

етапах епідеміологічного процесу [Текст] // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. №82. – Х., 2006. – С. 307-312. 7. Мейхи Б. Вирусология. Методи [Текст] / Б. Мейхи. – М.: Мир, 1988. – С. 301.

PURIFICATION AND REDUCTION OF VIRUS INFLUENZA STRAINS A/CHICKEN/SIVASH/02/05, A/CHICKEN/UKRAINE/63 AND A/MARTIN/ASTRACHAN/227/84
Stegniy V. T., Muzyka D. V., Mayorova K. F., Usova L. P., Voskoboynik M. A.
National Scientific Centre «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

The purpose of our investigations was to determine optimal conditions of purification and reduction of virus influenza strains a/chicken/Sivash/02/05, a/chicken/Ukraine/63 and a/martin/Astrachan/227/84.

УДК 591.85:619:616.99

ВПЛИВ ТОКСОКАРОЗНОЇ ІНВАЗІЇ НА ЧАСТОТУ ВИЯВЛЕННЯ МІКРОЯДЕР В ЕРИТРОЦИТАХ БІЛИХ НЕЛІНІЙНИХ ЩУРІВ У МІКРОЯДЕРНОМУ ТЕСТІ

Стибель В.В, Прийма О.Б.

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Проведені нами дослідження показали, що інвазія Toxocara canis та їх метаболіти викликають цитогенетичні порушення в еритроцитах білих нелінійних щурів.

Актуальною проблемою сьогодення, що має медико–санітарне значення є захворювання токсакароз спричинене збудником *Toxocara canis*. Проблема токсакарозу є важливою як для гуманної, так і ветеринарної медицини. Складність у вирішенні питань профілактики зараження людей і тварин даним гельмінтозом пов'язана з відсутністю надійних методів діагностики цієї інвазії у м'ясоїдних, а також людей, викликаного міграцією личинок нематод.

Нині існуючі методи гельмінтооскопії дозволяють діагностувати лише кишкову форму токсакарозу.

Діагностика найбільш тяжкої та складної міграційної стадії, як показують узагальнені матеріали джерел літератури, потребує розробки новітніх методів діагностики, зокрема із застосуванням цитогенетичних досліджень.

Цитогенетичні методи є найчутливішими до встановлення мутагенного впливу чинників навколишнього середовища та дозволяють реєструвати зміни на хромосомному і геномному рівнях організації спадкової інформації [1]. Одним із цитогенетичних методів експрес-оцінки генетичної небезпеки ксенобіотиків *in vivo* у ссавців є мікроядерний тест [4]. Останнім часом цей метод отримав широке застосування у гуманній та ветеринарній медицині для визначення мутагенної дії чинників навколишнього середо-

вища [5, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15] і рекомендований міжнародним Агентством щодо захисту навколишнього середовища як високочутливий спосіб виявлення мутагенів і канцерогенів [9].

Мікроядра – ядерні структури, які вперше були виявлено в еритроцитах. Ці елементи є ядерного (хроматинового) походження і є за звичай невеликими утвореннями округлої форми, що забарвлюються в тон хроматину. Їх класифікують на дрібні, середні та великі. Дрібні мікроядра складаються з ацентрических фрагментів хромосом, що було продемонстровано за допомогою вимірювання вмісту ДНК [13]. Середні та великі мікроядра можуть бути утворені з цілої хромосоми в результаті нерозходження хромосом, що викликане дефектами веретена розподілу під дією речовин, що впливають на нього [18].

Мікроядерний тест у соматичних клітинах був запропонований у 1975-1976 рр. J. Heddle і W. Schmid [12, 16, 17], які рекомендували використовувати його в клітинах кісткового мозку і периферичної крові як скринінг-тест для вивчення кластогенних і анеугенних чинників середовища. Застосування мікроядерного тесту дозволяє диференціювати кластогенні (утворення дрібних мікроядер із фрагментів хромосом) і анеугенні (утворення середніх і великих мікроядер з поодиноких хромосом або груп хромосом) дії чинників навколишнього середовища [1].

