± 0,1
СКБ + СКС (1:1)	6,6 ± 0,1	6,3 ± 0,2
СКЛ + СКС (1:1)	6,5 ± 0,1	6,1 ± 0,1

Примечание: ТЦД<sub>50</sub> мл – 50 мл тканевая цитопатическая доза вируса

бычьей сыворотки крови.

Различными авторами показана зависимость белкового состава сыворотки крови от возраста, породы и пола животных, его физиологического состояния, продуктивности, типа нервной деятельности, кормления, температуры окружающей среды и сезона года. По этой причине все перечисленные параметры мы унифицировали с целью устранения их влияния.

Сыворотки крови должны соответствовать определенным требованиям по ряду

физико-химических и биохимических показателей (Методические рекомендации по контролю качества жидкой сыворотки крови крупного рогатого скота, применяемой в медицинских и биологических целях, 1982) и для их соблюдения мы провели предварительное определение данных показателей (табл. 1).

Из таблицы 1 видно, что по исследованным показателям (содержание свободного гемоглобина, общих липидов, общего белка, в том числе общего холестерина, а так-

Нами проведены исследования по определению цитотоксических свойств НТ-2 токсина для культур клеток линий MDBK (почка бычка), MDCK (почка собаки), СПЭВ (почка эмбриона свиньи) и ППЭО (почка эмбриона овцы). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью 0,5% раствора трипанового синего. Влияние токсина на культуральные свойства определяли с учетом коэффициента жизнеспособности, индексов цитотоксичности и пролиферации, цитотоксического индекса и плотности клеточной популяции. При этом определялись такие цитотоксические дозы Т-2 токсина для данных клеточных культур, как  $IC_{100}$  и  $IC_{50}$  (вызывающие гибель или повреждение 100 и 50% клеток, соответственно) (Bassi A. et al., 1991) и максимально переносимая доза (МПД) – не оказывающая видимого цитотоксического действия (Червонская Г.П. и др., 1988).

Нами были получены результаты, представленные в таблице 1.

Из анализа таблицы можно сделать вывод, что токсичность НТ-2 токсина для культур клеток разных видов животных, не имела значительных колебаний, а для некоторых линий дозы были равными:

Таблица  
Токсичность НТ-2 токсина для перевиваемых культур клеток различных видов животных

Культура клеток	Дозы микотоксина, М		
	$IC_{100}, \times 10^{-5}$	$IC_{50}, \times 10^{-6}$	МПД, $\times 10^{-7}$
MDBK	4,72	0,88	1,47
MDCK	3,54	0,59	1,47
СПЭВ	4,72	0,59	0,75
ППЭО	2,36	1,18	0,75

$IC_{100}$  – для линий MDBK и СПЭВ,  $IC_{50}$  – для MDCK и СПЭВ, МПД – для MDBK и MDCK. Различие же в величинах токсичности у исследованных КК можно считать несущественным вследствие низкой дозировки токсина.

По нашим данным токсичность для перевиваемых клеточных линий НТ-2 токсина значительно ниже, чем Т-2 токсина. Так, если  $IC_{50}$  для последнего составляла  $10^{-9}$  М, то для НТ-2 токсина эта же доза равнялась  $10^{-6}$  М. Данная тенденция прослеживается и в опытах *in vivo*, хотя для НТ-2 токсина определена  $LD_{50}$  лишь у некоторых видов животных. Например, для свиней и крупного рогатого скота она составляет 40 и 32 мг/кг, соответственно, что на порядок больше, чем данная доза Т-2 токсина.

#### Литература:

- Еропкин М.Ю. Модели, альтернативные использованию лабораторных животных в токсикологии. Достижения и проблемы. // Токсикологический вестник. 1999. №5 с.7-13.
- Еськов А.П., Каюмов Р.И., Соколов А.Е. Токсикологические испытания. Альтернативные методы. // Токсикологический вестник. 2003. №5. с. 25–29.
- Лукиянов А.С., Лукьянова Л.Л., Чернавская Н.М., Гилязов С.Ф. Биоэтика. Альтернативы экспериментам на животных. М.: Изд-во МГУ, 1996. 253 с.
- Червонская Г.П. Культура клеток – биологическая модель в токсикологических исследованиях. // Тезисы докладов 1 съезда токсикологов России. М., 1998. с.328.
- Червонская Г.П., Кравченко Л.Т., Рунова В.Ф. и др. Цитотоксическое действие химических веществ, содержащихся в виде примесей в некоторых медицинских иммунобиологических препаратах // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол., 1988. №12. с. 85–90.
- Balls M., Clothier R. Comments on the scientific validation and regulatory acceptance of *in vitro* toxicity test. // Toxicol. in vitro., 1998. V. 5. №5-6. P. 535–538.
- Bassi A., Piana S., Penco S. et al. Use of an established cell line in the evaluation of the cytotoxic effect of various chemicals. // Boll. Soc. ital. biol. sper., 1991. V. 67, №8. P. 809–816.
- Botham P., Lewis R. Development of *in vitro* techniques for irritancy testing. // Hum. and Exp. Toxicol., 1996. V.15, №2. P.141.
- Trusal L. Metabolism of T-2 mykotoxin by cultured cells. // Toxicol., 1986. V.24, №6. P. 597–603.
- Yagen B., Bergmann F., Barel S., Sintov A. Metabolism of T-2 toxin by rat brain homogenate. // Biochem. Pharmacol., 1991. V.42, №4. P. 949–951.

УДК 619: 636.5.547.584.616.992

**А.В. Басанкин, В.А. Антипов**

(Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт)

## ПРИМЕНЕНИЕ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ МИКОТОКСИКОЗАХ

Янтарная кислота способствует улучшению состояния здоровья, жизнестойкости и продуктивности животных (Найденский М.С. с соавт., 1995; Самохин В.Т., 1999;

Хазипов Н.З. с соавт., 1999). Она способствует увеличению обмена энергии, улучшению дыхания в органах и тканях организма (Кондрашова М.Н., 1991).