

Simulium simulans Rubtsov, 1956 – малочисленный (ИД 0,8) нераспространенный (ИБ 7,1) полициклический вид, который заселяет реки средней величины. Для мест обитания этого вида характерны небольшая скорость течения (0,4–0,5 м/с) и содержание растворенного в воде O_2 около 70%, pH среды 6,9–7,4. Места обнаружения: рр. Птичь, Улла (Витебская обл.).

Simulium truncatum (Lundström, 1911) – многочисленный (ИД 3,0) нераспространенный (ИБ 11,1) моноциклический вид, заселяющий малые реки и мелиоративные каналы. Водные фазы собраны с макрофитных растений на глубине 0,2–0,4 м, где скорость течения воды удерживалась в пределах 0,2–0,4 м/с, при содержании O_2 62–75%, pH воды 6,9–7,2. Окукливание водных фаз протекает при температуре воды 19–21°C. Места обнаружения: р. Уша (Минская обл.), Свядица, Старобинка, мелиоративные каналы (Витебская обл.).

Заключение. На современном этапе симулиидофауна водотоков подзоны дубово-темнохвойных лесов насчитывает 28 видов из 10 родов: *Byssodon* (1 вид), *Schoenbaueria* (2), *Cnetha* (1), *Nevermannia* (4), *Eusimulium* (1), *Wilhelmia* (3), *Boopthora* (2), *Odagmia* (3), *Argentisimulium* (2) и *Simulium* (9). Основной удельный вес фауны Simuliidae составляют мошки трех видов: *B. erythrocephala* (ИД 20,5%), *O. ornata* (ИД 15,0 %) и *W. equina* (ИД 13,8%). Эти виды не только самые многочисленные, но и широко распространенные в различных местообитаниях.

Литература. 1. Хлызова, Т. А. Патологическое воздействие слюны кровососущих двукрылых насекомых на организм человека и животных (обзор) / Т. А. Хлызова, О. А. Федорова, Е. И. Сивкова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2017. – № 7. – С. 90–96. 2. Rivosecchi, L. Contributo alla conoscenza dei simuliidi italiani. XXVII: Le specie che attaccano in massa l'uomo e gli animali domestici nell'Italia nord-orientale / L. Rivosecchi // Riv. Parassitol. – 1986. – № 1. – P. 5–15. 3. Подоляко, В. П. Симулиидотоксикоз в судебно-медицинской практике / В. П. Подоляко, С. Г. Пилюков, Е. В. Воскобойникова // Судебно-медицинская экспертиза. Экспертная практика. – 2014. – № 4. – С. 49–50. 4. A Bioassay Method for Black Flies (Diptera: Simuliidae) Using Larvicides / Carlos J.P.C. Araújo-Coutinho [et al.] // Neotropical Entomology. – 2005. – Vol. 34, № 3. – P. 511–513. 5. Каплич, В. М. Кровососущие мошки лесной зоны / В. М. Каплич, З. В. Усова. – Минск : Ураджай, 1990. – 176 с. 6. Рубцов, И. А. Мошки (сем. Simuliidae). Фауна СССР Насекомые двукрылые / И. А. Рубцов. – Москва ; Ленинград : Наука, 1956. – 860 с. 7. Каплич, В. М. Мошки (Diptera, Simuliidae) – магчымыя носьбіты узбуджальніка анплазмозу буйной рагатай жывёлы / В. М. Каплич // Весці Акадэміі навук БССР. Серыя біялагічных навук. – 1985. – № 6. – С. 89–91. 8. Самойлова, Т. И. Вирус западного Нила в Республике Беларусь / Т. И. Самойлова. – Минск : Медисонт, 2018. – 206 с. 9. Скуфьин, К. В. К экологии слепней Воронежской области / К. В. Скуфьин // Зоологический журнал. – 1949. – Т. 28, № 2. – С. 145–156. 10. Янковский, А. В. Определитель мошек (Diptera, Simuliidae) России и сопредельных территорий (бывшего СССР) / А. В. Янковский. – Санкт-Петербург, 2002. – 570 с.

Поступила в редакцию 05.02.2020 г.

