



(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)
A01K 61/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015113691/15, 13.04.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 13.04.2015

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 13.04.2015

(45) Опубликовано: 20.11.2016 Бюл. № 32

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2253970 C2, 20.06.2005;
КОРОТЕНКО А.В. / Оценка физиологического состояния рыб -; объектов аквакультуры при различных стрессорных воздействиях и поиск адаптогенов / Автореф. дисс.; канд. биол. наук / Астрахань, 2012;
КОРАБЕЛЬНИКОВА О.В. / Физиолого-биохимические показатели осетровых рыб (*Acipenseridae* Bonaparte, 1832) при выращивании в (см. прод.)

Адрес для переписки:

414056, Астраханская обл., г. Астрахань, ул. Татищева, 20а, ФГБОУ ВО "Астраханский государственный университет", Отдел научно-технической информации

(72) Автор(ы):

**Аюпова Адиля Камильевна (RU),
 Астафьева Светлана Сергеевна (RU),
 Васильева Лидия Михайловна (RU),
 Юсупова Адэля Закировна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Астраханский государственный университет" (RU)

(54) СПОСОБ ТЕСТИРОВАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

(57) Реферат:

Изобретение относится к ихтиологии и рыбоводству и представляет собой способ тестирования физиологического состояния осетровых рыб, включающий исследование сыворотки крови рыб, отличающийся тем, что сыворотку крови исследуют методом краевой дегидратации в аналитических ячейках и производят морфологический анализ образовавшихся структур в режиме обычной

микроскопии при различных увеличениях, при этом дендритные и переходные формы являются показателями нормы гомеостаза, а наличие пластинчатых структур указывает на изменения, происходящие в организме рыб. Осуществление изобретения обеспечивает повышение эффективности оценки физиологического состояния осетровых рыб. 1 з.п. ф-лы, 3 пр.

(56) (продолжение):

индустриальных хозяйствах / Автореф. дисс.; канд. биол. наук / Москва, 2009; **ХАБАРОВ М.В.** / Альбуминовая система сыворотки крови разных по экологии видов осетровых рыб / Автореф. дисс.; канд. биол. наук / Ярославль, 2005.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G01N 33/48 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01)
A01K 61/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2015113691/15, 13.04.2015

(24) Effective date for property rights:
13.04.2015

Priority:

(22) Date of filing: 13.04.2015

(45) Date of publication: 20.11.2016 Bull. № 32

Mail address:

414056, Astrakhanskaja obl., g. Astrakhan, ul.
Tatishcheva, 20a, FGBOU VO "Astrakhanskij
gosudarstvennyj universitet", Otdel nauchno-
tekhnicheskoy informatsii

(72) Inventor(s):

Ajupova Adilja Kamilevna (RU),
Astafeva Svetlana Sergeevna (RU),
Vasileva Lidiya Mikhajlovna (RU),
JUsupova Adelja Zakirovna (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Astrakhanskij gosudarstvennyj
universitet" (RU)

(54) **METHOD OF TESTING THE PHYSIOLOGICAL STATE OF STURGEON FISH**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: invention relates to ichthyology and fish breeding and represents a method of testing the physiological state of sturgeon fish, including blood serum examination of fish, differing by the fact that blood serum is analysed by marginal dehydration in analytical cells and morphological analysis formed structures in the mode of standard microscopy at various

magnifications, the dendritic and transient forms are indices norm homeostasis, and presence of plate-like structures indicates change occurring in fish.

EFFECT: invention implementation ensures more efficient evaluation of the physiological state of sturgeon fishes.

1 cl, 3 ex

Изобретение относится к ихтиологии и рыбоводству, а именно к способам оценки физиологического состояния осетровых рыб.

Известен способ оценки общего физиологического состояния осетровых рыб, в котором используют наличие в крови исследуемых рыб естественного фактора ингибиции активности антител класса М, являющихся основными у осетровых рыб, с последующей регистрацией снижения титров. Реакцию непрямой гемагглютинации проводят с эритроцитарным сальмонелезным О диагностикумом, а исследуемую сыворотку крови разводят изотоническим раствором хлористого натрия в соотношении 1:20, смешивают с равным количеством тест-сыворотки в разведении 1:20 и инкубируют при 37°C в течение 4-х часов (RU №2253970, МПК А01К 61/00, опубл. 20.06.2005).

