

в якості носіїв вакцинних антигенів означено ліпосоми з діаметром у середньому 50 нм та щоб мембрана їх включала фосфотидилхолін, фосфотидилетаноламін і сукциніл-β-циклодекстрин. Отримані ліпосоми моноламельярні, що продиктувало необхідність додаткової їх обробки ультразвуком.

Висновки. 1. Серед отриманих варіантів ацильованих антигенів означено сукцинільований на 3 % від маси білку розчинний мурамілпептидний антиген, який при пероральному застосуванні на 15 добу викликав індукцію синтезу специфічних антитіл у титрі (1:1280) при пероральному застосуванні та титр (1:5120) – при ін'єкційному.

2. Серед отриманих зразків ліпосом для подальшого конструювання трансдермальних вакцин відібрано моноламельярні ліпосоми, діаметр яких складав в середньому 50 нм, мембрана їх вміщувала фосфотидилхолін, фосфотидилетаноламін та сукциніл-β-циклодекстрин.

Список літератури

1. Суворикин, Д.М., Краснопевцева, О.С. Синегнойная инфекция в хирургии // Вестник хирургии им. А.С. Грекова. – 1998. – №7. – С. 124-130.
2. Черномордик, А.Б. Некоторые культуральные и биохимические свойства *V. ruosianus*. – ЖМЭИ. – 1996. – №2-3. – С. 12-22.
3. Дзюбак, С.Т.// Некоторые эпидемиологические аспекты современной синегнойной инфекции, ЖМЭИ. – 1993. – №4. – С. 29-33
4. Мороз, А.Ф., Радкевич, С.А., Анциферова, Н.Г. Получение и экспериментальное изучение поливалентной корпускулярной вакцины для профилактики инфекций, обусловленных *P. aeruginosa* // Микробиологический журнал. – 2005. – №3. – С. 47-52.
5. Омельянец, Т.Г., Проценко, А.А. Влияние *P. aeruginosa* на некоторые процессы микробного самоочищения почвы // Микробиологический журнал. – 1986. – №5. – С. 22-28.
6. Nicas, T.I. Outer membrane protein HE of *P. aeruginosa*. *N.J. Bacteriol.* – 2006. – №3. – P. 151-155.
7. Губський, Ю.І. Біологічна хімія. – Вища школа. – 2005. – 480 с.
8. Арганов, А.Н. Микросомальное окисление. – М.: Наука. – 1985 – 327 с.
9. Берёзов, Т.Т., Коровкин, Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина. – 2001. – 752 с.
10. Кресюн, В.И. Клинические проблемы иммунофармакологии – Одесса. – 1993. – 432 с.
11. Hackerston, I.D. // *Biochemistry.* – 2000. – 522 p.
12. Мартынов, А.В. Ацилирование антигенов *Ps. aeruginosa*. – Фармация. – 2000. – №3. – С. 14-18.
13. Лисняк, Ю.В., Волянский, А.Ю., Дубинина, Н.В. и др.// Компьютерное моделирование в поиске лекарственных средств. – Харьков, ОКО. – 2006. – 189 с.
14. Stryer, L.A. *Biochemistry* // W.H. Greeman and Company. – New York. – 2003. – 1002 p.
15. Далин, М.В., Фиш, Н.Р. Белковые токсины микробов. – М.: Медицина. – 1996. – 284 с.

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF CONSTRUCTING OF VACCINES FOR MEDICINE AND VETERINARY ON THE BASIS OF THE ACYLATED DERIVATIVE IMMUNOGENIC BIOPOLYMERS PAERUGINOSA

Martynov A.V., Volyanskaya N.P.

SE «Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the AMS of Ukraine»

Succinylated derivatives of antigenic albumens of blue pus bacillus with different degree of modification have been received. Their most immunogenic variants have been determined with the purpose of subsequent development of medicinal forms of immunobiological preparations for transdermal and peroral application in human and veterinary medicine.

УДК 612.33: 636.2

КІЛЬКІСНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У ПРЕНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ

Масюк Д.М.