УДК 620.3:619

РАСЧЕТ ЗНАЧЕНИЯ МИНИМАЛЬНОГО РАДИУСА ЗОНЫ ИНГИБИЦИИ РОСТА В ДИФфуЗИОННОМ МЕТОДЕ

*Красочко П.А., **Лещенко В.Г., **Мансуров В.А., *Красочко И.А., *Корочкин Р.Б., *Понаськов М.А.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

**УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Наночастицы благородных металлов и биоэлементов демонстрируют высокую антибактериальную активность. Тем не менее их широкому внедрению в медицину и ветеринарию препятствует отсутствие стандартизированной методики определения их антибактериальной активности. Наиболее доступный для исполнения диффузионный метод имеет очевидный недостаток, связанный с отсутствием единой методики интерпретации результатов. В настоящем исследовании авторами представлены расчеты величины минимальной зоны ингибции роста микроорганизмов, соответствующей антибактериальной активности препаратов на основе наночастиц металлов. Ключевые слова: наночастицы, диффузия, диффузионный метод, расчет, зона ингибции роста.

CALCULATING THE MINIMUM RADIUS OF THE GROWTH INHIBITION ZONE IN THE DIFFUSION METHOD

*Krasochko P.A., **Leschenko V.G., **Mansurov V.A., *Krasochko I.A., *Korachkin R.B., *Ponaskov M.A.

*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

**Belorussian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Nanoparticles of noble metals and bioelements exhibit high anti-bacterial activity. However, their widespread adoption in medicine and veterinary medicine is hampered by the lack of a standardized methodology for determining their antibacterial activity. The diffusion method most accessible for execution has an obvious drawback associated with the lack of a unified methodology for interpreting the results. In this study, the authors presented the calculations of the minimum minimum zone of inhibition of microorganism growth, corresponding to the presence of antibacterial activity of preparations based on metal nanoparticles. Keywords: nanoparticles, diffusion, diffusion method, calculation, growth inhibition zone.

Введение. Высокая антибактериальная активность наноразмерных частиц биоэлементов в отношении морфологически и метаболитически различных микроорганизмов, определенная в наших предыдущих исследованиях [2, 3], определяется многогранным механизмом действия. Более того, считается, что применение наночастиц не способствует эволюции и появлению более резистентных штаммов бактерий, поскольку механизм действия мелкодисперсных частиц нацелен сразу на несколько метаболитических процессов [1].

Несмотря на широкое внедрение применения наночастиц серебра в медицинскую и ветеринарную практику, вопросы сравнительной оценки антибактериального действия классических антибиотиков и наночастиц остаются мало исследованными. Наиболее достоверным критерием оценки их антибактериальной активности считается показатель значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК), выражаемой в абсолютной величине (мкг/мл или мг/л).

Тем не менее методика ее определения достаточно трудоемка для выполнения, поэтому востребованным остается исполнение более доступных способов. Среди их числа наиболее приемлемой рассматривается методика Кирби-Бауэра, также известная как диффузионный метод. Считается, что она сочетает в себе простоту выполнения и высокую достоверность оценки антибактериального действия по величине зоны ингибиции роста микроорганизмов. Тем не менее при ее проведении размеры диаметров зон задержки роста микроорганизмов на плотной питательной среде зависят от степени диффузии препарата в агаре, а также их содержания в диске.

В выпускаемых наборах концентрация антибиотиков в дисках различна, что зависит от величины минимальной ингибирующей концентрации каждого конкретного антибиотика в отдельности, но чаще находится в пределах от 5 до 15 мкг на один диск с таким расчетом, чтобы это количество превышало величину МИК большинства бактерий более чем в 10 раз.

Однако, принимая во внимание огромные различия в показателях значений МИК для различных видов и штаммов микроорганизмов, которые в некоторых случаях могут отличаться в более чем тысячу раз (от 0,004 до >64 мкг/мл), получаемые зоны задержек роста на агаре могут варьировать в очень значительной степени. Фактически, в некоторых случаях меньший диаметр зоны задержки роста может характеризовать более высокую активность одного антибиотика по сравнению с другим антибиотиком, продуцирующим гораздо более крупную зону ингибиции роста. В этой связи постоянно издаются и пересматриваются многочисленные справочники и руководства для оценки чувствительности микроорганизмов к тому или иному антибиотику по величине зоны задержки роста, что создает некоторое неудобство и двусмысленность в интерпретации результатов исследований диффузионным методом.

