

ки после операции, лишь у семи животных. Уровень гемоглобина, составлявший 150 - 165 г/л сразу после операции, у шести лисиц снизился до нормы к моменту третьего исследования, причем это снижение не было постепенным, литическим (результат второго анализа колебался от 80 до 165 г/л у всех контрольных животных). У двух животных уровень гемоглобина упал до нижней границы нормы. Еще у двух животных последний анализ крови выявил падение уровня гемоглобина до 65 г/л при слабовыраженных анизохромии и анизоцитозе эритроцитов (единичные гипохромные микро- и мегалоциты) на фоне общей эритроцитопении до 4,4 млн/мкл.

Лейкограмма на фоне высокого лейкоцитоза (от 30 до 35 тыс/л) также говорит о тяжелом течении послеоперационного периода у большинства контрольных животных. Лейкоцитарный профиль отличался

**РЕЗЮМЕ**

**Способ парааортальной блокады чревных и межбрыжеечных нервов у пушных зверей клеточного содержания.**

**В статье приводится оригинальная методика патогенетической блокады источников автономной иннервации органов брюшной полости и рассматривается ее влияние на течение и исход послеоперационных состояний у лисиц.**

**SUMMARY**

**The way of paraaortal blockage of abdominal and intermesenterical nerves in fur animals of cage rearing. The authors offer the original techniqe of pathogenetic blokage of autonomos innervation sources of organs located in the abdominal cavity. Besides the blokage influence on the postoperacional course and outcome in foxes is studied.**

**Литература**

1. Магда И.И. Местное обезболивание/ И.И. Магда. Руководство для ветеринарных врачей. М. Сельхозгиз. 1955. – С.375-380.
2. Мосин В.В. Новое в лечении незаразных болезней сельскохозяйственных животных/ В.В. Мосин. М. Россельхозиздат. 1975. – С.30-32.
3. Паршин А.А. Хирургические операции у собак и кошек/ А.А. Паршин, В.А. Соболев, В.А. Созинов М. «Аквариум». 2000. – С.208-212.
4. Шакалов К.И. Патогенетическая терапия заболеваний животных/К.И. Шакалов. М.-Л., Сельхозиздат, 1961. – С.38-100.

**А.И. Полоз**

*(Республиканское научно-исследовательское дочернее унитарное предприятие «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского», г. Минск, Республика Беларусь)*

**НЕПРЯМОЙ МЕТОД  
ИММУНОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ  
В ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА**

Сложность ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота в значительной степени связана с длительным сохранением возбудителя во внешней среде и его способностью персистировать в организме многих видов животных и человека.

Основной упор при проведении про-

нейтрофилией с резким регенеративным (а у двух животных – дегенеративным) ядерным сдвигом влево: до 80% сегментоядерных и до 18% палочкоядерных нейтрофилов, среди которых встречались единичные дегенеративные формы (у двух животных – до 9%). У двух лисиц отмечался лимфоцитоз – до 65%, на фоне агранулоцитоза, что в купе с резким дегенеративным нейтрофильным сдвигом влево свидетельствуют о тяжелом воспалении (скорее всего вторичном – спаечном), а также снижении фагоцитарной активности вследствие истощения кроветворения.

Полученные результаты убедительно доказывают наличие эффективного положительного влияния периоперационной парааортальной блокады на течение и исход послеоперационного периода у серебристо-черных лисиц, подвергшихся кесареву сечению по клиническим показаниям.

тивотуберкулезных мероприятий делается на раннюю диагностику болезни и своевременное удаление из стада зараженных животных. Однако такие способы бактериологической и серологической диагностики туберкулеза человека и животных, как посев биоматериала на твердые или

жидкие питательные среды, идентификация выросших культур по морфологическим, культуральным, биохимическим, антигенным, патогенным свойствам или по наличию специфических участков ДНК дороги, требуют значительных затрат времени (до 3 месяцев). Так же диагностика существенно затрудняется в случаях инфицирования животных атипичными микобактериями, широко распространенными во внешней среде. Отсутствие изменений при диагностическом убое животных отмечается и в случаях латентной туберкулезной инфекции.

Одним из методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота является иммунолюминесцентная микроскопия. Метод обнаружения антигенов с помощью люминесцирующих антител предложили Coons, Creech and all в 1941 г. Однако исследования многих авторов показали, что при использовании этого метода трудно добиться уверенной дифференциации возбудителя туберкулеза и атипичных микобактерий в связи с наличием сходных антигенных детерминант.

Мы предлагаем использовать непрямой метод иммунолюминесцентной микроскопии [5], при котором материал (выделенные культуры, патологический материал, материал из объектов внешней среды и др.), исследуют с использованием аффинно-очищенных иммуноглобулинов к видоспецифическим антигенам возбудителя туберкулеза и соответствующей антисывороткой, конъюгированной с ФИТЦ. Этот метод позволяет идентифицировать возбудителя туберкулеза, как в чистой культуре, так и в смешанной, обнаруживать как корпускулярные, так и фиксированные антигены. Кроме того, имеется возможность обнаруживать антигены, как живых, так и мертвых бактериальных клеток. По чувствительности этот метод уступает лишь методу радиоактивных изотопов, но превосходит его по скорости выполнения. Он позволяет наблюдать реакцию специфического связывания антигенов микроорганизмов с иммуноглобулинами на одной микробной клетке. Чувствительность его составляет  $1 \times 10^3 - 5 \times 10^5$  микробных клеток в 1 мл, в то время как обычные иммунологические реакции требуют содержания в 1 мл взвеси  $5 \times 10^4 - 2,5 \times 10^6$  микробных клеток [3].