К недостаткам известного способа можно отнести, что при его реализации используют диагностикум, требующий определенные условия хранения (4-10°C), срок хранения которого не более 1 года. Необходимы специальное оборудование и условия стерильности для постановки реакции, что также усложняет его использование.

Известно, что морфология текстур, формирующихся при фазовых переходах биологических жидкостей, отражает состояние организма и изменяется при развитии патологических процессов. На современном этапе морфотесты достаточно широко используются в медицине для динамической оценки состояния организма.

Известны способы диагностики состояния организма (RU №2312606, МПК А61В 10/00, G01N 33/48, опубл. 20.12.2007; RU №2366949, МПК G01N 33/48, А61В 10/00, опубл. 10.09.2009). В качестве биологической жидкости исследуют кровь, и/или мочу, и/или слюну, и/или пот, и/или гнойные выделения и т.д.

В указанных способах для фазового перехода используются температуры ниже нуля, что повышает их энергозатратность.

Известно, что в процессе высушивания биологических жидкостей также формируются кристаллические текстуры, изучение которых является одним из активно развивающихся направлений в медико-биологических исследованиях.

Известен способ оценки токсического действия химических веществ на органы и ткани рыб, при котором методом клиновидной дегидратации исследуется гомогенат. Для этого его в форме капли наносят на поверхность предметного стекла, высушивают при комнатной температуре в течение суток, затем полученные образцы просматривают в поляризованном свете и при появлении цветных анизотропных образований проводят оценку о токсичности химических веществ (RU №2258926, МПК G01N 33/12, опубл. 20.08.2005).

Целью изобретения является упрощение оценки физиологического состояния осетровых рыб, повышение ее эффективности.

Поставленная цель достигается тем, что для оценки физиологического состояния осетровых рыб проводится морфологический анализ кристаллических структур сыворотки крови, сформированных при краевой дегидратации в аналитических ячейках исследуемой биологической жидкости.

Способ осуществляют следующим образом.

Сыворотку крови обследуемой рыбы объемом 0,02 мл помещают между предметным и покровным стеклами. Полученные аналитические ячейки высушивают в условиях рабочей комнаты лаборатории при минимальной подвижности воздуха в течение 24-48 часов. После чего в режиме обычной микроскопии при различных увеличениях проводят морфологический анализ образовавшихся структур. Дендритные и переходные формы являются показателями нормы гомеостаза, наличие пластинчатых структур указывает на изменения, происходящие в организме рыбы.

Пример 1. Объектами изучения являлись двухлетки стерляди (*Acipenser ruthenus*) в количестве 10 экземпляров. Взятие крови у обследованных особей для проведения морфологического и биохимического исследования осуществлялось в апреле, после продолжительного содержания рыбы при низких температурах в период зимовки.

5 В результате проведенного анализа кристаллических структур сыворотки крови двухлеток стерляди методом краевой дегидратации в аналитических ячейках установлено наличие дендритных, переходных и пластинчатых форм (в 30%, 60% и 100% сл. соответственно).

10 Состав морфологических типов наблюдаемых структур рассматривают как тест, который свидетельствует о негативных изменениях, происходящих в организме обследованных рыб.

Возможность такого использования подтверждают результаты биохимического исследования сыворотки крови.

Результаты биохимического исследования сыворотки крови

15 Концентрация холестерина в сыворотке крови стерляди изменялась в пределах 3,45-8,35 ммоль/л при среднем значении $5,157 \pm 0,6483$ ммоль/л, коэффициент вариации составил 37,7%.

Содержание глюкозы находилось в пределах 1,51-4,12 ммоль/л при среднем значении $3,144 \pm 0,2753$ ммоль/л. Коэффициент вариации соответствовал 26,3%.

20 Полученные результаты биохимического исследования, а именно коэффициенты вариации свыше 25%, исследуемых параметров, свидетельствуют о пониженной устойчивости рыб данной группы к длительному периоду пониженных температур и дальнейшей затрудненной адаптации обменных процессов к изменяющимся условиям и адекватны выводам по результатам анализа кристаллических структур сыворотки
25 крови.