По сравнению с антибиотиками, наночастицы биоэлементов имеют гораздо меньший диапазон различий в показателях минимальной ингибирующей концентрации для разных микроорганизмов, так как их крайние значения редко различаются в более чем 10 раз. Например, для наночастиц серебра МИК для большинства бактерий лежат в диапазоне от 0,5 до 50 мкг/мл, что определяет лучшую пригодность методики Кирби-Бауэра для адаптации и использования.

Материалы и методы исследований. На предыдущем этапе исследовательской работы мы провели всесторонний сравнительный анализ данных активности различных антибиотиков и наночастиц серебра по показателям минимальной ингибирующей концентрации (МИК), а также их сопоставление со значениями величин зон ингибиции роста микроорганизмов на плотной питательной среде. Нами установлена строгая корреляция только для коллоидного раствора наночастиц. Установив более строгую зависимость показателя зоны ингибиции роста микроорганизмов на питательной среде от объемной концентрации наночастиц в ней, мы предприняли попытку математического расчета минимального значения радиуса зоны подавления роста, которое может достоверно свидетельствовать об активности препарата.

Для первоначального предварительного расчета будем исходить из суждения о равномерности распространения диффундируемого вещества (наночастиц серебра) по всему диффундируемому пространству. Несмотря на то, что любая диффузия предполагает изменение градиента концентрации в диффундируемом пространстве в зависимости от времени и координаты точки в пространстве, что определяется вторым законом Фика [4], мы посчитали возможным абстрагироваться от дифференциального уравнения диффузии. Данную абстракцию мы приняли, исходя из больших значений показателей времени диффузии (18–24 часа) и высокой плотности диффузионного потока вследствие наноразмерности диффундируемого вещества.

В связи с тем, что распространение наночастиц и антибиотиков в питательной среде может быть признано классической радиальной диффузией из точки их внесения, мы рассчитали объем диффузионного пространства, в котором концентрация наночастиц превышает значение минимальной ингибирующей концентрации.

Расчет объема цилиндра будем вести по формуле 1:

$$V = \pi r^2 \cdot 0,4 \quad , (1)$$

где V – объем цилиндра диффузионного пространства (см^3 или мл);
 r – радиус зоны ингибиции роста (см);
 $0,4$ – постоянная величина толщины агара (4 мм).

Изначально мы рассчитали объем цилиндра, который вырубается в толще агаровой среды и который не является диффузионным пространством.

Согласно стандартной методике Кирби-Бауэра, в толще среды изготавливают лунки диаметром 6 мм (радиус – 3 мм, или 0,3 см), поэтому объем такой лунки составляет $0,11 \text{ см}^3$. Затем в изготовленные лунки вносятся по 0,1 мл тестируемого антибактериального вещества.

Далее мы рассчитали значение радиуса зоны ингибиции роста бактерий на питательной среде, которое может быть принято за минимальный показатель активности антибактериального вещества. При расчете будем исходить из суждения, что в диффузионном пространстве, ограниченном окружностью, которая соответствует зоне ингибиции роста, концентрация наночастиц будет превышать значение минимальной ингибирующей концентрации для тестируемого микроорганизма. При изучении чувствительности микроорганизмов к наночастицам показатель МИК практически всегда заранее не известен, также как не всегда доступна концентрация наноразмерных частиц в препарате. Для достижения активности изначальная концентрация наночастиц в препарате должна незначительно превышать или равняться значению минимальной ингибирующей концентрации во всем диффузионном пространстве.

Минимальную активность антибактериального препарата будем допускать в том случае, если концентрация наночастиц в нем, как минимум, в два раза превышает значение МИК для заданного микроорганизма в диффузионном пространстве, а в случае признания высокой активности вещества исходная концентрация наночастиц в нем должна превышать показатель МИК, как минимум, в четыре раза.