Дніпропетровський державний аграрний університет, e-mail: plppm@ua.fm

Метою досліджень було встановлення закономірності кількісної характеристики структурних компонентів слизової оболонки порожньої кишки плодів великої рогатої худоби у пренатальному онтогенезі. Об'єктом досліджень були плоди, віком від 2 до 9 місяців. Особливості морфогенезу слизової оболонки порожньої кишки визначали при дослідженні гістопрепаратів. У результаті досліджень встановлено, що процеси гістогенезу слизової оболонки відбуваються неодноразово, супроводжуються змінами рельє-

фу та розмірів, а також змінами організації функціонально різних клітинних популяцій. Зміни гладкого рельєфу слизової оболонки тонкої кишки починаються на початку раннього пренатального періоду та характеризуються початком виступу невисоких подовжніх складок. Плодовий період онтогенезу характеризується асинхронністю розвитку кишкових ворсинок слизової оболонки. Визначені особливості відкривають перспективу для подальшого дослідження фізіолого-біохімічних аспектів мембранного травлення у продуктивних тварин у пренатальному онтогенезі.

Дослідження особливостей розвитку органів травлення у продуктивних тварин у пренатальному онтогенезі є біологічною передумовою для забезпечення відповідного рівня їх життєздатності при народженні [1,2]. Визначення фізіолого-біохімічних критеріїв функціонування організму в утробний період неможливе без урахування морфологічних аспектів їх росту та розвитку [3,4]. У зв'язку з цим, дослідження вікової характеристики структурних компонентів слизової оболонки тонкої кишки великої рогатої худоби у плодовому періоді онтогенезу дозволить визначити інтенсивність її морфо-функціональних перетворень та дозволить сформувати відповідну уяву про специфіку пренатального формування мембранного травлення, як основи для адаптації при переході від гемо- і амніотрофного живлення до постнатального травлення. Такі дані нададуть можливість розкриття патогенезу шлунково-кишкових розладів у новонароджених тварин за умов інтенсивної дії антропогенних чинників. Тому, метою досліджень було встановити закономірності кількісної характеристики структурних компонентів слизової оболонки порожньої кишки плодів великої рогатої худоби у пренатальному онтогенезі.

Матеріали і методи. Дослідження проводились на базі проблемної лабораторії фізіології та функціональної морфології продуктивних тварин Дніпропетровського державного аграрного університету. Об'єктом досліджень були 48 плодів, віком від 2 до 9 місяців, з середньою масою 0,6 - 39 кг, отриманих від клінічно здорових корів, після забою в умовах м'ясопереробного підприємства "Ювілейний" Дніпропетровської області.

Після негайної декапітації плодів (під нембуталовим наркозом), розтинали черевну порожнину, виділяли порожню кишку, відділивши брижу визначали довжину та середину кишки, видаляли вміст, після чого відбирали частину (30 % від загальної довжини з середньої ділянки органа), яку використовували для морфологічних досліджень.

Для отримання оглядових препаратів фрагменти тонкої кишки заливали у парафін. Попередньо сегменти кишки промивали під проточною водою протягом 6–12 год, зневоднення проводили в етиловому спирті зростаючої концентрації. Для підвищення стійкості блоків при заливанні органів у парафін, використовували розчини органічного скла. Із парафінових блоків на санному та ротаційному мікроматах готували тотальні гістозрізи для оглядових препаратів товщиною 7–10 мкм. Парафінові гістозрізи забарвлювали гематоксиліном Ерліха та еозином за загальноприйнятою методикою [5]

Розрахунки проводились за допомогою IBM-сумісного комп'ютера за програмами "Statistica 7.0" та "Excel 2000". Обробку отриманих даних проводили методами математичної статистики для малих вибірок [6].

Результати роботи. У ранньому пренатальному онтогенезі у плодів великої рогатої худоби стінка порожньої кишки представлена трьома оболонками: слизовою, м'язовою та серозною. Загальна товщина кишкової стінки дорівнює $331,7 \pm 6,88$ мкм (рисунок 1.). При цьому, товщина слизової оболонки з кишковим епітелієм становить $247,4 \pm 6,03$ мкм.