Для получения очищенных иммуноглобулинов, мы выращивали культуру *Mycobacterium bovis* Vallee на среде Сотона с инактивацией фенолом. Взвесь бак-

териальной массы 15-20 мин обрабатывали ультразвуком, дезинтегратор смешивали с масляным адьювантом и в дозе 300-500 мкг/кг вводили овцам в несколько точек подкожно. Инъекции повторяли 7-11 раз с интервалом 12-14 суток и общепринятым способом получали кровь и сыворотку. В полученную сыворотку крови в соотношении 1:2 вносили смесь равных объемов ультразвуковых дезинтеграторов атипичных микобактерий (*M. scrofulaceum* 526, *M. avium* 1603, *M. intracellulare* 5868, *M. fortuitum* 342, *M. phlei* 1889), подготовленных, как антиген *M. bovis* Vallee и инкубировали в оптимальных условиях для связывания иммуноглобулинов к общеродовым антигенам и образования иммунопреципитата. Иммунопреципитат удаляли центрифугированием, полученную истощенную антисыворотку проверяли в иммуноферментном анализе с использованием антигенов *M. bovis* Vallee, *M. tuberculosis* H37Rv и смеси антигенов атипичных микобактерий. Результат считали положительным при превышении оптической плотности исследуемых антисывороток над контролем в 2 и более раза.

Антисыворотку к очищенным иммуноглобулинам готовили, используя их в качестве антигена при иммунизации кроликов. Иммунизацию животных и выделение антисыворотки проводили по общепринятым методикам. Полученные антигены к очищенным иммуноглобулинам конъюгировали с флуоресцеинизоцианатом (ФИТЦ) их диализом против растворов флюорохрома. Очистку конъюгата проводили при помощи гельфильтрации с использованием геля АсА 200. Образец концентрировали и исследовали на чувствительность и специфичность. Для этого в качестве положительного контроля использовали взвесь вакцинного штамма ВСГ, отрицательного - *M. avium* 1603, в которые вносили по 100 мкл полученного конъюгата и инкубировали при температуре 37°C в течение 1 часа. Затем смесь центрифугировали, супернатант удаляли, в пробирки вносили раствор альбумина бычьего, меченого родамином С и повторяли инкубацию и центрифугирование. Смесь несколько раз отмывали стерильным физиологическим раствором и исследовали на люминесцентном микроскопе (МЛ-2) в падающем свете с помощью иммерсионной системы (иммерсионный объектив ахромат 90x1,25 и окуляр 10) в сине-фиолетовых лучах видимого спектра.

Интенсивность специфической флюо-

ресценции оценивали по следующей системе обозначений: ++++ - очень яркая изумрудно-зеленая люминесценция периферии клетки, внутриклеточных включений; +++ - яркое периферическое и диффузное свечение; ++ - слабое свечение; + - люминесценция отсутствует. Результат реакции считали положительным при интенсивности свечения мазков из положительно-го контроля ++ и более и отсутствии свечения мазков отрицательного контроля. После получения положительного результата проводили дальнейшую очистку конъюгатов применяя колоночную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе. Полученные фракции концентрировали, растворяли в небольшом объеме дистиллированной воды, диализировали против забуференного физиологического раствора и определяли отношение ФИТЦ:белок (Ф:Б) и специфичность конъюгата. Для этого спектрофотометрически измеряли  $A_{280}$  и  $A_{555}$  и рассчитывали концентрацию Ф:Б, мг/мл (оптимальным при работе с суспензиями клеток является отношение 5-6:1). Затем конъюгат испытывали на чувствительность и специфичность окрашивания. Для этого

готовили различные разведения препарата и анализировали их с гомологичными и гетерологичными клетками-мишенями. Выбирали разведения, обеспечивающие максимальную специфичность и чувствительность с гомологичными антигенами при минимальном фоновом окрашивании гетерологичных антигенов.

Проведено 1217 исследований (проб с объектов внешней среды, посевов с различных питательных сред, патологического материала, штаммов). Исследования проводились параллельно с использованием иммуно-люминесцентной микроскопии, выращиванием материала на питательных средах и окрашиванием мазков по Цилю-Нильсену (в качестве контроля). Результаты иммунолюминесцентной микроскопии с использованием очищенных иммуноглобулинов совпадали с контрольными исследованиями в 95% случаев. Таким образом, использование очищенных иммуноглобулинов к видоспецифическим антигенам позволяет ускорить обнаружение возбудителя туберкулеза и его дифференциацию от атипичных микобактерий, повысить достоверность диагностирования.

УДК: 619:616.718.19.001.33

**С.В. Тимофеев, В.В. Краснов, К.П. Кирсанов**

*(ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина», г. Москва, ФГУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган)*

## **КЛАССИФИКАЦИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ТАЗА ЖИВОТНЫХ**

Повреждения таза относятся к наиболее тяжелым травмам опорно-двигательного аппарата и отмечаются у животных любых пород, пола и возраста. У мелких домашних животных они составляют от 20 до 33% всех повреждений костей скелета [1, 3, 6, 7].

В ветеринарной хирургии до настоящего времени отсутствует общепринятая классификация переломов таза у животных. Анализ существующих в настоящее время показывает, что среди них нет ни одной, которая бы достаточно полно отражала клинические, анатомические и биомеханические особенности переломов, определяла тяжесть повреждения, способствовала бы выбору адекват-

ного метода лечения, а также ориентировала в отношении прогноза и сроков лечения [1, 2, 4-6].

С учетом требований практической ветеринарии подобная классификация должна содержать и учитывать этиологию травматической болезни, поскольку от этого напрямую зависит выбор тактики и методики лечения. Прежде всего, это относится к повреждениям на фоне сопутствующих патологических состояний животного, например остеомиелита, опухоли, нарушения обмена веществ и др., требующих соответствующей медикаментозной коррекции.

В классификации должен присутствовать анализ вида повреждения. На наш