По этой причине будем считать, что в первом случае вносимое в лунки количество коллоидного раствора наночастиц (0,1 мл) может заполнить объем диффузионного пространства, в 2 раза его превышающий (0,2 мл), а в случае признания высокой активности препарата диффузионный объем может достигать 0,4 мл. При расчете значений радиусов зон ингибиции роста также следует добавить в обоих случаях по 0,11 мл, то есть величину объема лунки, не считающейся диффузионным пространством.

Допуская равномерность распространения диффундируемых наночастиц в пределах диффузионного пространства, становится возможным расчет минимального значения зоны (радиуса) ингибиции роста:

$$r = \sqrt{\frac{V + 0,11}{\pi \cdot 0,4}}, \quad (2)$$

где r – радиус минимальной зоны ингибиции роста (см);
 V – объем диффузионного пространства (мл);
 $0,11$ – объем лунки (мл);
 $0,4$ – толщина агарового слоя (см).

Подставляя в формулу 2 величину объемов диффузионных пространств, можно рассчитать, что при минимальной активности препарата радиус зоны ингибиции роста должен превышать 0,5 см, или 2 мм по кольцевому радиусу, принимая во внимание стандартный по методике диаметр лунки в 6 мм. Высокая активность препарата должна соответствовать радиусу зоны ингибиции роста 0,65 см, или 3,5–4,0 мм по кольцевому радиусу.

Для детального изучения правомерности расчета значений минимальных радиусов ингибиции была предпринята попытка численного математического моделирования процесса диффузии в осесимметричной задаче: в центре круглой агаровой пластины толщиной $h_0=4\text{мм}$ находится полый цилиндр радиуса $r_0 = 3 \text{ мм}$, заполненный ингибирующим веществом заданной концентрации C_0 .

Это вещество вследствие диффузии (коэффициент диффузии D_1) распространяется к краю пластины в радиальных направлениях. Концентрация вещества изменяется и в пространстве, и во времени. На краю пластины его концентрация предполагается равной нулю.

Результаты численного математического моделирования показаны на рисунках 1 и 2.

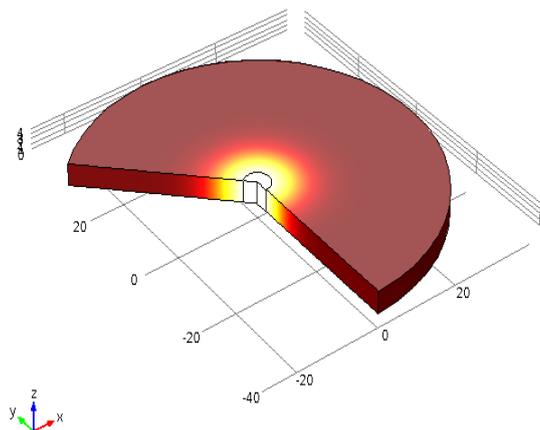


Рисунок 1 — Относительная концентрация вещества в пластине в некоторый момент времени. Темный цвет соответствует минимальной концентрации, светлый — максимальной

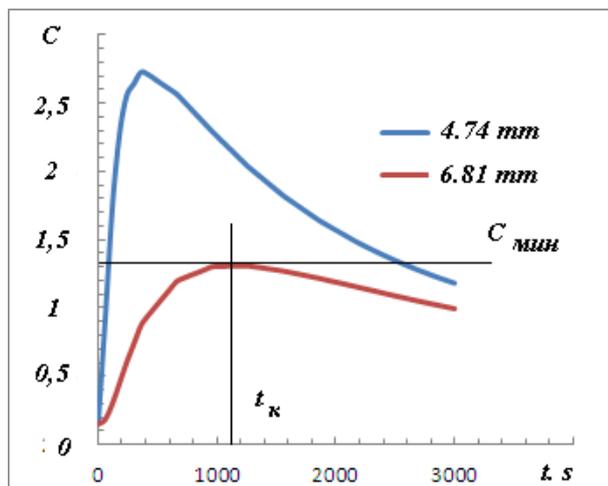


Рисунок 2 — Изменение во времени относительной концентрации вещества в различных точках пластины. Расстояние отсчитывается от центра пластины

По мере удаления от края r_0 заполняемого осевого цилиндра концентрация вещества сначала резко возрастает (так как первоначально оно там отсутствовало), а затем начинает падать и по радиусу, и во времени. Это иллюстрирует рисунок 2, где представлено изменение относительной концентрации вещества во времени в двух фиксированных точках, расположенных от центра на расстоянии 4,74 мм и 6,81 мм. Там же показан уровень (черной горизонтальной линией) некоторой минимальной ингибирующей концентрации C_{min} . Видно, что в первой точке он значительно превышает C_{min} , затухая со временем, тогда как во второй точке концентрация лишь достигает значения C_{min} в некоторый момент t_N и затем спадает. Поэтому минимальный ингибирующий радиус R_{min} в этих условиях составляет 6,81 мм.

Графики этого процесса при некоторых других коэффициентах диффузии представлены также на рисунках 3 и 4. На этих графиках $x = r - r_0$ — расстояние, отсчитываемое по радиусу от края начального цилиндра радиуса r_0 .

В представленных графиках видно, что радиус, соответствующий C_{min} , во времени сначала увеличивался, достиг наибольшего значения R_{min} (условно при $t=2c$, отмечен синей вертикальной линией и равен $R_{min} = r_0 + x_{min}$), а затем стал уменьшаться и достиг нуля при $t=4c$. Подробнее этот процесс представлен на рисунке 4.

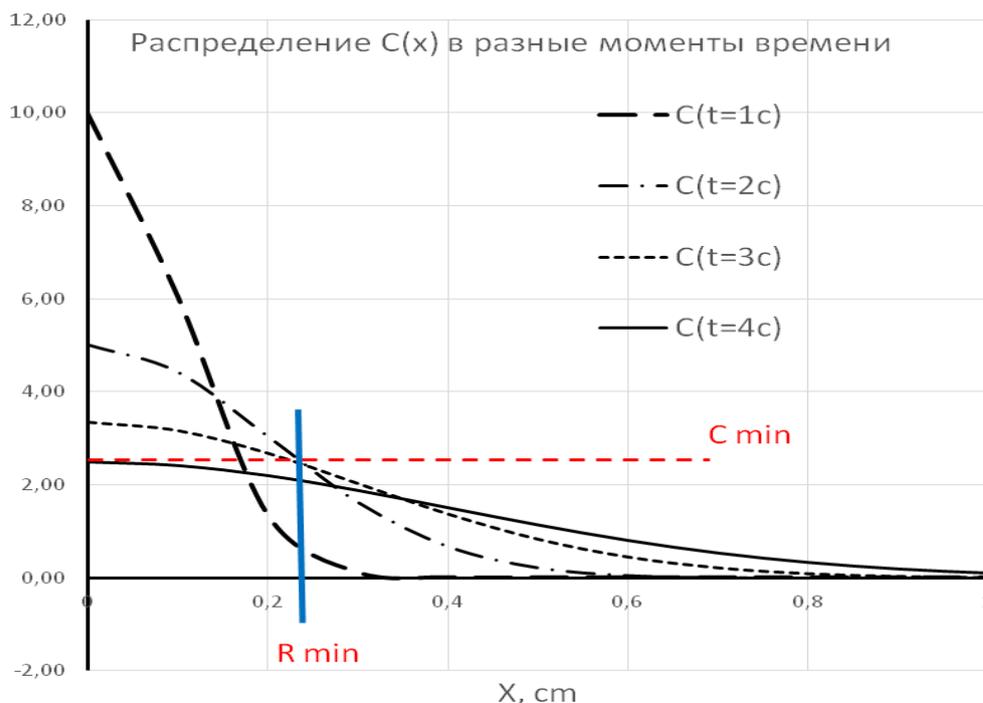
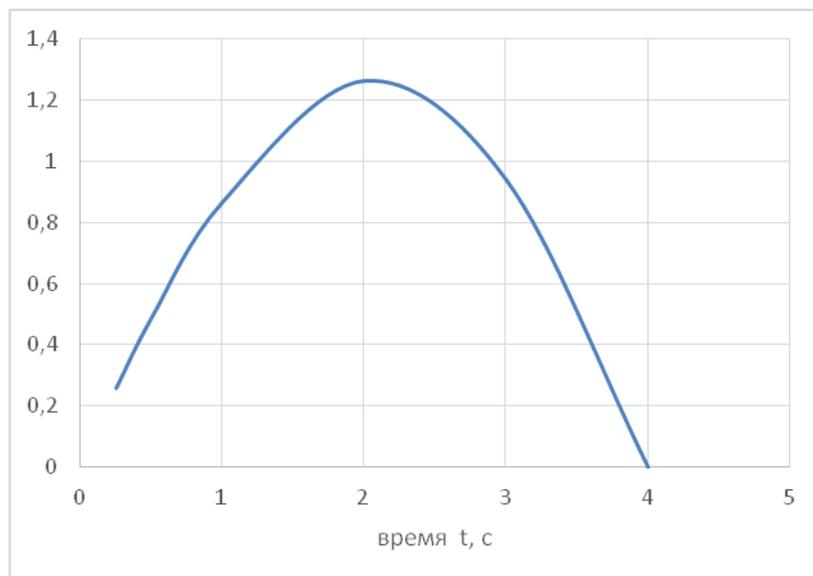
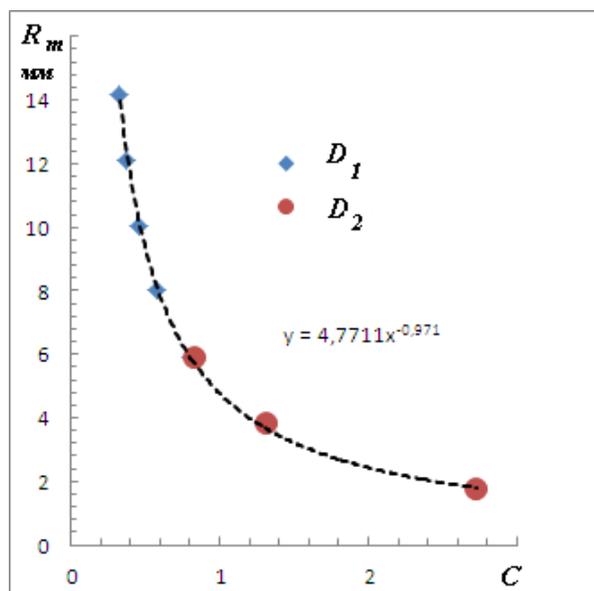


Рисунок 3 — Распределение концентрации частиц по радиусу в разные моменты времени, $x = r - r_0$

Рисунок 4 — Изменение положения X_{min} во времени ($X_{min} = R_{min} - r_0$)

Следует однако отметить, что наличие подобного максимума имеет место при сравнительно небольших превышениях начальной концентрации C_0 над C_{min} . Кроме того, большое влияние оказывает и величина коэффициента диффузии: при очень малых коэффициентах диффузии эта зависимость становится плавно нарастающей, без максимума в близлежащей центральной области.

Математическое моделирование данного процесса при разных коэффициентах диффузии показало, что значения R_{min} всегда укладываются на одну и ту же кривую (рисунок 5) (приблизительно обратно пропорциональная зависимость). Это означает, что радиус зоны, на котором достигается заданная концентрация частиц, не зависит от коэффициента диффузии, а полностью определяется значением C_{min} (рисунок 5).

Рисунок 5 — Зависимость размера X_{min} зоны ингибции от значения минимальной ингибирующей концентрации, при различных коэффициентах диффузии D_1 и D_2 . Расстояние X_{min} отсчитывается от края внутреннего цилиндра

Заключение. Проведенные нами исследования позволяют сделать следующие выводы:

4. Диффузионный метод определения чувствительности микроорганизмов сочетает в себе простоту и доступность исполнения. С физической точки зрения, распространение фармакологического вещества по питательной среде в данной методике представляет собой классическую радиальную диффузию.

5. Радиус зоны ингибции роста, в которой достигается необходимая для подавления роста бактерий концентрация частиц, не зависит от коэффициента диффузии, а полностью определяется значением МИК наночастиц.

6. При оценке антибактериального действия наночастиц металлов диффузионным методом в стандартном исполнении величина зоны ингибиции роста более 13,6 мм по диаметру или 3,8 мм по кольцевому радиусу однозначно свидетельствует об их активности.

Литература. 1. *Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents* / F. Gianluigi [et al.] // *Molecules*. – 2015. – Vol. 20. – P. 8856-8874. 2. Изучение антибактериальных свойств коллоидных растворов наночастиц серебра и меди / П. А. Красочко, Р. Б. Корочкин, А. В. Притыченко, М. А. Понаськов // *Ветеринарный журнал Беларуси*. – 2019. – № 1. – С. 41–44 3. Оценка бактериоингибирующего действия нано- и коллоидных частиц серебра и кремния диффузионным методом / П. А. Красочко [и др.] // *Ветеринария Кубани*. – 2019. – № 4. – С. 15–17. 4. Путилов, К. А. Курс физики : в 3 т. / К. А. Путилов. – Москва : Государственное издательство физико-математической литературы, 1963. – Т. 1 : Механика, акустика, молекулярная физика, термодинамика. – С. 367-373.

Поступила в редакцию 30.04.2020 г.

УДК 636.934.57:611.65/67

АНАТОМО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ САМОК АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ

Ревякин И.М., Николаева В.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*В статье изложены основные анатомические особенности внутренних половых органов самок американской норки. Установлено, что по общему плану строения они соответствуют органам представителей семейства собачьих. Наряду с этим они имеют специфические особенности. Помимо морфометрических особенностей, заслуживает внимание специфика строения яичнико-яйцеводного комплекса, а также наличие влагалищного «кармана», функциональное значение которого до конца не выяснено. **Ключевые слова:** американская норка, половые органы, яичники, яйцеводы, матка, влагалище, преддверие влагалища.*

ANATOMICAL-FUNCTIONAL FEATURES OF GENERATIVE ORGANS OF FEMALE AMERICAN MINK

Revyakin I.M., Nikalayeva U.N.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The article outlines the main anatomical features of the internal genitals of female American mink. It has been established that according to the general plan of construction they correspond to the organs of members of the dog family. On a row with this have specific features. In addition to morphometric features, the specific structure of the testicular-egg complex, as well as the presence of a vaginal «pocket», the functional value of which has not been fully clarified, deserves attention. **Keywords:** American mink, genitals, ovaries, oviducts, uterus, vagina, vagina threshold.*

Введение. В настоящее время основным объектом клеточного пушного звероводства является американская норка, которую разводят ради получения качественного меха. В связи с этим основное внимание морфологов направлено на исследование кожи, производное которого – волосяной покров, в условиях звероводческих хозяйств подвержен ряду деструктивных изменений, значительно снижающих качество конечного сырья [5]. Учитывая то обстоятельство, что организм является целостной системой, функционирование отдельных компонентов которой тесно зависит друг от друга и от условий окружающей среды, нами были рассмотрены некоторые морфофункциональные особенности органов, прямо или косвенно влияющих на качество шкурок [3, 4]. При этом, в ряде как наших работ, так и в работах других авторов была отмечена малая изученность закономерностей морфологии американской норки, что, в первую очередь, связано с относительно недавним началом ее промышленного разведения. На этом фоне зачастую не принимается в расчет то обстоятельство, что на рентабельность производства шкурок оказывает влияние не только их качество и размер, но и количество. Данный показатель зависит от воспроизводительных способностей зверей, обеспечивающихся, в первую очередь, состоянием половой системы. Последняя, как известно, сильно различается у животных разных полов. Наши исследования одного из ее компонентов у самцов – бакулума, позволили не только детально описать его строение, но и выявить некоторые особенности анатомии данной структуры, влияющие на выход щенков [6]. Вместе с тем, на сегодняшний день, законченными они не являются, так как остается непонятным функциональное значение некоторых анатомических частей этой кости. В связи с этим, учитывая то, что половой аппарат самца в процессе филогенеза приспособился к таковому самки, на возникшие вопросы логично поискать ответ в закономерностях строения половых органов самки.

Проведенный нами анализ доступных литературных источников, касающийся морфологических особенностей половых органов самок американской норки, показал, что, несмотря на их исключительное значение в репродукции зверей, работ, посвященных этой теме, относительно немного. Из них наиболее полное описание содержится в исследованиях И.Ф. Тихонова (1965), в которых автор отра-