У цей період морфогенез слизової оболонки пов'язаний з диференціюванням ентодермальної та мезенхімальної закладок. У 2-місячних плодів генез слизової оболонки відбувається неодноразово, супроводжується змінами її рельєфу та розмірів кишкових ворсинок. Окрім складок у слизової оболонці виявляються поодинокі невисокі конічні виступи, які формують первинні (тимчасові) та істинні ворсинки шляхом відбрунькування і розвитку епітеліально-сполучнотканинних виростів, які збільшуються одночасно з ростом просвіту кишки [7,8].

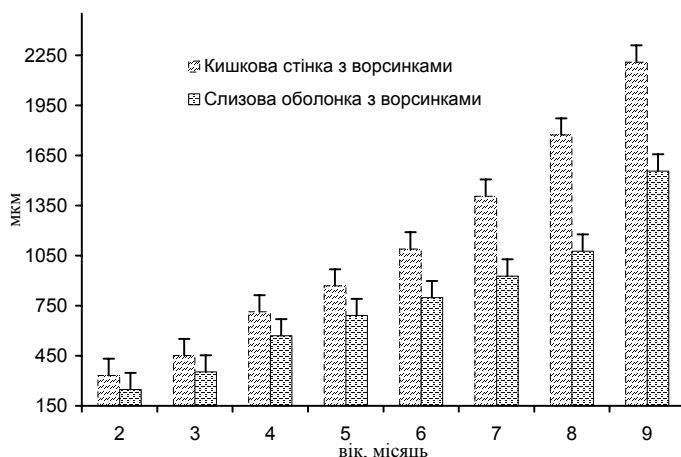


Рис. 1. Динаміка товщини слизової оболонки та стінки порожньої кишки у плодів великої рогатої худоби, ($M \pm m$, $n=6$)

У цей період кишкові ворсинки як за висотою, так і за шириною, майже однакові (таблиця). На верхівці ворсинок епітелій стає однорядним призматичним, а в області основи та бокової поверхні залишається багаторядним.

Таблиця - Динаміка розвитку виростів слизової оболонки порожньої кишки плодів великої рогатої худоби, $M \pm m$, $n=6$

Вік плодів	Кишкова ворсинка	
	Висота, мкм	Ширина, мкм
2 місяці	177,6±41,10	156,3±33,01
3 місяці	350,3±10,57*	90,1±1,82*
4 місяці	427,0±8,65*	89,9±1,95
5 місяців	483,4±13,07*	92,2±1,03
6 місяців	479,4±18,07	97,3±2,95
7 місяців	481,8±12,50	87,5±2,41*
8 місяців	491,1±16,31	88,7±1,97
9 місяців	562,6±19,3*	83,6±1,51*

* $P \leq 0,001$ по відношенню до плодів 2-х місячного віку

З віком, у плодів 3-х місячного віку, невеликі епітеліально-сполучнотканинні вирости повністю трансформуються в істинні ворсинки (першої генерації). Це позначається збільшенням діаметра порожньої кишки, що відбувається за рахунок розправлення слизової оболонки та зникання тимчасових ворсинок. У цей період товщина кишкової стінки з ворсинками збільшується у 1,36 рази, а слизової оболонки разом з істинними ворсинками майже у 1,43 рази у порівнянні з плодами 2-х місячного віку. Кишкові ворсинки мають вид пальцеподібних випинань, зустрічаються і більш складні форми – галузисті або які зрослися по між собою верхівками. Їх висота збільшується в 1,41 рази, а ширина, навпаки, зменшується в 1,73 рази. В основи ворсинок формуються вислані епітелієм поглиблення, які вдаються у підлягаючу мезенхіму, утворюючи тяжи.

По мірі розвитку у 4-х місячних плодів формується власна пластинка слизової оболонки, товщина якої без кишкових ворсинок дорівнює $54,4 \pm 1,21$ мкм (рисунок 2). Цей факт позначається на ширині слизової оболонки та на стінці порожньої кишки, яка збільшується майже у 1,6 рази (у порівнянні з 3-х місячними плодами).

Висота ворсинок стає більшою у 1,71 рази, а ширина залишається майже незмінною (у порівнянні з 3-х місячними плодами), при цьому кишкові крипти стають

глибшими та перетворюються у трубчасту форму. Епітелій основи ворсинок багаторядний, устя крипт – дворядний, а в області дна – однорядний призматичний.