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведені на 24 білих нелінійних щурах- самцях живою масою 120-140 г. Яйця від статевозрілих токсикар отримували із калу та культивували до інвазійної стадії за методикою, описаною Г.А. Котельніковим [3]. Тварин розділили на 4 групи по 6 особин у кожній. Щурів першої групи заражали в дозі- 5 інвазійних яєць, другої - 20 яєць, третьої в дозі - 40 інвазійних яєць *T. canis* на 1 г маси тіла тварини. Щурів четвертої групи слугували інтактним контролем. Суміш яєць в 2% крохмальному гелі із потрібною концентрацією в об'ємі 0,2 мл вводили тваринам за допомогою металевго зонда. Контрольний групі щурів вводили 2% крохмальний гель в об'ємі 0,2 мл. Визначення змін в еритроцитах проводили на 3-у, 7-у, 14-у, 21-у, 30-у, 60-у, 90-у, 120-у доби від зараження за допомогою постановки мікроядерного тесту за методикою W. Schmid та ін. [16]. Мікропрепарати зафарбовували фарбником Гімза виробництва фірми Sigma. Встановлювали кількість утворених мікроядер в 1000 підрахованих еритроцитах кожного препарату.

Вивчення хромосом проводили за допомогою мікроскопа «Jenamed- 2» (Carl Zeiss Jena) за збільшення $\times 1000$.

Результати досліджень. Аналіз препаратів за проведених досліджень показав, що в еритроцитах периферичної крові білих щурів мікроядра виявлялися з різною частотою у неоднакові доби дослідду.

За вивчення крові контрольної групи білих щурів, за розвитку токсокарозу, встановлено, що впродовж 120 діб досліджень, частота утворення еритроцитів із мікроядрами коливалась від $0,4 \pm 0,24$ до $0,7 \pm 0,33$ у 1000 еритроцитах ($\%_0$) (табл.)

При зараженні білих щурів у кількості 5 інвазійних яєць токсокар на 1 г маси тіла тварини на 3-тю добу дослідду встановлено, що частота еритроцитів із мікроядрами ($1,4 \pm 0,42$ на 1000 клітин) була у 2,8 разів більша,

ніж у контрольній групі. На 7-му добу експерименту кількість мікроядер в еритроцитах була ($0,8 \pm 0,49$ на 1000 еритроцитів) всього у двічі більша за контроль. На 14-тю добу інвазії кількість мікроядер в еритроцитах ($1,0 \pm 0,36$ на 1000 еритроцитів) також збільшилась у двічі, в порівнянні з показником контрольної групи. На 21-шу добу інвазії кількість еритроцитів із мікроядрами становила $1,4 \pm 0,32$ на 1000 еритроцитів і знову перевищила контрольний показник у 2 рази. На 30-ту добу інвазії частота еритроцитів із мікроядрами ($1,8 \pm 0,28$ на 1000 еритроцитів) була у 3,6 разів більша ($p < 0,05$), ніж у контролі. На 60-ту добу експерименту кількість мікроядер в еритроцитах зросла ($2,6 \pm 0,34$ на 1000 еритроцитів), що у 4,3 рази ($p < 0,01$) перевищило контрольний показник тварин. На 90-ту добу досліду частота еритроцитів із мікроядрами ($1,8 \pm 0,42$ на 1000 клітин) була у 3,6 разів більша, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$), а на 120-ту добу експерименту кількість мікроядер в еритроцитах знизилась і була ($0,8 \pm 0,49$ на 1000 еритроцитів) всього у 1,8 рази більша за контроль.

Таблиця — Частота утворення еритроцитів з мікроядрами (на 1000 еритроцитів, %) у периферичній крові білих нелінійних щурів, інвазованих у дозах 5, 20, і 40 інвазійних яєць токсокар на 1 г маси тіла ($M \pm m$, $n = 6$)

<i>Доби досліду</i>	<i>Контроль</i>	<i>Доза – 5 яєць/г</i>	<i>Доза – 20 яєць/г</i>	<i>Доза – 40 яєць/г</i>
3	$0,5 \pm 0,32$	$1,4 \pm 0,42$	$2,4 \pm 0,56^*$	$2,9 \pm 0,53^*$
7	$0,4 \pm 0,24$	$0,8 \pm 0,49$	$1,5 \pm 0,61$	$2,1 \pm 0,38^*$
14	$0,5 \pm 0,38$	$1,0 \pm 0,36$	$1,3 \pm 0,44$	$2,2 \pm 0,34^{**}$
21	$0,7 \pm 0,33$	$1,4 \pm 0,32$	$1,7 \pm 1,62$	$2,8 \pm 0,45^{**}$
30	$0,5 \pm 0,36$	$1,8 \pm 0,28^*$	$2,8 \pm 0,84^*$	$4,4 \pm 0,94^{**}$
60	$0,6 \pm 0,28$	$2,6 \pm 0,34^{**}$	$5,1 \pm 0,92^{***}$	$6,8 \pm 1,12^{***}$
90	$0,5 \pm 0,32$	$1,8 \pm 0,42^*$	$1,6 \pm 0,78^{**}$	$4,2 \pm 0,92^*$
120	$0,6 \pm 0,34$	$1,1 \pm 0,46$	$2,2 \pm 0,74$	$3,1 \pm 1,14$