Пример 2. Объектами изучения являлись двухлетки русского осетра (*Acipenser gueldenstaedty*) в количестве 10 экземпляров. Взятие крови у обследованных особей для проведения морфологического и биохимического исследования осуществлялось в июне, в период полной их адаптации после зимовки.

30 В результате проведенного анализа кристаллических структур сыворотки крови двухлеток русского осетра методом краевой дегидратации в аналитических ячейках установлено наличие дендритных и переходных форм в 100% случаев, пластинчатых в 20% случаев.

35 Существенное снижение числа особей, аналитические ячейки сыворотки крови которых содержат структуры пластинчатой формы, свидетельствует об удовлетворительном физиологическом состоянии организма у большинства обследованных рыб.

Возможность такого утверждения подтверждают результаты биохимического исследования сыворотки крови.

40 Результаты биохимического исследования сыворотки крови

Уровень холестерина варьировал в пределах 1,23-2,10 ммоль/л при среднем значении $1,586 \pm 0,0947$ ммоль/л (коэффициент вариации 18,91%).

Показатели глюкозы сыворотки крови варьировали в пределах 0,6-2,9 ммоль/л при среднем значении $1,857 \pm 0,2152$ ммоль/л (коэффициент вариации 18,89%).

45 Следовательно, невысокая вариабельность содержания холестерина и глюкозы, а именно 18,9%, свидетельствует об удовлетворительном физиологическом состоянии обследованных особей русского осетра, что соответствует выводам морфологического анализа кристаллических структур сыворотки крови исследуемых рыб.

Пример 3. Объектами изучения являлись годовики русского осетра (*Acipenser gueldenstaedty*) в количестве 10 экземпляров. Взятие крови у обследованных особей для проведения морфологического и биохимического исследования осуществлялось в июне.

5 В результате проведенного анализа кристаллических структур сыворотки крови двухлеток русского осетра методом краевой дегидратации в аналитических ячейках установлено наличие дендритных и переходных форм в 90 и 100% случаев соответственно пластинчатых в 90% случаев.

Полученная морфологическая картина сыворотки крови следующим образом соотносится с результатами ее биохимического анализа.

10 Результаты биохимического исследования сыворотки крови

Содержание холестерина в плазме крови годовиков русского осетра составлял от 1,42 до 2,26 ммоль/л (среднее значение $1,967 \pm 0,0978$ ммоль/л). Коэффициент вариации был невысоким и составлял 14,9%.

15 Содержание глюкозы в плазме крови годовиков русского осетра составлял от 0,69 до 4,05 ммоль/л (среднее значение $2,101 \pm 0,3456$ ммоль/л). Коэффициент вариации был высоким и составлял 46,5%.

Высокая вариативность содержания глюкозы в сыворотке крови годовиков русского осетра указывает на их низкую устойчивость к воздействию стресс-факторов, возникающих при осуществлении рыбоводных манипуляций во время выращивания.

20 Следовательно, существенное увеличение количества особей (до 90% случаев), аналитические ячейки сыворотки крови которых содержат структуры пластинчатой формы, служит сигналом об изменении адаптационных возможностей у данной группы рыб.

Таким образом, предлагаемый способ тестирования физиологического состояния осетровых рыб по составу морфологических типов наблюдаемых структур является информативным, репрезентативным. Осуществление способа несложно в выполнении, способ реализуется с использованием незначительного количества биологического материала, что актуально для экспериментальных исследований, не требует наличия специализированной лаборатории, дорогостоящей аппаратуры, реактивов, красителей.

30

Формула изобретения

1. Способ тестирования физиологического состояния осетровых рыб, включающий исследование сыворотки крови рыб, отличающийся тем, что сыворотку крови исследуют методом краевой дегидратации в аналитических ячейках и производят морфологический анализ образовавшихся структур в режиме обычной микроскопии при различных увеличениях, при этом дендритные и переходные формы являются показателями нормы гомеостаза, а наличие пластинчатых структур указывает на изменения, происходящие в организме рыб.

40 2. Способ тестирования физиологического состояния осетровых рыб по п. 1, отличающийся тем, что сыворотку крови объемом 0,02 мл помещают между предметным и покровным стеклами, а полученные аналитические ячейки высушивают в условиях рабочей комнаты при минимальной подвижности воздуха в течение 24-48 часов.

45