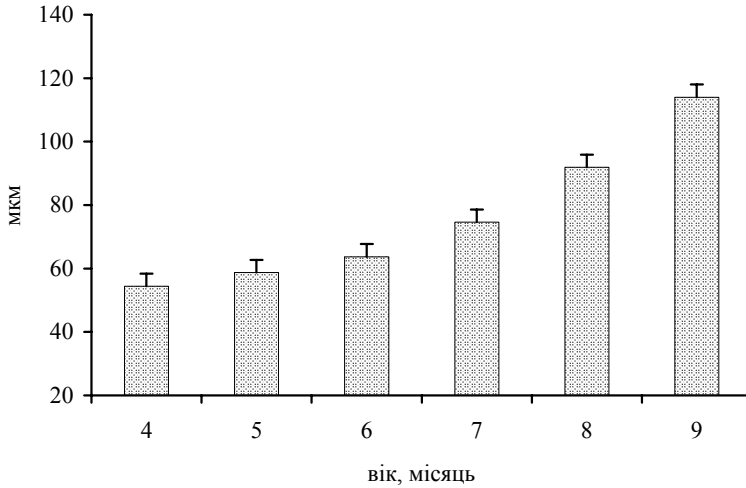


Рис. 2. Динаміка товщини власної пластинки слизової оболонки без ворсинок порожньої кишки у плодів великої рогатої худоби, ($M \pm m$, $n=6$)

Таким чином, у плодів великої рогатої худоби протягом раннього пренатального розвитку відбуваються зміни товщини стінки порожньої кишки та слизової оболонки, які позначаються збільшенням їх в 2,1 та 2,3 рази відповідно. Наприкінці даного періоду формується власна пластинка слизової оболонки. Розвиток ворсинок характеризується зворотньюзалежною динамікою росту їх основних лінійних показників, що виявляється у збільшенні їх висоти (в 2,4 рази) на тлі зменшення ширини (в 1,7 рази).

На стадії пізнього пренатального розвитку у плодів відбуваються процеси росту і розвитку стінки порожньої кишки та її слизової оболонки, які характеризуються поступовим, помірним збільшенням її основних морфометричних показників. Так, у плодів 5-ти місячного віку товщина кишкової стінки з ворсинками та її слизової оболонки стає більшою в 1,22 рази (у порівнянні з 4-х місячними плодами). При цьому, за цей період, збільшується і ширина власної пластинки слизової оболонки без ворсинок на 8%, а також висота ворсинок на 13% при тенденції до незначного росту їх ширини. Під кишковими криптами, що формуються у плодів на 5-му місяці плодового періоду закладається м'язова пластинка слизової оболонки.

Вона складається з двох-трьох безперервних шарів міобластів. Міоцити ворсинок плодів великої рогатої худоби закладаються та розвиваються одночасно з міоцитами м'язової пластинки [9].

У 6-ти та 7-ми місячних плодів слизова оболонка і кишкова стінка поступово стають товщими відповідно на 22% і 15% (у порівнянні з 5-ти місячними плодами) та на 29% і 16% (у порівнянні з 6-ти місячними плодами). Товщина слизової оболонки достовірно збільшується за рахунок розвитку власної пластинки на 9% (6-й місяць) та 17% (7-й місяць). Висота та ширина ворсинок слизової оболонки порожньої кишки у цей період фактично не змінюється (з незначною тенденцією до зниження).

В останні місяці утробного розвитку плодів (8-й і 9-й місяці) відмічається збільшення ширини кишкової стінки у середньому на 25,5% за кожен місяць. Відмічається збільшення товщини слизової оболонки з ворсинками у 8-ми місячних – на 16% (у порівнянні з 7-ми місячними плодами) та особливо у 9-ти місячних – на 45% (у порівнянні з 8-ми місячними плодами) за рахунок її власної пластинки на 23% і 24% відповідно. Висота ворсинок має тенденцію до збільшення у 8-місячних плодів, і достовірно зростання (на 15%) у 9-ти місячних (у порівнянні з 8-ми місячними плодами) та зменшення ширини на 6% за відповідний період. Такі зміни висоти та ширини ворсинок позначаються на їх подовженні.

Аналізуючи динаміку змін товщини кишкової стінки, її слизової оболонки та власної пластинки слизової у пізньому плодовому періоді слід зазначити, що при збільшенні їх товщини відмічається лінійна залежність росту. Так, підвищення товщини кишкової стінки проходить на 6-му місяці в 1,26; на 7-му – в 1,62; на 8-му – в 2,04; на 9-му – в 2,55 рази; слизової оболонки на 6-му місяці в – 1,15; на 7-му – в 1,34; на 8-му – в 1,56; на 9-му – в 2,25 рази; власної пластинки слизової на 6-му місяці – в 1,08; на 7-му – в 1,27; на 8-му – в 1,56; на 9-му – в 1,94 рази (у порівнянні з 5-ти місячними плодами). Розвиток ворсинок проходить асинхронно, що позначається коливаннями висоти та ширини протягом усього періоду, з остаточним збільшенням висоти у 9-ти місячних плодів у 1,16 рази та зменшенням ширини у 1,10 рази (у порівнянні з 5-ти місячними плодами).

Висновки. Кількісна характеристика структурних компонентів слизової оболонки порожньої кишки плодів великої рогатої худоби пов'язана з диференціюванням ентодермальної та мезенхімальної закладок. Процеси гістогенезу слизової оболонки відбуваються неодноразово, супроводжуються змінами рельєфу та розмірів, а також змінами організації функціонально різних клітинних популяцій. Зміни гладкого рельєфу слизової оболонки тонкої кишки починаються на початку раннього пренатального періоду та характеризуються початком виступу невисоких подовжніх складок. Плодовий період онтогенезу характеризується асинхронністю розвитку виростів слизової оболонки порожньої кишки. За висотою, відбувається збільшення кишкових ворсинок у 3,2 рази з піками у 5-ти та 9-ти місячних плодів. За шириною ворсинок за весь пренатальний період зменшуються майже у 2 рази на тлі максимального зменшення на 3-му місяці.

Перспективи подальших досліджень. Визначені особливості морфогенезу слизової оболонки порожньої кишки великої рогатої худоби у плодовий період відкривають перспективу для подальшого дослідження фізіолого-біохімічних аспектів мембранного травлення у продуктивних тварин у пренатальному онтогенезі, як основи для розкриття патогенезу шлунково-кишкових розладів у новонароджених тварин внаслідок розвитку неадекватної реакції організму на біологічно активні компоненти молока.

Список літератури

1. Pacha, J. Development of Intestinal Transport Function in Mammals // *Physiol. Rev.* – 2000. – Vol.80 (4). – P. 1633–1667.
2. Trahair, J., Perry, R., Silver, M., Robinson, P. Studies on the maturation of the small intestine of the fetal sheep // *J. Exp. Physiol.* – 1987. – Vol.72. – P. 61–69.
3. Pauletti, P., Bagaldo, A., Kindlein, L., Mashado-Neto, R. Insulin-like growth factor-I, passive immunity transfer, and stereological characteristics of small intestine of newborn calves // *Animal Science Journal.* – 2007. – Vol.78 (6). – P. 631–638.
4. Huber, K., Roesler, U., Muscher, A. et al. Ontogenesis of epithelial phosphate transport systems in goats // *Am J Physiol. Regulatory Integrative Comp Physiol.* – 2003. – Vol.284 (2). – P. 811–818.
5. Горальський, Л.П., Хомич, В.Т., Кононський, О.І. Основи гістологічної техніки і морфологічних методів дослідження у нормі та при патології: Навч. посіб. – Житомир: Полісся, 2005. – 277 с.
6. Кокунин, В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов // *Український біохімічний журнал.* – 1975. – Т. 47, № 6. – С. 776–790.
7. Тельцов, Л.П., Здоровинин, В.А. Романова, Т.А., Чумакова, Е.Д. Развитие пищеварительных органов животных, человека и птиц // *Морфология: тезисы докл. VII конгресса международной ассоциации морфологов.* – Санкт-Пб., 2004. – С. 120.
8. Hagemann, R., Sigdestad, C., Leshner, S. A quantitative description of the intestinal epithelium of the mouse // *Am J of Anatomy.* – 2005. – Vol.129 (1). – P. 41–51.
9. Beyaz, F., Asti, R. Development of Ileal Peyer's Patches and Follicle Associated Epithelium in Bovine Foetuses // *Anatomia, Histologia, Embryologia: J of Veterinary Medicine Series C.* – 2004. – Vol.33 (3). – P. 172–179.

THE QUANTATIVE CHARACTERISTICS OF STRUCTURAL COMPONENTS OF BOVINE JEJUNUM MUCOSA DURING PRENATAL ONTOGENESIS

Masyuk D.N.

Dnepropetrovsk State Agricultural University

The aim of researches was the establishment of the mechanism of quantitative characteristics of structural components of bovine jejunum mucosa during prenatal ontogenesis. Researching objects are 2-9 month-old bovine fetuses. The features of morphogenesis of small intestinal mucosa were defined by histopreparates researching. It was established that processes of mucosa histogenesis are not simultaneous, passed with changes of relief and size and changes of organization functionally different cell population. The changes of smooth relief of intestinal mucosa begin

in start of early prenatal period and characterized by formation of not tall longitudinal folds. Fetal period of ontogenesis is characterized by asynchron development of intestinal mucosa villus. Obtained peculiarities are show the perspective for further researches of physiologic and biochemical aspects of membrane digestion of productive animals during prenatal ontogenesis.

УДК 619:615.37.012

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ИФА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ СМЕШАННЫХ ИНФЕКЦИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Матвеева И.Н., Киш Л.К., Кочиш И.И., Кочиш Т.Ю., Еремец Н.К., Боро И.Л.,
Джунь О.М.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН, г. Щелково, Московская обл., Россия

Проанализированы данные серологических исследований методом (ИФА) клинического материала от взрослых животных и молодняка крупного рогатого скота из хозяйств Тверской, Московской и Тамбовской областей России. Установлено наличие смешанных инфекций.

Актуальность. В настоящее время в животноводческих хозяйствах России препятствием на пути увеличения продуктивности является наличие смешанных инфекций у крупного рогатого скота (КРС). Так как в инфекционном процессе респираторной патологии могут участвовать большое число микроорганизмов различной природы, как правило, значительная роль принадлежит нескольким возбудителям - инфекционному ринотрахеиту (ИРТ), вирусной диарее-болезни слизистых оболочек (ВД-БС), парагриппу-3 (ПГ-3), респираторно-синцициальной (РС) и аденовирусной (АВ) инфекциям. Эти заболевания представляют значительную проблему в ветеринарии ещё и потому, что протекают со сходными клиническими симптомами. По этой причине особенно велика роль лабораторной диагностики указанных выше вирусных болезней крупного рогатого скота.

В связи с этим остаётся актуальной проблема серологического мониторинга и ликвидации ряда инфекций, которые при большой концентрации животных на ограниченных площадях, при постоянном перемещении из одной технологической группы в другую, формировании новых групп не всегда однородных по возрасту и иммунному статусу, часто проявляются у молодняка.

Важным этапом контроля и искоренения заболеваний является лабораторная диагностика инфекций, которая в большинстве случаев основывается на выявлении специфических антител в сыворотках крови инфицированных и переболевших животных. В настоящее время разработаны средства и методы диагностики, позволяющие в короткие сроки выявлять большинство инфекционных заболеваний.

Цель работы. Диагностика смешанных инфекций на основе использования высоко чувствительных множественно-антигенных тест-систем иммуноферментного анализа (ИФА).

Материалы и методы. В основу комплексной тест-системы ИФА для одновременного обнаружения специфических антител в сыворотках крови к антигенам различных респираторных вирусов заложены тест-панели для выявления антител к антигенам вирусов ИРТ, ПГ-3, РС, Адено-АВ и ВД-БС КРС

Вирусологические исследования проводили согласно стандарту МЭБ (OIE Manual, Manual of Standards// Chapter 2.3.5.,2000; Chapter 2.10.6., 2004).

Выявление антител одновременно к 5 вирусным антигенам проводили стандартным вариантом непрямого твердофазного ИФА на 96 луночных микропланшетах по Engvall и др.(1976).