Ступінь вірогідності: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$

При збільшенні кількості до 20 інвазійних яєць на 1 г маси тіла тварини до 3-ої доби частота еритроцитів із мікроядрами перевищувала контрольний показник у 4,8 разів. До 7-ої доби у інвазованих тварин кількість еритроцитів із мікроядрами була у 3,8 разів вища, ніж у контролі. На 14-ту добу інвазії кількість еритроцитів із мікроядрами була у 2,6 разів вища за відношенням до контрольної групи тварин. До 21-ої доби у інвазованих тварин було у 2,4 разів більше еритроцитів із мікроядрами, ніж у контролі. На 30-ту добу інвазії частота еритроцитів із мікроядрами була у 5,6 разів більша ($p < 0,05$) за контроль. На 60-ту добу експерименту кількість мікроядер в еритроцитах зросла, що у 8,5 рази ($p < 0,001$) перевищило контрольний показник тварин і становило $5,1 \pm 0,92$ на

1000 клітин. На 90-ту добу дослідів частота еритроцитів із мікроядрами була у 3,2 разів більша ($p < 0,01$), ніж у контрольній групі. На 120-ту добу експерименту кількість еритроцитів із мікроядрами була у 3,7 разів вища за відношенням до контролю.

При підвищенні інвазійної дози до 40 яєць на 1 г маси тіла до 3-ої доби інвазії частота мікроядерних еритроцитів перевищувала контрольний показник у 5,8 рази ($P < 0,05$). До 7-ої доби у інвазованих шурів кількість еритроцитів із мікроядрами була у 5,3 разів вища, ніж у контролі ($P < 0,05$). До 14-ої доби інвазії кількість еритроцитів із мікроядрами була у 4,4 рази вища за відношенням до контролю ($P < 0,01$). На 21-шу добу в інвазованих тварин було у 4 рази ($P < 0,01$) більше еритроцитів із мікроядрами, ніж у контролі. На 30-ту добу інвазії частота еритроцитів із мікроядрами була у 8,8 рази більша ($p < 0,01$) за контроль. На 60-ту добу експерименту кількість мікроядер в еритроцитах збільшилось, що у 11,3 рази ($p < 0,001$) перевищило контрольний показник. Рівень мікроядерних еритроцитів склав, у середньому, $6,8 \pm 1,12\%$. На 90-ту добу дослідів частота еритроцитів із мікроядрами була у 8,4 рази більша ($p < 0,05$), ніж у контрольній групі. На 120-ту добу експерименту кількість мікроядер в еритроцитах була у 5,2 рази більша за показник контрольної групи шурів.

Отже, спостерігалось значне підвищення кількості мікроядер в еритроцитах крові білих нелінійних шурів при збільшенні дози зараження на 30, 60 і 90-ту добу дослідів.

Висновки. 1. Встановлено, що інвазія *Toxocara canis* та її метаболіти проявляють мутагенну дію на хромосомний апарат соматичних клітин нелінійних білих шурів, що призводить до вірогідного збільшення кількості еритроцитів із мікроядрами.

2. Найбільш суттєве збільшення кількості еритроцитів із мікроядрами пов'язано із виділенням екскреторно-секреторних метаболітів безпосередньо у тканини, а також як наслідок високої біологічної активності паразитів.

3. Зниження кількості мікроядер еритроцитів, ймовірно, є наслідком зменшення виділення екскреторно-секреторних метаболітів гельмінтами, спричинене зниженням їх біологічної активності та елімінацією їх із кишечника.

Список літератури

1. Бочков, Н.П., Чеботарев, А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. / АМН СССР. — М: Медицина, 1989. — 272 с. 2. Ильинских, Н.Н., Новицкий, В.В., Ванчугова, Н.Н., Ильинских, И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность / Томск: Изд-во Том. Ун-та, 1992. — 272 с. 3. Котельников, Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. — М.: Колос, 1984. — С.60-61. 4. Кужир, Т.Д. Антимутагены и химический мутагенез в системах высших эукариот / Под. ред. Р.И. Гончаровой. — Мн.: Тэхналогія, 1999.-267с. 5. Стибель, В.В. Частота виявлення мікроядер в еритроцитах периферичної крові білих нелінійних шурів за експериментального езофагостомозу // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин УААН і Державного науково-дослідного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. — Львів, 2005. — Вип. 6, № 1. — С. 168-172. 6. Стибель, В.В. Показники мікроядерного тесту за експериментального аскарозу, трихурузу та езофагостомозу білих нелінійних шурів // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького. — Львів, 2005. Т. 7(№2), ч. 1. — С. 143-150. 7. Стибель, В.В. Вплив трихурузої інвазії на частоту виявлення мікроядер в еритроцитах білих нелінійних шурів у мікроядерному тесті // Ветеринарна медицина. — Харків, 2005.— Вип. 85. Т. 2.— С. 1050-1054. 8. Стибель, В.В. Зміни

в еритроцитах периферичної крові білих нелінійних шурів у разі застосування мікроядерного тесту за аскарозу // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – Дніпропетровськ, 2005. – №1. – С. 92-95. **9.** Cimino M.C. New micronucleus guideline for the U.S. environmental protection agency. U.S. EA, office of Toxic Substances, Health and Environmental Review Division, Washington DC // Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen. – 1991. –Vol. 17, Suppl. 19. – P. 83. **10.** Fenech M., Hoolland N., Chang W.P., Zeiger E., Bonassi. The Human MicroNucleus Project- An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans // Mutat. Res. Fund. And Mol. Mech. of Mutagen. – 1999. – Vol. 428. – P.271-283. **11.** Hamada, S., Sutou, S., Morita, T., Wakata, A., Asanami S. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay by a 28-day treatment protocol: summary of the 13th collaborative study by the collaborative study group for the micronucleus test (CSGMT) / Environmental Mutagen Society of Japan (JEMS) - Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS) // Envir. and Mol. Mutagen. - 2001.-Vol. 37.-P. 93-110. **12.** Heddle, J. A rapid in vivo test for chromosomal damage // Mutat. Res. - 1973. -Vol. 18, Na 2. – P. 187-190. **13.** Heddle, J.A., Carrano A.V. The DNA content of micronuclei induced in mouse bone marrow by y-irradiation: evidence that micronuclei arise from acentric chromosomal fragments // Mutat. Res. – 1977. – Vol. 44. – P. 63-69. **14.** Kirsch-Volders M., Sofiini T., Aardema M., Alberttai S., Eastmond D. Report from the in vitro micronucleus Assay Working Group // Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen. – 2000. – Vol. 35 – .P.167-172. **15.** Ribeiro L.R., Takahashi C. S., Erdman B., Olivera S.V., Docosta C.T.A., Glunncler-Lus M.C. Interlaboratory calibration program for the mouse micronucleus test // II Rev. Bras. genet. – 1993, – Vol. 16, JVa 3.-P. 631-638. **16.** Schmid, W. The micronucleus test // Mutat. Res. – 1975. – Vol. 31, Jfe 1. – P. 9-16. **17.** Schmid, W. The micronucleus test for cytogenetic analysis // Chemical Mutagens; Principle and Methodes for their detection. Edited by: A. Hollaende (Plenum, New York). – 1976. – IV, ch. 36. – P. 31-53. **18.** Yamamoto, K., Kikuchi Y. A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons // Mutat. Res. – 1980. – Vol. 71. – P. 127-131.

THE INFLUENCE OF TOXOCAROSIS INVASION ON FREQUENCY OF MICRONUCLEUS IN ERYTHROCYTES OF WHITE NON-LINED RATS IN MICRONUCLEUS TEST

Stybel V.V., Priyma O.B.

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies
named after S.Z. Gzhysky

It was determined that invasion of Toxocara canis and its metabolites develop cytogenetic disorders in erythrocytes of white nonlinear rats.

УДК: 619:579:638.154:616-078

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЗБУДНИКА АМЕРИКАНСЬКОГО ГНІЛЬЦЮ – КУЛЬТУРИ *PAENIBACILLUS LARVAE SUB. LARVAE*

Ступак Л.П.¹

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

*У статті наведено результати порівняльної оцінки поживних середовищ МУРРР, Томашеца, Уїлліса-Гоббза для діагностики і культивування бактерії *Paenibacillus larvae sub. larvae*.*

¹ Науковий керівник – Куцан О.Т., доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН У