

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-36472 от 3 июня 2009 г. Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК Министерства образования и науки РФ

## СОДЕРЖАНИЕ

### Главный редактор

**Чуваев И. В.,**  
канд. биол. наук  
e-mail: virclin@mail.ru

### Редакционный совет

**Алиев А. А.,**  
проф., докт. вет. наук  
**Андреева Н. Л.,**  
проф., докт. биол. наук  
**Белова Л. М.,**  
проф., докт. биол. наук  
**Васильев Д. Б.,**  
докт. вет. наук  
**Воронин В. Н.,**  
проф., докт. биол. наук  
**Георгиев Б. А.,**  
доцент, докт. вет. медицины

**Концевая С. Ю.,**  
проф., докт. вет. наук

**Кудряшов А. А.,**  
проф., докт. вет. наук

**Кузьмин В. А.,**  
проф., докт. вет. наук

**Панин А. Н.,**  
проф., докт. вет. наук,  
акад. РАН

**Прудников В. С.,**  
проф., докт. вет. наук,

**Сулейманов С. М.,**  
проф., докт. вет. наук,  
заслуж. деятель науки РФ

**Яшин А. В.,**  
проф., докт. вет. наук

По вопросам рекламы  
обращайтесь:  
e-mail: virclin@mail.ru

Заявки на подписку (с любого  
месяца) направляйте в редакцию  
по факсу: (812) 232-55-92;  
e-mail: invetbio@yandex.ru.  
Телефон отдела подписки:  
(812) 232-55-92

Верстка  
**Кондрашенков С. В.**

Корректор  
**Суховой Д. А.**

Журнал основан в 2009 г.  
Учредитель и издатель:  
ЧОУДПО «Институт  
Ветеринарной Биологии»

### ГЕНЕТИКА

**Варламова М.И., Шакиров Ш.К., Сафина Н.Ю., Гайнутдинова Э.Р., Алимов А.М.**  
Полиморфизм гена лептин голштинской породы крупного рогатого скота ..... 3

### ИММУНОЛОГИЯ

**Доронин М.И., Михалишин Д.В., Стариков В.А., Лозовой Д.А., Борисов А.В.**  
Валидация способа определения концентрации 146S иммуногенного компонента вируса ящура в вакцине при сравнении графиков второй производной для сигмоид реакции амплификации ..... 7

**Иванов Ю.В., Сердюк Г.Н.**  
Роль иммунологических факторов в оплодотворяющей способности свиноматок ..... 16

### ЭПИЗООТОЛОГИЯ

**Тамбиев Т.С., Соловьев Н.А., Гак Ю.М., Тазаян А.Н., Федоров Н.М.**  
Особенности проявления инфекционного процесса и оздоровительные мероприятия при болезни Марека ..... 21

### ЦИТОЛОГИЯ

**Гусева М.Н., Доронин М.И., Михалишин Д.В., Шевченко М.А., Манин Б.Л.**  
Применение полиэтиленгликоля и Pluronic F-68 в качестве компонента бессывороточной среды для культивирования клеток линии ВНК-21/Susp/Ariah ..... 28

### ПАРАЗИТОЛОГИЯ

**Пилип Л.В., Бякова О.В.**  
Социально значимые гельминтозы человека в Кировской области ..... 34

### ФАРМАКОЛОГИЯ

**Головина Н.А., Енгашев С.В., Гончарова М.Н., Корсакова М.В., Сафронов Д.С.**  
Определение острой токсичности препарата «Эмикон» на карпах ..... 40

**Кривко М.С., Тамбиев Т.С., Кошляк В.В., Дулетов Е.Г.**  
Сравнительная эффективность гепатопротекторных схем лечения собак при ассоциативном течении лептоспироза и бабезиоза ..... 44

**Польских С.В., Грызлов В.А.**  
Применение вермикулита в ветеринарии как необходимое условие повышения показателей продуктивности животных и сохранности их молодняка ..... 50

**Шульга И.С., Желябовская Д.А., Лаврушина Л.А., Горбачёва И.Е.**  
Сравнительная оценка эффективности препаратов против большой восковой моли ..... 57

### ВЕТСАНЭКСПЕРТИЗА

**Крупин Е.О.**  
Корреляционный и регрессионный анализы в диагностике нарушений обмена веществ у лактирующих коров ..... 62

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ

**Балабанова В.И., Кудряшов А.А.**  
Патологоанатомические изменения у откормочных свиней при болезнях, протекающих с пневмонией ..... 66

**ИНФОРМАЦИЯ** ..... 72

### Издательство Института Ветеринарной Биологии

Адрес редакции/издателя: 197198, С.-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б. Тел. (812) 232-55-92, тел./факс 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Сайт: www.invetbio.spb.ru

Подписано в печать 09.09.2020. Дата выхода: 21.09.2020. Отпечатано в типографии ООО «СМДЖИ ПРИНТ»: 197101, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, д. 1.

Тираж 1000 экз. Свободная цена. Подписной индекс в каталоге «Газеты. Журналы» – 33184, «Пресса России» – 29447.

Ответственность за достоверность представленных в статьях данных несут авторы. Все рекламируемые товары и услуги имеют соответствующие сертификаты.

За содержание рекламных объявлений редакция ответственности не несет.  
© ЧОУДПО «Институт Ветеринарной Биологии», Санкт-Петербург, 2020

The journal is registered by Federal Service for Supervision in the Sphere of Communications, Information Technologies and Mass Communications. The certificate on registration of mass media ПИ № ФС77-36472 of June 3, 2009. The journal is included in the list of the leading peer-reviewed journals and publications of State Commission for Academic Degrees and Titles of the RF Ministry of Education and Science

## CONTENTS

### Editor-in-Chief

**Chuvaev I. V.**,  
Philosophy Doctor  
e-mail: virclin@mail.ru

### Computer design Kondrashenkov S.V.

### Editorial Board

**Aliev A. A.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Andreeva N. L.**,  
Dr. Biol. Sci., Professor

**Belova L. M.**,  
Dr. Biol. Sci., Professor

**Georgiev B. A.**  
Associate Professor, Ph.D

**Kudryashov A.A.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Kontsevaya S. U.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Kuzmin V. A.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Panin A.N.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor,  
Member of RAS

**Prudnikov V. S.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor

**Suleymanov S. M.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor  
RF Honoured Worker of Science

**Vasilyev D. B.**,  
Dr. Vet. Sci.

**Voronin V. N.**,  
Dr. Biol. Sci., Professor

**Yashin A. V.**,  
Dr. Vet. Sci., Professor

On the matters of advertisement  
please contact  
e-mail: virclin@mail.ru

Subscription requests should be  
sent to the editorial office by fax  
+7 (812) 232-55-92 or e-mail:  
invetbio@yandex.ru.  
Information tel. +7 (812) 232-55-92

**The journal is based in 2009**  
Founder and Publisher: Private  
educational institution additional  
professional education Institute  
of Veterinary Biology

### GENETICS

**Varlamova M.I., Safina N.Yu., Shakirov Sh.K., Gaynutdinova E.R., Alimov A.M.**  
Holstein cattle leptin (LEP) gene polymorphism ..... 3

### IMMUNOLOGY

**Doronin M.I., Michalishin D.V., Starikov V.A., Lozovoy D.A., Borisov A.V.**  
Validation of the method for determining the concentration of the 146S  
immunogenic component of FMD virus in a vaccine by comparing  
the second derivative for the sigmoid amplification reaction ..... 7

**Ivanov Yu.V., Serdyuk G.N.**  
The role of immunological factors in the fertilizing ability of sows ..... 16

### EPIZOOTOLOGY

**Tambiev T.S., Solovyov N.A., Gak Yu.M., Tazayan A.N., Fedorov N.M.**  
Features of the manifestation of the infectious process and health measures  
for Marek's disease ..... 21

### CITOLOGY

**Guseva M.N., Doronin M.I., Michalishin D.V., Shevchenko M.A., Manin B.L.**  
Use of polyethylene glycol and Pluronic F-68 as a component of serum-free media  
for BHK-21/Susp/Ariah cell culture ..... 28

### PARASITOLOGY

**Pilip L.V., Byakova O.V.**  
Socially significant human helminthiases of the Kirov region ..... 34

### PHARMACOLOGY

**Golovina N.A., Engashev S.V., Goncharova M.N., Korsakova M.V., Safronov D.S.**  
Determination of acute toxicity of "Emicon" on fish ..... 40

**Krivko M.S., Tambiev T.S., Koshlyak V.V., Duletov E.G.**  
Comparative efficiency of hepatoprotective treatment plans of dogs in associative course  
of leptospirosis and babesiosis ..... 44

**Polskikh S.V., Gryzlov V.A.**  
Vermiculite in veterinary medicine as a precondition for animal productivity growth  
and offspring survival ..... 50

**Shulga I.S., Zhelyabovskaya D.A., Lavrushina L.A., Gorbacheva I.E.**  
Comparative evaluation of the effectiveness of drugs against large wax moth ..... 57

### VETERINARY AND SANITARY EXAMINATION

**Krupin E.O.**  
Correlation and regression analyzes in the diagnosis of metabolic disorders in lactating cows ..... 62

### PATHOLOGICAL ANATOMY

**Balabanova V.I., Kudriashov A.A.**  
Pathoanatomic changes in fattening pigs in diseases occurring with pneumonia ..... 66

**INFORMATION** ..... 72

### Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumskaya st., 3-5. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru  
Signed for press on 09.09.2020. Issue date: 21.09.2020. Printed at printing house SMG Print, Ltd.: 197101, Russia, Saint-Petersburg, Rentgena st., 1. Circ. 1000 pc.

Free price. The subscription index in catalogues: "Gazety. Journaly" ("Newspapers. Magazines") – 33184, "Pressa Rossii" ("Russian Press") – 29447.

The responsibility for reliability of the data presented in the articles is born by authors. Goods and services advertised in this magazine are properly certified. Editorial staff is not responsible for the content of any advertisements.  
© Private educational institution additional professional education Institute of Veterinary Biology, Saint-Petersburg, 2020

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10022

УДК 636.082.2:636.034

Ключевые слова: ген, аллель, полиморфизм, ПЦР, LEP, крупный рогатый скот, пептид, гормон.

Key words: gene, allele, polymorphism, PCR, LEP, cattle, peptide, hormone

<sup>1,2</sup>Варламова М. И., <sup>1</sup>Шакиров Ш. К., <sup>1</sup>Сафина Н. Ю.,<sup>1</sup>Гайнутдинова Э. Р., <sup>1</sup>Алимов А. М.

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЛЕПТИН ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ  
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА  
HOLSTEIN CATTLE LEPTIN (LEP) GENE POLYMORPHISM**

<sup>1</sup>Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение

Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

Адрес: 420059, Россия, Республика Татарстан, Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 48

*Tatar Scientific Research Institute of Agriculture — Subdivision of the Federal State Budgetary Institution of Science**«Kazan scientific center of the Russia Academy of Sciences»**Address: 420059, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, Orenburg tract st., 48*<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана»

Адрес: 420029, Республика Татарстан, Казань, ул. Сибирский тракт, д. 35

*N.E. Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine, Federal State Budgetary Institution of Higher Education**Address: 420029, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, Siberian tract st., 48*

Варламова Маргарита Игоревна, м. н. с. ТатНИИСХ – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, аспирант кафедры биохимии, физики и математики ФГБОУ ВО «Казанская ГАВМ им. Н. Э. Баумана».

E-mail: mvarlamova25@gmail.com

*Varlamova Margarita Igorevna, junior researcher of the TatSRIA - Subdivision of FIC KazanSC of RAS, postgraduate student of the Department of Biochemistry, Physics and Mathematics of the Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine. E-mail: mvarlamova25@gmail.com*

Сафина Наталья Юрьевна, н. с., к. б. н., E-mail: natysafina@gmail.com

*Safina Natalia Yurievna, Researcher, PhD of Biology. E-mail: natysafina@gmail.com*

Шакиров Шамиль Касымович, д. с.-х. н., профессор, гл. науч. сотрудник. E-mail: intechkorm@mail.ru

*Shakirov Shamil Kasymovich, Doctor of Agriculture, Professor, Chief Researcher. E-mail: intechkorm@mail.ru*

Гайнутдинова Эльза Равилевна, м. н. с. E-mail: elga120574@mail.ru

*Gaynutdinova Elza Ravilevna, Junior Researcher. E-mail: elga120574@mail.ru*

Алимов Азат Миргасимович, д. в. н., профессор. E-mail: azat36alimov@mail.ru

*Alimov Azat Mirgasimovich, Doctor of Veterinary, Professor. E-mail: azat36alimov@mail.ru*

**Аннотация.** Цель данного исследования состояла в том, чтобы изучить полиморфизм гена лептин (LEP) во 2-ом экзоне 4 хромосомы крупного рогатого скота голштинской породы. В исследуемой популяции животных (228 голов) методом полимеразной цепной реакции были идентифицированы все возможные полиморфные варианты аллелей и генотипов гена лептин. Частота встречаемости аллелей С и Т у представленного гена составила: 0,570 и 0,430 соответственно. Наблюдаемое распределение генотипов было следующим: ТТ – 18,4 %; ТС – 49,1 %; СС – 32,5 %, что говорит о полиморфности популяции. Полученные данные указывают на разнообразие генетической структуры голштинской популяции крупного рогатого скота Республики Татарстан. В изучаемом поголовье генетическое равновесие не нарушено. Распределение генотипов совпадает с результатами других исследователей.

**Summary.** The purpose of this article was to study the leptin (LEP) gene polymorphism in the 2nd exon of chromosome 4 of Holstein cattle. In the studied animal population (228 animals), all possible polymorphic variants of alleles and genotypes of the leptin gene were identified by polymerase chain reaction. The frequency of occurrence of alleles C and T in the presented gene was: 0.570 and 0.430, respectively. The observed distribution of genotypes was as follows: TT – 18.4 %; TC – 49.1 %; CC – 32.5 %, which indicates that the population is polymorphic. The obtained data indicate the diversity of the genetic structure of the Holstein population of the Republic of Tatarstan. In the studied population, the genetic balance is not disturbed. The distribution of genotypes coincides with the results of other researchers.

## Введение

Генетический полиморфизм представляет собой важную составляющую генетической характеристики популяции. Для анализа генетического полиморфизма могут применяться различные аналитические методы. Наиболее чувствительным и перспективным является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Преимущество этого ДНК-анализа заключается в том, что можно определить генотип животного независимо от пола, возраста и физиологического состояния, что является важным фактором в селекционной работе [8].

Лептин — пептидный гормон, выполняющий ключевую роль в энергетическом обмене, а также регулирующий нейроэндокринные процессы в организме. Физиологической задачей лептина является увеличение затрат энергии и синтез макроэргических молекул. Синтезируется и секретируется в жировых клетках и передает в гипоталамус информацию о липидном обмене. Структурно лептин представляет собой протеин, состоящий из 167 аминокислот и включающий 21 аминокислотную последовательность [10].

У крупного рогатого скота ген LEP картирован на 4 хромосоме и имеет 3 экзона и 2 интрона [2]. В качестве потенциальных маркеров молочной и мясной продуктивности можно рассматривать аллели гена лептина [3].

Целью работы является изучение полиморфизма гена лептин во 2-ом экзоне 4 хромосомы у голштинской породы крупного рогатого скота.

## Материалы и методы

Исследования были выполнены в высокотехнологичном роботизированном молоч-

ном комплексе КФХ «Мухаметшин 3. 3.» Сабинского района Республики Татарстан и в отделе агробиологических исследований Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства — обособленного структурного подразделения федерального исследовательского центра Российской академии наук. Для опыта по изучению гена LEP была использована кровь 228 коров голштинской породы. ДНК экстрагировали набором «АмплиПрайм» ДНК-сорб-В (Некст Био, Россия) в соответствии с инструкцией. Животных генотипировали методом АС ПЦР (аллель специфическая полимеразная цепная реакция). На одну пробу реакционной смеси было взято: ДНК 2 мкл, dNTPs 2мкл; Taq ДНК 0,2 мкл, Taq буфер 2 мкл (СибЭнзим, Россия). Общий объем 1 пробы 20 мкл.

Для анализа полиморфизма гена LEP применяли комплект праймеров (СибЭнзим, Россия):

5'-GACGATGTGCCACGTGTGGTTTCTTCTGT-3' и

5'-CGGTTCTACCTCGTCTCCCAGTCCCTCC-3',

5'-TGTCTTACGTGGAGGCTGTGCCCAGT-3'

для аллеля Т и

5'-AGGGTTTTGGTGTATCCTGGACSTTTCG-3'

для аллеля С. [9]

Реакционную смесь амплифицировали при помощи оборудования 100 Thermal Cycler (BioRad, США), с установленными температурно-временными режимами: денатурация в течение 5 мин при температуре 94 °С, затем 40 циклов отжига 94 °С – 10 сек, 60 °С – 10 сек, 72 °С – 10 сек и элонгация 72 °С – 5 мин.

Электрофоретическое разделение проводилось в 2,6 % агарозном геле, содержащем бромид этидиума и 1\*ТВЕ буфер в течение 25 минут.

Таблица 1

Частота встречаемости аллелей и генотипов гена LEP (N=228)

Распределение	Генотипы						Аллели		$\chi^2$
	ТТ		ТС		СС		Т	С	
	n	%	n	%	n	%			
Наблюдаемое	42,0	18,4	112,0	49,1	74,0	32,5	0,430	0,570	0,001
Ожидаемое	42,1	18,5	111,8	49,0	74,1	32,5			

Визуализацию осуществляли в УФ-трансиллюминаторе, фиксацию и документирование в системе Gel&Doc (Bio-Rad, США).

Для расчета вариабельности генотипов применяли формулу Г. Н. Шангина-Березовского, а для аллелей – формулу Е. К. Меркурьевой [4], генетическое равновесие устанавливали согласно закону Харди-Вайнберга. Оценку значимости различий между фактическим и ожидаемым распределением генотипов определяли по методу хи-квадрата Пирсона ( $\chi^2$ ).

### Результаты исследований

В результате ПЦР-диагностики по локусу гена LEP были обнаружены 2 аллеля и 3 генотипа, имеющие следующую длину пар нуклеотидов: СС – 131, 239; ТС – 136, 164, 239; ТТ – 164, 239. Частота аллеля Т составила 0,430 и аллеля С – 0,570 (Таблица 1). Генотипы распределились следующим образом: ТТ – 42 особи (18,4 %); ТС – 112 особей (49,1 %); СС – 74 особи (32,5 %), что говорит о полиморфности популяции. Статистически значимых отклонений в анализируемой популяции между наблюдаемым и ожидаемым распределением генотипов, оцененных по закону Харди-Вайнберга, не обнаружено. Изучаемое поголовье крупного рогатого скота по гену-кандидату LEP находилось в генетическом равновесии,  $\chi^2$  не превышает значения 0,001 при допустимом критическом значении 6,0 ( $\chi^2 < \chi^2_{\text{крит}}$ ;  $\chi^2_{\text{крит}} = 6,0$ ).

### Обсуждение результатов

Похожая тенденция наблюдается в исследованиях ряда авторов, высокая частота аллеля С преобладает над аллелем Т и варьирует от 0,530–0,680. В работах исследователей голштинского скота в Республике Татарстан составила: 0,580 [6], 0,590 [8], 0,680 [1]; у холмогорской породы – 0,530 [7], казахская белоголовая – 0,630 [5], Вагю и Лимузин – 0,680 [11]. Указанные результаты схожи с данными, полученными нами. По сообщению ученых, изучавших полиморфизм гена LEP в различных популяциях крупного рогатого скота, частота аллеля Т колеблется от 0,320–0,470. Анализ структур популяций показал следующую частоту встречаемости: у голштинского скота Татарстана – 0,320 [1], 0,410 [8], 0,420 [6], Вагю и Лимузин – 0,321 [11],

казахской белоголовой – 0,370 [5], холмогорской – 0,470 [7]. Что касается генотипа ТС, он был наиболее часто встречающимся в популяции крупного рогатого скота всех изучаемых пород, в том числе и в нашем исследовании. Из 228 исследуемых животных генотип ТС идентифицирован у 112 (49,1 %). В меньшей степени выявлен генотип ТТ и установлен у 42 особей (18,4 %) в популяции.

### Заключение

В результате генотипирования голштинской породы крупного рогатого скота был установлен полиморфизм гена LEP. Частота встречаемости аллеля Т – 0,430, аллеля С – 0,570. Генотипы ТТ, ТС, и СС – 18,4 %, 49,1 % и 32,5 % соответственно. В изучаемом поголовье генетическое равновесие не нарушено. Распределение генотипов совпадает с результатами других исследователей. Такой незначительный разброс, вероятно, связан с результатом селекционной работы. Для более полного анализа необходимо провести ряд опытов по изучению биоразнообразия на большем числе животных.

Статья подготовлена в рамках государственного задания «Мобилизация генетических ресурсов растений и животных, создание новаций, обеспечивающих производство биологически ценных продуктов питания с максимальной безопасностью для здоровья человека и окружающей среды». Номер регистрации: АААА-А18-118031390148-1.

### Список литературы

1. Зиннатов Ф.Ф. Взаимосвязь полиморфизма генов липидного обмена (lep, tg5) с молочной продуктивностью крупного рогатого скота / Ф.Ф. Зиннатов, А.Р. Шамсова, Ф.Ф. Зиннатов, Т.М. Ахметов и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2017. № 231. С. 72–75.
2. Калашникова Л.А. Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота / Л.А. Калашникова и др. // Лесные Поляны: ВНИИплем, 2015. 35 с.
3. Ковалюк Н.В. Использование полиморфизма локуса лептина в селекции крупного рогатого скота айрширской породы / Н.В. Ковалюк, В.Ф. Сацук, А.Е. Волченко, Е.В. Мачульская и др. // Молочное и мясное скотоводство. 2014. № 6. С. 13–15.
4. Меркурьева Е.К. Генетика с основами биометрии / Е.К. Меркурьева, Г.Н. Шангин-Березовский. М.: Колос, 1983. 400 с.

5. Молдакаримов А. Изучение полиморфизма гена лептина (LEP) при экспериментальном моделировании эндокринных нарушений у телят казахской белоголовой породы / А. Молдакаримов, Б.А. Буралхив // Журнал КазНАУ «Исследования и результаты». 2015. № 1–1. С. 157–161.

6. Сафина Н.Ю. Ассоциация полиморфизма гена-кандидата лептин с энергией роста и физическим развитием голштинского крупного рогатого скота / Н.Ю. Сафина, Ю.Р. Юльметьева, Т.М. Ахметов и др. // Ветеринарный врач. 2017. № 6. С. 52–56.

7. Тюлькин С.В. Влияние породы и генотипа по гену лептина на молочную продуктивность и качество молока коров. / С.В. Тюлькин, Р.Р. Шайдуллин, Х.Х. Гильманов и др. // Ветеринарный врач. 2019. № 3. С. 52–56.

8. Тюлькин С.В. Полиморфизм по генам соматотропина, пролактина, лептина, тиреоглобулина быков-про-

изводителей / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Э.Р. Валиуллина, Р.Р. Вафин // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16(4/2). С. 1008–1012.

9. Armstrong E. Molecular markers related to marbling in uruguayan creole cattle / E. Armstrong, F. Peñagaricano, R. Artigas, L. De Soto, C. Corbi, S. Llambí, G. Rincón, A. Postiglioni // Archivos de Zootecnia. 2011. Vol. 60(231). P. 707–716.

10. Komisarek, J. Impact of LEP and LEPR gene polymorphisms functional traits in Polish Holstein Friesian cattle / J. Komisarek // Animal Science Paper and Reports. 2010. Vol. 10. P. 133–141.

11. Wu, X.-L. Evaluation of candidate gene effects for beef backfat via Bayesian model selection / X.-L. Wu, M.D. MacNeil, S. De // Genetica. 2005. Vol. 125. P. 103–113. DOI 10.1007/s10709-005-5255-1.

## АППАРАТ ДЛЯ ИМПУЛЬСНОЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ТЕРАПИИ «УМИ-05»

На протяжении многих лет клиника БНПЦ ЧИН и Институт Ветеринарной Биологии (Санкт-Петербург) используют в своей практике уникальный прибор – генератор низкочастотного магнитного импульсного излучения большой мощности «УМИ-05» (ранее «УИМТ-2», «УИМТ-3»). Данный прибор применяется для моноили комплексной терапии целого ряда болезней, которые ранее считались неизлечимыми или очень тяжело поддавались лечению.

### Основные направления применения «УМИ-05»

- Болезни мочевой системы: мочекаменная болезнь, пиелонефрит, поликистоз, цистит.
- Желчекаменная болезнь.
- Болезни опорно-двигательного аппарата: остеохондроз позвоночника, дископатия, артрозо-артриты, бурсит, растяжение связок, ушибы, контрактуры суставов, миозит.
- Купирование эпилептических приступов и эпилептического статуса.
- Гипертензия.
- Отит гнойный.
- Отит аллергический.

### Стандартный курс лечения

- 10 сеансов по 30–50 импульсов на одну патологическую область. Мощность 50–80 %.
- Курс можно повторить с перерывом в 10 дней.
- Профилактический курс для животных группы риска (остеохондроз, МКБ и пр.) – 7–10 сеансов с интервалом 6 месяцев.
- Применение прибора не вступает в противоречие с использованием фармакологических и хирургических методов лечения.
- Магнитотерапию не следует проводить на области тела, содержащей металлоконструкции (например, штифты или пластины для остеосинтеза).

### Экономика

- Быстрая окупаемость прибора.
- Минимальная затрата рабочего времени: длительность одного сеанса на одну патологическую зону – 2–3 минуты.
- Высокая эффективность лечения, полное излечение или введение животного в стойкую ремиссию по всем перечисленным болезням гарантируют значительное увеличение рейтинга клиники в целом и приток новых клиентов.



Стоимость прибора 27000 рублей

Заказать УМИ - 05 можно по тел./факсу: (812) 927-55-92 доб 208; (812) 612-13-34 доб. 208 или по e-mail: [ivb-info@mail.ru](mailto:ivb-info@mail.ru). подробности на сайте: [www.invetbio.spb.ru](http://www.invetbio.spb.ru)

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10023

УДК 619:616.98:578.835.2:615.371

Ключевые слова: 146S иммуногенный компонент вируса ящура, вакцина, реакция амплификации, вторая производная, валидация

Keywords: 146S immunogenic component of foot and mouth disease virus, vaccine, second derivative, real time RT-PCR, validation

Доронин М.И., Михалишин Д.В., Стариков В.А., Лозовой Д.А., Борисов А.В.

**ВАЛИДАЦИЯ СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ 146S  
ИММУНОГЕННОГО КОМПОНЕНТА ВИРУСА ЯЩУРА В ВАКЦИНЕ  
ПРИ СРАВНЕНИИ ГРАФИКОВ ВТОРОЙ ПРОИЗВОДНОЙ ДЛЯ СИГМОИД  
РЕАКЦИИ АМПЛИФИКАЦИИ**

*VALIDATION OF THE METHOD FOR DETERMINING THE CONCENTRATION  
OF THE 146S IMMUNOGENIC COMPONENT OF FMD VIRUS IN A VACCINE BY COMPARING  
THE SECOND DERIVATIVE FOR THE SIGMOID AMPLIFICATION REACTION*

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

*Federal Centre for Animal Health, Federal Governmental Budgetary Institution*

*Address: 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets*

Доронин М. И., к. б. н., стар. науч. сотрудник. E-mail: doronin@arriah.ru.

*Doronin M. I., PhD in Biological Science, Senior Researcher. E-mail: doronin@arriah.ru*

Михалишин Д. В., к. в. н., зав. лабораторией. E-mail: mihalishindv@arriah.ru

*Michalishin D. V., PhD in Veterinary Science, Head of the Laboratory. E-mail: mihalishindv@arriah.ru*

Стариков В. А., к. в. н., вед. науч. сотрудник. E-mail: starikov@arriah.ru

*Starikov V. A., PhD in Veterinary Science, Leading Researcher. E-mail: starikov@arriah.ru*

Лозовой Д. А., д. в. н., зам. директора, доцент. E-mail: lozovoy@arriah.ru

*Lozovoy D.A., Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Deputy Director for Research and Development. E-mail: lozovoy@arriah.ru*

Борисов А. В., к. в. н., вед. науч. сотрудник. E-mail: borisov@arriah.ru

*Borisov A. V., PhD in Veterinary Science, Leading Researcher. E-mail: borisov@arriah.ru*

**Аннотация.** В данной статье представлена оценка основных валидационных характеристик методики опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура при сравнении графиков второй производной для кривых обратнотранскриптазной полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) с применением квадратичной функции  $C_{146S\text{ ВЯ}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$ . Диапазон применения ОТ-ПЦР-РВ составил 0,05–14,75 мкг/см<sup>3</sup>. При тестировании вирусосодержащего материала с концентрациями 146S компонента от 0,05 до 5,00 мкг/см<sup>3</sup> валидируемая методика характеризуется высокой специфичностью ( $e$  составляет 0,2–5,0%), а также высокой прецизионностью в условиях сходимости и воспроизводимости. При оценке линейности и правильности доказано, что валидируемая методика дает свободные от ошибки результаты с высоким коэффициентом корреляции ( $r=0,9965$ ,  $r \rightarrow 1$ ) и степенью достоверности ( $R^2=0,993$ ,  $R^2 \rightarrow 1$ ). Результаты валидации ОТ-ПЦР-РВ удовлетворяют всем критериям приемлемости. Исходя из этого, предложенная методика является достоверной и может быть использована для опосредованной количественной оценки 146S иммуногенного компонента вируса ящура в неинактивированном сырье для вакцины.

**Summary.** This article presents an assessment of the main validation characteristics of the method of mediated concentration of 146S component of foot and mouth disease virus when comparing the graphs of the second derivative for real-time RT-PCR curves using a quadratic function  $C_{146S\text{ FMDV}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$ . The range of application of real-time RT-PCR was 0.05–14.75  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ . When testing a virus-containing material with concentrations of 146S component from 0.05 to 5.00  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ , the validated method is characterized by high specificity ( $e$  is 0.2–5.0%), as well as high precision under convergence conditions and under reproducibility conditions. When assessing linearity and correctness, it was proved that the validated method gives error-free results with a high correlation coefficient ( $r = 0.9965$ ,  $r \rightarrow 1$ ) and a degree of confidence ( $R^2 = 0.993$ ,  $R^2 \rightarrow 1$ ). Validation results of real-time RT-PCR satisfy all eligibility criteria. Based on this, the proposed method is reliable and can be used for indirect quantitative assessment of the 146S immunogenic component of foot and mouth disease virus in unactivated raw materials for the vaccine.

## Введение

При изготовлении вакцин в области ветеринарии промежуточное сырье и выпускаемая продукция проходит тщательный многоступенчатый контроль в соответствии с требованиями системы обеспечения качества.

В процессе производства вакцин против ящура одним из этапов технологического контроля сырья является определение концентрации 146S компонента вируса ящура, полученного в суспензионной перевиваемой культуре клеток из почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21/SUSP/ARRIAN) [7]. 146S, или полные частицы обладают важнейшими биологическими свойствами вируса ящура и являются основными компонентами, определяющими иммуногенность вакцинных препаратов [8]. Традиционно для определения данного показателя вакцины применяли реакцию связывания комплемента в модификации А.Ф. Бондаренко. Одним из новых способов опосредованной оценки концентрации 146S компонента вируса ящура в неинaktivированной суспензии для изготовления вакцины является сравнение максимальных экстремумов графиков второй производной ( $C_p$ ) сигмоидных накопления флуоресцентного сигнала. Зависимость между количествами 146S частиц неинaktivированного вируса ящура и максимальными экстремумами графиков второй производной кривой накопления флуоресцентного сигнала отражают в виде квадратичной функции  $C_{146S\text{ВЯ}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$  с достоверностью аппроксимации 99,3 %. Данный способ является высокочувствительным и высокоспецифичным, позволяет анализировать большое количество образцов за 4–5 ч.

Оценку пригодности представленного способа проводят на основе результатов валидации, предполагающей определение специфичности, правильности, прецизионности, диапазона применения и линейности аналитической методики, а также предела обнаружения и количественного определения 146S компонента [5].

Специфичностью данной методики считается возможность однозначно опосредованно определять концентрацию 146S

частиц вируса ящура в исследуемой суспензии при наличии в анализируемой пробе посторонних антигенных компонентов [4].

Для определения точности указанной методики раскрывают понятия правильности и прецизионности. Правильность — близость к эталонному среднему значению концентрации 146S компонента вируса ящура, полученного в результате большой серии экспериментов. Прецизионностью называют степень разброса значений максимальных экстремумов графиков второй производной кривых накопления сигнала флуоресценции между сериями измерений для множества проб, взятых из одного и того же образца в условиях, определенных методикой [2, 4]. Соответственно проводят анализ повторяемости результатов измерений в условиях сходимости и воспроизводимости, определяя абсолютные и относительные показатели вариации [9, 10, 11].

Предел обнаружения рассматриваемой методики — наименьшая концентрация 146S частиц вируса ящура, которые могут быть качественно детектированы [5]. Пределом количественного определения считается наименьшее значение концентрации 146S компонента вируса ящура, которое можно оценить количественно [3, 4, 5].

Для доказательства существования прямо пропорциональной зависимости значений  $C_p$  и концентрации 146S компонента вируса ящура в пределах аналитической области методики оценивают ее линейность [5]. Интервал между максимальным и минимальным значениями концентрации 146S частиц, в котором алгоритм определения аналитических частиц имеет приемлемый уровень прецизионности, правильности и линейности является диапазоном применения представленной методики [5, 9].

Цель исследования заключалась в оценке валидационных показателей методики опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура в вакцине при сравнении максимальных экстремумов графиков второй производной сигмоидных накопления флуоресцентного сигнала в ОТ-ПЦР-РВ.



**Материалы и методы**

*Вирус ящура.* Для исследования применяли культуральный вирус ящура штаммов А/Забайкальский/2013, А/Турция/2006, А/Краснодарский/2013, О/Приморский/2014, О/Саудовская Аравия/2008, О/Чечено-Ингушский/1966, Азия-1/Таджикистан/2011, Азия-1/Пакистан/2018, САТ-2/Саудовская Аравия/2000, репродукцию которых осуществляли в суспензионной перевиваемой культуре клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAN.

*Определение концентрации 146S компонента в ОТ-ПЦР-РВ при анализе максимальных экстремумов графиков второй производной сигмоидных накопления флуоресцентного сигнала.* Оценку концентрации 146S частиц методом ОТ-ПЦР-РВ проводили на основе сравнительного анализа максимальных экстремумов графиков второй производной сигмоидных накопления флуоресцентного сигнала в соответствии с требованиями, описанными ранее [6].

*Реакция связывания комплемента (РСК).* Для определения концентрации 146S частиц вируса ящура применяли количественный вариант РСК, проведение которого осуществляли в соответствии с требованиями [1].

*Оценка специфичности методики.* Специфичность методики определяли по относительной погрешности ( $e$ ) результатов, полученных одновременно с использованием валидируемой методики ОТ-ПЦР-РВ и РСК [1]. Проводили исследование 9 модельных смесей культурального вируса ящура, которые содержали разное количество 146S частиц в смеси с 75S, 12S и 3,8S компонентами [7]. Фракционирование культурального вируса ящура на компоненты проводили с помощью ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы при 40 000 об./мин. [8]. Анализ осуществляли в 5 повторениях. Относительную погрешность находили по формуле:  $e = (C_{146S}^1 - C_{146S}) : C_{146S}$ , где  $C_{146S}^1$  – концентрация 146S компонента вируса ящура по результатам ОТ-ПЦР-РВ,  $C_{146S}$  – концентрация 146S компонента по данным РСК. Специфичность методики считали высокой при  $e \leq 5\%$  [4, 5].

*Оценка правильности методики.* Для исследования правильности методики про-

водили анализ 350 проб культурального вируса ящура с известными значениями титра в ОТ-ПЦР-РВ. Данные были представлены в виде уравнения линейной зависимости между экспериментально найденными в ОТ-ПЦР-РВ ( $y$ ) и истинными значениями концентрации 146S компонента ( $x$ ):  $y = k \cdot x + b$ . Для полученной функции проверяли гипотезы о тождестве тангенса угла наклона ( $k$ ) единице и равенстве свободного члена ( $b$ ) нулю. При доказательстве верности указанных гипотез со степенью надежности, равной 0,05, использование валидируемой методики дает свободные от ошибки результаты [2, 5].

*Оценка прецизионности методики.* Для исследования прецизионности методики ОТ-ПЦР-РВ в условиях сходимости и воспроизводимости рассчитывали абсолютные и относительные показатели вариации [4, 5, 9].

*Определение абсолютных показателей вариации.* Размах вариации ( $R$ ) оценивали как разность между наибольшим и наименьшим значениями  $C_p$ :  $R = C_{p_{\max}} - C_{p_{\min}}$ . Индивидуальное линейное отклонение ( $d_i$ ) рассчитывали по формуле:  $d_i = |C_{p_i} - C_{p_{cp}}|$ . Среднее линейное отклонение ( $d_{cp}$ ) рассчитывали как среднее арифметическое из индивидуальных линейных отклонений по формуле:  $d_{cp} = \sum |d_i| : N$ , где  $d_i$  – индивидуальные линейные отклонения пороговых циклов амплификации,  $N$  – объем совокупности. Оценку дисперсии ( $\delta^2$ ) показателей проводили с использованием формулы:  $\delta^2 = (\sum d_i^2) : N$ . Для характеристики размеров вариации  $C_i$  рассчитывали среднее квадратичное отклонение ( $\delta$ ), пользуясь формулой:  $\delta = \sqrt{\delta^2}$  [3, 11].

*Определение относительных показателей вариации.* Расчет коэффициента осцилляции ( $V_R$ ) проводили, пользуясь формулой:  $V_R = R : C_{p_{cp}} \cdot 100$ . Линейный коэффициент вариации ( $C_d$ ) рассчитывали по формуле:  $C_d = d_{cp} : C_{p_{cp}} \cdot 100$ . Для оценки колеблемости индивидуальных значений пороговых циклов амплификации определяли коэффициент вариации ( $C_\delta$ ) по формуле:  $C_\delta = \delta : C_{p_{cp}} \cdot 100$  [10, 11]. Метод считают надежным при  $C_\delta < 2\%$  в условиях сходимости и  $C_\delta < 3\%$  в условиях воспроизводимости [9].

*Расчет нижнего предела обнаружения концентрации 146S компонента вируса ящура (ПО<sub>C146S</sub>).* Наименьшую концентрацию 146S компонента вируса ящура с использованием валидируемой методики находили по формуле:  $ПО_{C146S} = 3,3 \cdot S_b : k$ , где  $S_b$  – стандартное отклонение аналитического сигнала, которое соответствует стандартному отклонению свободного члена (b); k – тангенс угла наклона [3, 4, 10]. Свободный член b находили при анализе 5 модельных образцов с концентрациями 146S частиц вируса ящура: 0,001; 0,01; 0,10; 0,50; 1,00 мкг/см<sup>3</sup>.

*Вычисление предела количественного определения концентрации 146S компонента вируса ящура (ПКО<sub>C146S</sub>).* Минимальное значение концентрации 146S компонента вируса ящура, определенное с соответствующей правильностью и прецизионностью валидируемой методики, рассчитывали, применяя формулу [10, 11]:  $ПКО_{C146S} = 10 \cdot S_b : k$ . Полученное значение ПКО<sub>C146S</sub> подтверждали экспериментально при исследовании 5 модельных суспензий вируса ящура с концентрациями 146S компонента, близкими к найденному значению предела количественного определения: 0,015; 0,030; 0,045; 0,050; 0,100 мкг/см<sup>3</sup>. Анализ проводили в 5 повторениях. Результаты исследования считали статистически достоверными при  $p < 0,005$ .

*Определение диапазона применения методики.* Для исследования аналитической области валидируемой методики исследовали 8 модельных образцов со следующими значениями концентрации 146S частиц вируса ящура: 0,05; 0,50; 2,00; 5,00; 10,00; 14,00; 14,75; 15,00 мкг/см<sup>3</sup> в 5 повторениях.

*Определение линейности методики.* Существование линейной зависимости порогового цикла амплификации и концентрации 146S компонента вируса ящура в пределах диапазона применения методики проверяли в экспериментально, определяя  $C_t$  для 50 проб с различными концентрациями 146S частиц в 5 повторениях. Полученные данные обрабатывали методом наименьших квадратов с использованием регрессии вида:  $C_t = k \cdot C_{146S} + b$ , где k – угловой коэффициент; b – свободный член. Достоверность результатов анализа подтверждали, вычисляя коэф-

фициент корреляции (r), который по модулю должен быть  $\geq 0,99$  [3, 4, 10].

## Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования определяли специфичности валидируемой методики для опосредованной оценки концентрации 146S компонента вируса ящура в сырье для вакцины при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ. Подготавливали 9 модельных образцов, добавляя к суспензиям 146S частиц, определяющих иммуногенность вакцины [7, 8], смесь 75S, 12S и 3,8S компонентов для выявления возможного их влияния на специфичность данной методики. Состав модельных образцов, а также результаты определения относительной погрешности (e) при исследовании в ОТ-ПЦР-РВ представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что относительная погрешность опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура с помощью валидируемой методики при содержании 146S частиц 5,00 – 4,00; 4,00 – 3,00; 3,00 – 2,00; 2,00 – 1,00; 1,00 – 0,50; 0,50 – 0,10; 0,10 – 0,05 мкг/см<sup>3</sup> составляла 0,20 – 1,50; 0,25 – 1,67; 0,35 – 2,00; 0,50 – 2,00; 1,00 – 3,12; 2,00 – 3,54; 3,00 – 5,00 %, соответственно. Таким образом, отмечали высокую специфичность методики для суспензий с концентрациями 146S частиц вируса ящура от 5,00 до 0,05 мкг/см<sup>3</sup>, при исследовании которых относительная погрешность не превышала 5%. В исследовании не анализировали пробы с концентрациями 146S компонента более 5,00 мкг/см<sup>3</sup>, поскольку в неинaktivированных суспензиях культурального вируса ящура содержание не превышает данного значения.

Следующий этап исследования посвящен оценке правильности валидируемой методики, тестируя в ОТ-ПЦР-РВ 350 проб вируса ящура с концентрациями 146S компонента: 0,10; 0,50; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00; 5,00 мкг/см<sup>3</sup> (по 50 проб на каждую концентрацию). Результаты исследования представлены на рисунке 1 в виде линейной функции  $y = 0,9963 \cdot x + 0,0149$ , которая при степени достоверности ( $R^2$ ) 0,9994, подтверждает, что тангенс угла наклона (k) стремится к единице

**Оценка специфичности методики опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура в сырье для вакцины при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ (n=5, M±m)**

№ смеси	Состав модельной смеси			Относительная погрешность (e) при измерении концентрации 146S частиц в сырье для вакцины методом ОТ-ПЦР-РВ, %
	название компонента	содержание компонента в смеси, %	концентрация 146S компонента, мкг/см <sup>3</sup>	
1	146S	100	5,00	0,20±0,65
	75S+12S+3,8S	0		
2	146S	80	4,00	0,25±1,50
	75S+12S+3,8S	20		
3	146S	60	3,00	0,35±1,67
	75S+12S+3,8S	40		
4	146S	40	2,00	0,50±2,00
	75S+12S+3,8S	60		
5	146S	20	1,00	1,00±2,00
	75S+12S+3,8S	80		
6	146S	10	0,50	2,00±3,12
	75S+12S+3,8S	90		
7	146S	2	0,10	3,00±3,54
	75S+12S+3,8S	98		
8	146S	1	0,05	4,00±5,00
	75S+12S+3,8S	99		
9	146S	0,5	0,025	-*
	75S+12S+3,8S	99,5		

Примечание: \* Ср превышают предельное значение, позволяющее применять функцию  $C_{146S\text{ ВЯ}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$ .

(k = 0,9963), а свободный член (b) – к нулю (b = 0,0149). Таким образом, применение валидируемой методики позволяет получать достоверные результаты.

На следующем этапе проводили оценку прецизионности методики опосредованного определения концентрации 146S частиц вируса ящура в сырье для вакцины при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ с расчетом абсолютных и относительных показателей вариации.

Прецизионность в условиях сходимости определяли по варибельности результатов реакции внутри одного исследования 5 суспензий культурального вируса ящура с концентрациями 146S компонента: 0,10; 1,00; 2,00; 3,00; 5,00 мкг/см<sup>3</sup>, которые одновременно тестировал один оператор на одном

анализирующем термоциклере в 20 повторениях. Результаты статистического анализа полученной совокупности максимальных экстремумов сигмоидных ОТ-ПЦР-РВ ( $C_p$ ) отражены в таблице 2, из данных которой следует, что размах вариации составил 0,04–0,29, среднее линейное отклонение – 0,008–0,045, иными словами, уровень вариации  $C_p$  в полученных выборках при указанных значениях концентрации 146S частиц вируса ящура относительно средней величины признака низкий. Коэффициент дисперсии находился в диапазоне 0,000–0,004, среднее квадратичное отклонение составило 0,011–0,063, что подтверждает незначительную степень отклонений индивидуальных значений  $C_p$  от среднего арифметического ( $C_{p\text{ ср}}$ ). Таким образом, колеблемость индивидуальных

значений в выборках низкая, а значения  $Sr$  представляют собой надежную совокупность.

Для оценки колеблемости полученных значений  $Sr_j$  внутри генеральной совокупности определяли относительные показатели вариации. Коэффициент осцилляции составлял 0,208–0,981%, иными словами, относительное изменение крайних значений  $Sr_j$  по сравнению со средней величиной во всех выборках низкое. Линейный коэффициент вариации находился в диапазоне 0,044–0,152 %, следовательно, доля усредненного значения отклонений от  $Sr_{cp}$  в каждой совокупности не значительна. Коэффициент вариации индивидуальных значений пороговых циклов амплификации составил 0,056–0,214 %, что соответствует общим требованиям, предъявляемым к валидируемым методикам ( $C_8 < 2\%$ ) [3, 4, 5, 10].

Таким образом, при исследовании суспензий вируса ящура с концентрациями аналита от 0,10 до 4,00 мкг/см<sup>3</sup> в 20 повторениях с помощью предложенной методики одним оператором получены однородные и надежные совокупности значений максимальных экстремумов графиков второй производной сигмоид ОТ-ПЦР-РВ, которые можно применять для опосредованного выражения концентрации 146S компонента вируса ящура.

Следующий этап работы был посвящен исследованию прецизионности валидируемой методики в условиях воспроизводимости. Для этого анализ суспензий культурального вируса ящура проводили два оператора в разное время в 20 повторениях (40 измерений для каждой пробы). Полученные результаты отражены в таблице 2, из которой следует, что для генеральной совокупности значений  $Sr$  размах вариации составил 0,07–0,66, среднее линейное отклонение ( $d_{cp}$ ) — 0,009–0,055, иными словами, степень колеблемости  $Sr_i$  в полученных выборках относительно среднего уровня признака низкая. Дисперсия составила 0,000–0,008, среднее квадратичное отклонение — 0,012–0,091, что подтверждает незначительную степень отклонений индивидуальных значений  $Sr$  от среднего арифметического и высокий уровень достовер-

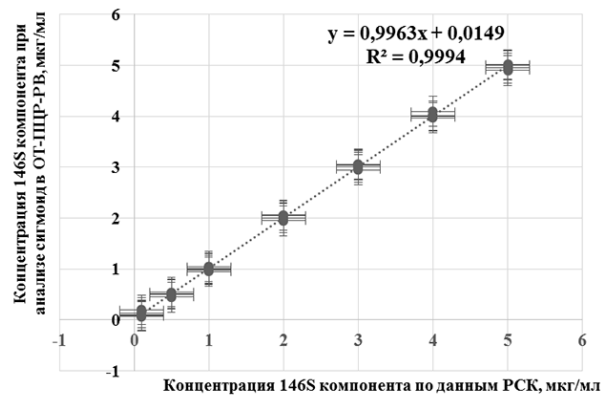


Рис. 1. Исследование правильности методики опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ (n=5)

ности результатов внутри каждой выборки максимальных экстремумов графика второй производной сигмоиды ОТ-ПЦР-РВ.

Исследуя относительные показатели вариации  $Sr_j$ , выявили, что коэффициент осцилляции составил 0,365–2,231 %, линейный коэффициент вариации — 0,045–0,185 %, коэффициент вариации — 0,064–0,185 %, что соответствует общепринятым нормам ( $C_8 < 3\%$ ) [3]. Исходя из полученных результатов, относительное изменение крайних значений  $Sr$  и доля усредненного значения абсолютных отклонений в сравнении со средним внутри каждой совокупности незначительна. Следует отметить, что вариация значений параметров валидации при исследовании суспензий вируса ящура с увеличением концентрации 146S компонента от 0,10 до 5,00 мкг/см<sup>3</sup> снижалась, а степень достоверности результатов возрастала.

В результате сравнительного анализа данных, полученных при оценке прецизионности валидируемой методики, доказали, что в условиях сходимости степень достоверности результатов опосредованного определения концентрации 146S частиц вируса ящура выше по сравнению с оценкой, проводимой в условиях воспроизводимости, что соответствует общепринятым статистическим ожиданиям [9]. По абсолютным и относительным показателям вариации валидируемая методика удовлетворяла критериям приемлемости [3, 9, 11].

На следующем этапе исследования определяли предел обнаружения (ПОС146S) и

Таблица 2

**Оценка прецизионности методики для опосредованного определения концентрации 146S частиц вируса ящура при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ (n=5)**

Валидационные показатели методики при оценке прецизионности	Значения показателей валидации при исследовании суспензий с разными концентрациями 146S частиц вируса ящура (мкг/см <sup>3</sup> )									
	условия сходимости					условия воспроизводимости				
	0,10	1,00	2,00	3,00	5,00	0,10	1,00	2,00	3,00	5,00
объем выборки $C_p$ (N)	20	20	20	20	20	40	40	40	40	40
среднее значение $C_p$ ( $C_{p,cp}$ )	29,569	27,078	24,811	22,811	19,198	29,579	27,066	24,802	22,779	19,197
суммарное значение индивидуального линейного отклонения по модулю ( $\sum  di $ )	0,896	0,844	0,630	0,354	0,168	2,192	2,424	1,932	1,818	0,342
суммарное значение квадрата модуля индивидуального линейного отклонения ( $\sum di^2$ )	0,080	0,054	0,042	0,010	0,002	0,329	0,226	0,197	0,154	0,006
наибольшее значение $C_p$ ( $C_{p,max}$ )	29,640	27,200	24,900	22,860	19,220	29,950	27,300	24,960	22,860	19,230
наименьшее значение $C_p$ ( $C_{p,min}$ )	29,350	27,000	24,690	22,770	19,180	29,290	26,980	24,650	22,600	19,160
размах вариации (R)	0,290	0,200	0,210	0,090	0,040	0,660	0,320	0,310	0,260	0,070
среднее линейное отклонение ( $d_{cp}$ )	0,045	0,042	0,031	0,018	0,008	0,055	0,061	0,048	0,045	0,009
дисперсия ( $\delta^2$ )	0,004	0,003	0,002	0,001	0,000	0,008	0,006	0,005	0,004	0,000
среднее квадратичное отклонение ( $\delta$ )	0,063	0,052	0,046	0,023	0,011	0,091	0,075	0,070	0,062	0,012
коэффициент осцилляции ( $V_R$ ), %	0,981	0,739	0,846	0,395	0,208	2,231	1,182	1,250	1,141	0,365
линейный коэффициент вариации ( $C_d$ ), %	0,152	0,156	0,127	0,078	0,044	0,185	0,224	0,195	0,199	0,045
коэффициент вариации ( $C_\delta$ ), %	0,214	0,191	0,185	0,099	0,056	0,306	0,278	0,283	0,272	0,064

количественного определения (ПКО<sub>C146S</sub>) концентрации 146S компонента вируса ящура в сырье для вакцины с помощью валидируемой методики. Проведя исследования в 7 повторениях, получили следующие значения свободного члена (b): 20,444; 20,446; 20,447; 20,448; 20,449; 20,443; 20,446. Учитывая, что стандартное отклонение свободного члена (S<sub>b</sub>) составило 0,002, а тангенс угла наклона (k) был равен (-0,45), провели расчеты и определили, что ПО<sub>C146S</sub> данной методикой составил 0,01551 мкг/см<sup>3</sup> (или 15,51 нг/см<sup>3</sup>), а ПКО<sub>C146S</sub> – 0,047 мкг/см<sup>3</sup> (или 47 мкг/см<sup>3</sup>).

Рассчитанное значение ПКOC146S подтверждали экспериментально при исследовании 5 модельных образцов культурального вируса ящура с концентрациями 146S компонента: 0,015; 0,030; 0,045; 0,050; 0,100 мкг/см<sup>3</sup> в пяти повторениях. Результаты анализа отражены в таблице 3.

Из данных таблицы 3 следует, что экспериментальное значение ПКOC146S валидируемой методикой подтверждает расчеты и составляет 0,050 мкг/см<sup>3</sup>.

При исследовании 8 модельных образцов с концентрациями 146S компонента вируса

**Выявление предела количественного опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ (n=5, M±m)**

№ суспензии вируса ящура	Концентрация 146S частиц (C <sub>146S</sub> ), мкг/см <sup>3</sup>	Исследование суспензии в ОТ-ПЦР-РВ		Экспериментальное подтверждение, что теоретическое значение ПКО <sub>146S</sub> – 0,047 мкг/см <sup>3</sup>
		C <sub>p</sub>	концентрация 146S частиц (C <sub>146S</sub> ), мкг/см <sup>3</sup>	
1	0,015	31,56	-*	подтверждено
2	0,030	30,49	-	подтверждено
3	0,045	30,14	-	подтверждено
4	0,050	29,52	0,048	подтверждено
5	0,100	29,38	0,100	подтверждено

Примечание: «-» – концентрация 146S частиц не определена, так как значение максимального экстремума графика второй производной сигмоиды ОТ-ПЦР-РВ выходит за пределы функции  $C_{146S\text{ВЯ}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$ .

ящура: 0,05; 0,50; 2,00; 5,00; 10,00; 14,00; 14,75; 15,00 мкг/см<sup>3</sup> определили, что аналитическая область опосредованной оценки содержания 146S частиц при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ находилась в диапазоне 0,05-14,75 мкг/см<sup>3</sup> при значениях C<sub>p</sub> от 29,52±0,05 до 6,00±0,01, соответственно (n=5, p<0,005). При концентрациях 146S компонента более

14,75 мкг/см<sup>3</sup>, по всей видимости, по причине высокого содержания полных вирусных частиц предложенная квадратичная модель не позволяла проводить достоверный опосредованный количественный анализ (n=5, p>0,01). Определен нижний предел значения C<sub>p</sub>, который для разработанной модели

$C_{146S\text{ВЯ}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$  составил 29,65.

Таблица 4

**Оценка параметров валидации методики опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура в сырье для вакцины при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ**

Параметр валидации методики	Валидационный показатель	Значения показателей валидации методики при исследовании вируса ящура с разными концентрациями 146S компонента (мкг/см <sup>3</sup> )					
		0,05	0,10	0,50	1,0	3,0	5,0
специфичность	относительная погрешность (e), %	4-5	3-3,54	2-3,12	1,0-2,0	0,35-1,67	0,20-0,65
сходимость	среднее квадратичное отклонение (δ), %	н/и	0,063	н/и	0,052	0,023	0,011
	коэффициент вариации (C <sub>v</sub> ), %	н/и	0,214	н/и	0,191	0,099	0,056
воспроизводимость	среднее квадратичное отклонение (δ), %	н/и	0,091	н/и	0,075	0,062	0,012
	коэффициент вариации (C <sub>v</sub> ), %	н/и	0,306	н/и	0,278	0,272	0,064
линейность	коэффициент корреляции (r)	0,9965					
правильность	степень достоверности (R <sup>2</sup> )	0,9930					
	тангенс угла наклона (k)	0,9963					
	свободный член (b)	0,0149					
аналитическая область	диапазон опосредованного количественного определения, мкг/см <sup>3</sup>	0,05-14,75					

Примечание: н/и — не исследовали.

На заключительном этапе исследования проведена проверка линейной зависимости значения  $C_p$  и концентрации 146S компонента вируса ящура в пределах аналитической области методики, тестируя 50 вирусосодержащих суспензий с концентрациями аналита от 0,05 до 14,75 мкг/см<sup>3</sup> в пяти повторениях. В результате анализа получена квадратичная функция  $C_{146S\text{ вЯ}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$  с коэффициентом корреляции ( $r$ ), равным 0,9965, что позволяет судить о достоверности результатов статистического исследования.

### Заключение

Проведена оценка основных валидационных характеристик методики опосредованного концентрации 146S компонента вируса ящура при сравнении графиков второй производной для кривых ОТ-ПЦР-РВ с применением квадратичной функции

$C_{146S\text{ вЯ}} = 0,0111(C_p)^2 - 1,0157C_p + 20,446$  (таблица 4).

Выявлено, что диапазон применения ОТ-ПЦР-РВ составил 0,05–14,75 мкг/см<sup>3</sup>. При тестировании вирусосодержащего материала с концентрациями 146S компонента от 0,05 до 5,00 мкг/см<sup>3</sup> валидируемая методика характеризуется высокой специфичностью ( $\epsilon$  составляет 0,2–5,0 %), а также высокой прецизионностью в условиях сходимости, ( $\delta$  находилось в диапазоне 0,011–0,063%,  $\delta < 2\%$ ,  $C_\delta$  — 0,056–0,214%,  $C_\delta < 2\%$ ) и в условиях воспроизводимости ( $\delta$  составило 0,012–0,091%,  $\delta < 3\%$ ,  $C_\delta$  — 0,064–0,306%,  $C_\delta < 3\%$ ).

При оценке линейности и правильности доказано, что валидируемая методика дает свободные от ошибки результаты с высоким коэффициентом корреляции ( $r=0,9965$ ,  $r \rightarrow 1$ ) и степенью достоверности ( $R^2=0,993$ ,  $R^2 \rightarrow 1$ ).

Результаты валидации ОТ-ПЦР-РВ удовлетворяют всем критериям приемлемости.

Исходя из этого, предложенная методика является достоверной и может быть использована для опосредованной количественной оценки 146S иммуногенного компонента вируса ящура в неинaktivированном сырье для вакцины.

### Список литературы

1. Бондаренко А. Ф. Качественный и количественный иммунохимический анализ вирусных белков. / А. Ф. Бондаренко. Суздаль, 1994. 92 с.
2. Государственная фармакопея XII изд. Ч. 1. М., 2010. С. 254–266.
3. Ланг Т. А. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. / Т. А. Ланг, М. Сесик. М.: Практическая Медицина, 2011. 480 с.
4. Носырев П. ОАО «Ай Си Эн Лексредства» / П. Носырев, М. Носырева, Т. Рассказова, Н. Корнеева. // Практикум по GMP. Валидация аналитических методик: теория. URL: <http://www.nedug.ru/news/%d1> (Дата обращения 12.11.2018).
5. ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Фармакопея.ру. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0012-15-validatsiya-analiticheskikh-metodik>. (Дата обращения 12.01.2020).
6. Патент РФ № 2619878/13, 18.05.2017. Способ определения концентрации 146S-компонента вируса ящура в вирусосодержащем сырье для вакцины с применением метода обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // 2017. Бюл. №14. Лозовой Д. А., Доронин М. И., Михалишин Д. В. [и др.].
7. Пономарев А. П. Вирус ящура: структура, биологические и физико химические свойства. / А. П. Пономарев, В. Л. Узюмов, К. Н. Груздев. Владимир: Фолиант, 2006. 250 с.
8. Ререр Х. Ящур / Х. Ререр. Пер. с нем. Г. А. Сурковой; Под ред. и с предисл. канд. вет. наук П. В. Маляца. Москва: Колос, 1971. 432 с.
9. СТБ ИСО 5725-2002. «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений». Части 1–6. — 01.11.2002.
10. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 7th ed. Paris, 2018. — Ch. 3.1.8.
11. Vallat B. OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases. 2nd ed. Paris, France, 2008. 67 p.

<sup>1</sup>Иванов Ю. В., <sup>2</sup>Сердюк Г. Н.

## РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ОПЛОДОТВОРЯЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ СВИНОМАТОК

### THE ROLE OF IMMUNOLOGICAL FACTORS IN THE FERTILIZING ABILITY OF SOWS

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»  
Адрес: 196084, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5  
*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine»*  
*Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5*

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»  
Адрес: 196601, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Московское шоссе 55а  
*The All-Russian research institute of Farm Animals Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry*  
*Address: 196601, Russia, Saint-Petersburg, Pushkin, Moscow highway 55a*

Иванов Юрий Витальевич, ассистент кафедры патологической анатомии и судебно-ветеринарной медицины, кандидат ветеринарных наук. E-mail: ivanov0910@bk.ru  
*Ivanov Yurii Vitalievich, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Veterinary Medicine, Ph.D. of Veterinary Science. E-mail: ivanov0910@bk.ru*

Сердюк Григорий Николаевич, главный научный сотрудник лаборатории полиморфизма ДНК, доктор биологических наук, профессор. E-mail: labimmgen@mail.ru  
*Serdyuk Grigory Nikolaevich, Chief Researcher, Laboratory of DNA Polymorphism, Doctor of Biological Sciences, Professor. E-mail: labimmgen@mail.ru*

**Аннотация.** Изучено влияние иммунологических факторов, в частности аллоспермоантител, содержащихся в сыворотках крови и половых путях свиноматок, в их оплодотворяющей способности. Опыт проведен на 67 помесных свиноматках (йоркшир \* ландрас) и 27 хряках породы дюрок. У каждой свиноматки устанавливали наличие и титр аллоспермоантител к антигенам сперматозоидов 27 хряков. Было проанализировано 1809 сочетаний. У каждой из 67 исследованных свиноматок имелись аллоспермоантитела к антигенам сперматозоидов одного или нескольким хрякам с различной степенью агглютинации сперматозоидов. Более низкая оплодотворяемость наблюдается среди группы свиноматок, осемененных семенем хряков, к антигенам сперматозоидов которых у данных свиноматок имелись аллоспермоантитела с агглютинацией сперматозоидов от 31 до 60 % и выше.

**Summary.** *The influence of immunological factors, in particular, allosperm antibodies contained in blood sera and genital tract of sows, in their fertilizing ability was studied. The experiment was conducted on 67 crossbred sows (Yorkshire \* Landrace) and 27 Duroc boars. Each sow was determined by the presence and titer of allosperm antibodies to sperm antigens of 27 boars. 1809 combinations were analyzed. Each of the 67 studied sows had allosperm antibodies to sperm antigens of one or several boars with varying degrees of sperm agglutination. Lower fertility is observed among the group of sows, inseminated by boar semen to sperm antigens of which these sows had allosperm antibodies with sperm agglutination from 31 to 60 % and above.*

### Введение

При современной тенденции развития свиноводства очень актуальна проблема прогнозирования сочетаемости родительских пар. В практике племенной работы со свиньями, при одинаковых условиях кормле-

ния и содержания животных, специалисты достаточно часто сталкиваются с различной сочетаемостью родительских пар. Это подтверждается не только многочисленными случаями прохолостов и необходимости перекрытий свиноматок в благополучных от



инфекционных заболеваний стадах, но и фактами получения от лучших производителей и свиноматок пёстрого по своему развитию и продуктивности потомства. Всё это указывает на недостаточную изученность индивидуальной сочетаемости родительских пар.

В природе, как известно, эволюционно возникла и объективно существует половая избирательность. В условиях искусственного осеменения также существует половой отбор и осуществляется он иммунной системой репродуктивного тракта самок (К. Братанов [4], С. А. Боргуль и др. [2, 3]. В последние годы интерес к иммунной системе, ее роли в воспроизводстве животных значительно возрос. Появились публикации, указывающие на возможность влияния на гаметогенез иммуногенетических факторов, в частности аллоспермоантител, находящихся в сыворотке крови и секретах половых путей свиноматок (С. А. Боргуль и др. [2, 3], А. К. Никитин и др. [6]; И. К. Васильев [5]; О. В. Беляков, Г. Н. Сердюк [1] и др.). Однако механизм иммунной избирательности оплодотворения до сих пор остается нераскрытым. А поэтому проблема индивидуального подбора родительских пар остается чрезвычайно актуальной и по сей день.

### Материал и методы исследования

Работа по изучению роли иммунологических факторов в оплодотворяющей способности свиноматок проводилась в свинокомплексе ООО «Русбелго» Ленинградской области на помесных свиноматках (йоркшир \* ландрас) и хряках породы дюрок. В данном опыте было задействовано 67 голов свиноматок и 27 хряков. У всего подопытного поголовья была отобрана кровь: у свиноматок для получения сыворотки крови, у хряков на эритроциты. Кроме того, у хряков дополнительно брали сперму.

У свиноматок наличие и титр аллоспермоантител к антигенам сперматозоидов хряков определяли в лаборатории пункта искусственного осеменения данного хозяйства по следующей методике: на одну и другую половины предметного стекла, помещённого на столик с автоматическим подогревом, наносили по одной капле свежеполученного

семени хряка. В одну каплю семени вносили каплю сыворотки крови свиноматки, другая капля служила контролем. Оба образца накрывали покровным стеклом и проводили наблюдение за реакцией под микроскопом. Реакцию спермоагглютинации в опытном образце (с сывороткой крови свиноматки) сравнивали с контрольной каплей семени хряка.

Наличие и титр спермоантител в сыворотках крови свиноматок определяли путем подсчета количества агглютинирующих (склеенных) сперматозоидов. Склеивание сперматозоидов происходило головками или хвостиками. По этой методике устанавливали наличие и титр аллоспермоантител у всех 67-ми свиноматок к антигенам сперматозоидов каждого исследованного хряка (27 голов), т. е. было проанализировано 1809 сочетаний (67\*27).

Для изучения влияния аллоспермоантител на оплодотворяемость свиноматок были сформированы 3 опытные группы родительских пар в зависимости от степени агглютинации сперматозоидов подобранных к ним хряков. Первая группа – с агглютинацией сперматозоидов до 10 %, вторая группа – с агглютинацией сперматозоидов от 11 до 30 % и третья группа – с агглютинацией сперматозоидов в сыворотках крови свиноматок от 31 до 60 % и выше.

Влияние аллоспермоантител на избирательность оплодотворения устанавливали при осеменении свиноматок смешанной спермой от 2-х хряков с различной степенью агглютинации сперматозоидов: к антигенам сперматозоидов одного из них в сыворотке крови подопытной свиноматки имелись аллоспермоантитела с агглютинацией от 65 до 85 % сперматозоидов, тогда как к другому – не более 10 %. Перед смешиванием пары хряков предварительно проверялись на иммунологическую совместимость по той же методике, что и с сывороткой крови, с тем различием, что вместо сыворотки крови свиноматок использовали спермальную жидкость эякулята одного из хряков, предварительно её отцентрифугировав. Наличие и титр аллоспермоантител определяли путем постановки реакции агглютинации

между спермальной жидкостью одного хряка со сперматозоидами другого. Смешивали сперму и осеменяли свиноматок только иммунологически совместимыми друг с другом хряками (агглютинация семени одного хряка в спермальной жидкости другого не превышала 5–10 %).

Всё используемое в данном опыте поголовье свиней (12 свиноматок и 7 хряков) типировано по 40 антигенным факторам групп крови 9 генетических систем. У поросят полученных помётов отцовство устанавливали по группам крови. Кровь у поросят брали из хвостовой вены.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным общепринятым методикам с применением программного приложения Microsoft Excel 2010 и Statistic 7.0.

### Результаты исследования

Из 1809 сочетаний в 308 (17 %) в сыворотке крови свиноматок содержались аллоспермоантитела к антигенам сперматозоидов хряков с агглютинацией сперматозоидов не более 10 %. В 977 сочетаниях (54 %) в сыворотках крови свиноматок титр аллоспермоантител к антигенам сперматозоидов хряков был несколько выше, с агглютинацией сперматозоидов от 11 до 30 %. В 524 сочетаниях (29 %) у свиноматок содержались специфические аллоспермоантитела к антигенам сперматозоидов некоторых хряков в довольно высоком титре, с агглютинацией сперматозоидов от 31 до 60 % и выше (табл. 1).

Данные таблицы 1 показывают, что у каждой из 67 подопытных свиноматок (100 %) имелись аллоспермоантитела к антиге-

нам сперматозоидов одного или нескольких хряков с различной степенью агглютинации сперматозоидов.

Результаты изучения влияния аллоспермоантител на оплодотворяемость свиноматок показали, что более низкая оплодотворяемость наблюдается среди группы свиноматок, осеменённых семенем хряков, к антигенам сперматозоидов которых у данных свиноматок имелись аллоспермоантитела с агглютинацией сперматозоидов от 31 до 60 % и выше (табл. 2).

Процент оплодотворённых свиноматок в этой группе составил 72,7 %, что на 9,9 % ниже II-ой группы свиноматок, у которых имелись аллоспермоантитела, с менее значительным титром (с агглютинацией сперматозоидов от 11 до 30 %) и на 13,7 % ниже свиноматок с агглютинацией сперматозоидов, не превышающей 10 %.

Влияние аллоспермоантител на оплодотворяемость свиноматок довольно наглядно просматривается при их осеменении смешанной спермой от 2-х хряков с различной степенью агглютинации сперматозоидов (табл. 3).

Как показывают данные таблицы 3, наибольший процент новорожденных поросят (72,4 %) получены от хряков, к антигенам сперматозоидов которых у свиноматок имелись аллоспермоантитела в невысоком титре (с агглютинацией сперматозоидов не более 10 %). От хряков с высокой агглютинацией сперматозоидов (от 65 до 85 %) в каждом гнезде было не более 2-4 поросят. Всего от таких хряков в помётах 12 свиноматок оказалось только 35 голов или 27,6 %. Все это

Таблица 1

### Наличие аллоспермоантител в сыворотках крови свиноматок к антигенам сперматозоидов исследованных хряков

Варианты	Количество сочетаний	%
Исследовано сочетаний, всего	1809	100
Из них:		
с агглютинацией сперматозоидов не более 10 %	308	17,0
с агглютинацией сперматозоидов от 11 до 30 %	977	54,0*
с агглютинацией сперматозоидов от 31 до 60 % и выше	524	29,0*

Достоверность различий с 1 группой: \* $p \leq 0,05$

Таблица 2

**Влияние аллоспермоантител на оплодотворяемость свиноматок**

Группа	Варианты	Осеменено, гол	Опоросились	
			Гол.	%
I	с агглютинацией сперматозоидов не более 10 %	22	19	86.4
II	с агглютинацией сперматозоидов от 11 до 30 %	23	19	82.4
III	с агглютинацией сперматозоидов от 31 до 60 % и выше	22	16	72.7

указывает на то, что случайный подбор родительских пар с высокой степенью агглютинации сперматозоидов хряка может привести к прохолосту физиологически совершенно здоровых свиноматок.

**Заключение**

Результаты исследований позволяют по-новому понять значение иммунных факторов в воспроизводстве свиней и внести существенные изменения в селекционно-племенную работу. В условиях искусственного осеменения половой отбор осуществляется за счет аллоспермоантител репродуктивного тракта самок.

Установлено, что спермоантитела характеризуются серологическими свойствами, что свидетельствует об их иммунной природе. Это значит, что иммунная система в процессе воспроизводства не является пассивной в естественном отборе, а активно влияет на направленность микроэволюционного процесса. Своей комплементарностью аллоантител иммунная система у спариваемых особей контролирует антигенный полиморфизм гамет и органоспецифический полиморфизм новорожденного приплода, тем самым обуславливает направленность изменения антигенного полиморфизма в ряде поколений.

Таблица 3

**Избирательность оплодотворения при осеменении свиноматок смешанным семенем от 2-х хряков с различной степенью агглютинации сперматозоидов**

№ Свиноматок	№ хряка с агглютинацией сперматозоидов от 65 % и выше		№ хряка с агглютинацией сперматозоидов от 5 до 10 %		Кол-во родившихся поросят, всего	Происхождение			
	№ хряка	Агглютинация	№ хряка	Агглютинация		От отца с агглютинацией сперматозоидов от 65 % и выше		От отца с агглютинацией сперматозоидов от 5 до 10 %	
						Гол.	%	Гол.	%
3307	102	85 %	311	5 %	11	2	18,2	9	81,8
7318	351	65 %	311	10 %	10	4	40,0	6	60,0
9770	102	65 %	91	5 %	12	4	33,3	8	66,7
9780	275	80 %	102	5 %	11	3	27,3	8	72,7
5466	1985	65 %	275	10 %	10	4	40,0	6	60,0
9164	275	70 %	102	0 %	11	2	18,2	9	81,8
7705	298	80 %	1985	5 %	11	2	18,2	9	81,8
6849	102	75 %	91	10 %	9	2	22,2	7	77,8
7599	275	80 %	91	10 %	10	2	20,0	8	80,0
3307	1985	65 %	311	5 %	10	3	30,0	7	70,0
5466	1985	65 %	298	10 %	11	3	27,3	8	72,7
6812	102	75 %	91	10 %	11	4	36,4	7	63,6
Итого:					127	35	27,6	92	72,4

Механизм иммунной избирательности оплодотворения направлен в основном на повышение жизнеспособности потомства.

Широкое распространение аллоспермоантител у свиноматок (до 71 %) в невысоких титрах (с агглютинацией сперматозоидов до 30 %) свидетельствует не о патологической природе аллоспермоантител, а о закономерном физиологическом явлении, указывающем на нормальное функционирование органов иммунной системы животных.

В то же время у многих свиноматок (до 29 %) к антигенам сперматозоидов отдельных хряков в сыворотках крови содержатся аллоспермоантитела в довольно высоких титрах (с агглютинацией сперматозоидов до 60 % и выше), оказывающих отрицательное влияние на их оплодотворяемость.

Наличие аллоспермоантител в семенной плазме отдельных хряков к антигенам сперматозоидов других хряков обуславливает необходимость предварительной оценки их на взаимную совместимость. Только в этом случае возможно повышение оплодотворяемости свиноматок «смешанным» семенем.

Оценка иммунологического статуса спариваемых особей по аллоспермоантителам позволит значительно снизить количество иммуноконфликтных ситуаций при воспроизводстве свиней.

## Список литературы

1. Беляков О. В. Качество спермы и оплодотворяемость свиноматок / О. В. Беляков, Г. Н. Сердюк // Животноводство России. СПб. 2008. №4. С. 29–30.
2. Боргуль С. А. Влияние аллоспермоантител хряков на активность спермиев при смешивании эякулятов / С. А. Боргуль, З. Я. Никитина // Сб. трудов. СПб.–Пушкин, 2002. С. 123–125.
3. Боргуль С. А. Влияние иммунологической реактивности свиней на оплодотворяемость и многоплодие / С. А. Боргуль, З. Я. Никитина, А. К. Никитин // Сб. трудов. Тверь, 2001. с. 88–89.
4. Братанов К. Проблема иммунологии размножения сельскохозяйственных животных / К. Братанов // Сельское хозяйство за рубежом. М., 1968. №6. с. 10–11.
5. Васильев И. К. Влияние иммунных факторов в воспроизводстве крупного рогатого скота / И. К. Васильев. Автореф. ... к. б. н. Тверь, 2006. 109 с.
6. Никитин А. К. Зачем нужны бесплодные хряки-производители? / А. К. Никитин, С. А. Боргуль, З. Я. Никитина // Ж. Животноводство. 2005. №1. С. 22–24.

## Сканеры УЗИ “РАСКАН”

**Достоверность, доступность и простота ультразвуковых исследований в ветеринарии**

Все виды исследований у крупных, средних и мелких животных. УЗИ домашних и экзотических животных и птиц. Контроль стельности в животноводстве и продуктивности в птицеводстве

Полностью цифровая обработка. Высокая плотность лучей. Динамическая фокусировка. Цветовое доплеровское картирование. Пунктирование. Кинопетля. Помощь. Персональные настройки. Все виды измерений. Вычисления. Заключение. Распечатка эхограмм. Архив. Ветеринарные расчеты и пиктограммы



5,9 кг

Сканеры в настольной комплектации с возможностями стационарных. Легкие, компактные с автономным питанием. Кейс для переноски.



Датчики мультичастотные высокой плотности. Рабочие частоты от 2,5 до 10 МГц. Конвексные, линейные, полостные



3,7 кг

Сканеры в мобильной комплектации. Брызгозащитное исполнение. Сенсорный экран. Ручка для переноски. Наплечный ремень.

Организованы курсы ветеринарные УЗИ

**НПП  
“РАТЕКС”**

Производство сканеров УЗИ с 1991 года

199178, С.-Петербург, ул. Донская, д. 19, пом.1Н  
Тел./факс: (812)321-89-74, 321-57-71, (931)966-58-32  
E-mail: [rateks@rateks.com](mailto:rateks@rateks.com) <http://rateks.com>

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10025

УДК 619:616.9:616-022:616-091.5:636.52/.58

Ключевые слова: куры, болезнь Марека, клинические признаки, патологоанатомические изменения, противоэпизоотические мероприятия, ветеринарно-санитарные мероприятия

Key words: chickens, Marek's disease, clinical features, pathological changes, antiepidemiological measures, veterinary and sanitary measures

Тамбиев Т.С., Соловьев Н.А., Гак Ю.М., Тазаян А.Н., Федоров Н.М.

**ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА  
И ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ БОЛЕЗНИ МАРЕКА**  
*FEATURES OF THE MANIFESTATION OF THE INFECTIOUS PROCESS AND HEALTH  
MEASURES FOR MAREK'S DISEASE*

ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет»  
Адрес: 346493, Россия, п. Персиановский, ул. Кривошлыкова, д. 24  
*Don State Agrarian University*  
*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education*  
*Address: 346493, Russia, Persianovsky, Krivoshlykov st., 24*

Тамбиев Тимур Сергеевич, к. в. н., и. о. зав. кафедрой паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии.

E-mail: tim.tambieff-earl@yandex.ru

*Tambiev Timur Sergeevich, PhD in Veterinary Science, Acting Head of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology Dept. E-mail: tim.tambieff-earl@yandex.ru*

Соловьев Николай Александрович, к. в. н., доцент кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии.

E-mail: solnikal@yandex.ru

*Solovyov Nikolai Alexandrovich, PhD in Veterinary Science, Associate Professor of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology Dept. E-mail: solnikal@yandex.ru*

Гак Юрий Михайлович, к. с.-х. н., доцент кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии.

E-mail: dokgy@mail.ru

*Gak Yuri Mikhailovich, PhD in Agriculture Science, Associate Professor of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology Dept. E-mail: dokgy@mail.ru*

Тазаян Артур Ноярович, к. в. н., доцент, и. о. декана факультета ветеринарной медицины.

E-mail: arthyr\_61@mail.ru

*Tazayan Arthur Noyarovich, PhD in Veterinary Science, Associate Professor, Acting Dean of the Faculty of Veterinary Medicine. E-mail: arthyr\_61@mail.ru*

Федоров Николай Михайлович, к. в. н., доцент кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии.

E-mail: nik26050861@yandex.ru

*Fedorov Nikolai Mikhailovich, PhD in Veterinary Science, Associate Professor of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology Dept. E-mail: nik26050861@yandex.ru*

**Аннотация.** Изучены особенности проявления эпизоотического процесса, клинических признаков и патизменений при болезни Марека в ЛПХ и КФХ Ростовской области. Установлено, что к заболеванию наиболее восприимчивы куры в возрасте 1,5–6 мес. Регистрировали две формы заболевания: нервную и опухолевидную. Летальность птицы при нервных поражениях составляла 70%. Выжившая птица погибала в течение 1–2-х месяцев от развития неопластических изменений во внутренних органах. Основными симптомами болезни являлись: угнетение, потеря аппетита, кахексия, анемичность гребня и сережек, развитие парезов и параличей, нарушение координации движения, хромота, изменение формы и сужение зрачка, депигментация радужной оболочки глаз, потеря зрения, поражение перьевых фолликулов и формирование опухолей на коже. Основными патизменениями являлись: утолщение и деструктивные изменения нервных волокон, неопластические изменения во внутренних органах, мышечной ткани и коже. Разработана система оздоровительных мероприятий, включающая выявление и уничтожение источника возбудителя инфекции, проведение текущей дезинфекции помещений 0,5% раствором вирицида и иммунизацию суточного молодняка вакциной против болезни Марека сухой культуральной «АВИВАК – Марека». Профилактическая эффективность вакцинации составила 100%, экономическая эффективность – 6 рублей на 1 рубль затрат.

**Summary.** The features of the manifestation of the epizootic process, clinical signs and pathological changes in Marek's disease in personal and peasant farms of the Rostov region were studied. It was found that chickens are most sick at the age of 1.5–6 months. Two forms of the disease were registered: nervous and tumorous. The mortality rate of birds with

*nervous lesions was 70%. The surviving bird died within 1–2 months from the progression of neoplastic changes in the internal organs. The main symptoms of the disease were: oppression, loss of appetite, cachexia, anemia of crest and earrings, progression of paresis and paralysis, loss of coordination, lameness, changes in the shape and constriction of the apple of eye, depigmentation of the iris, loss of vision, damage to feather follicles and the formation of tumors on the skin. The main pathological changes were: thickening and destructive changes in nerve fibers, neoplastic changes in internal organs, muscle tissue and skin. A system of health-improving measures has been developed, including the identification and destruction of the source of infectious agent, the current disinfection of the premises with a 0.5% solution of virocid and the immunization of day-old animals with the vaccine "AVIVAC – Marek". The preventive effectiveness of vaccination was 100%, the economic efficiency was 6 rubles per 1 ruble of costs.*

## **Введение**

В личных подсобных хозяйствах нашей страны достаточно напряженной остается ситуация по болезни Марека, возбудитель которой способен длительное время персистировать в организме птицы, при этом эволюционировать. В связи с этим во многих птицеводческих хозяйствах сохраняется стационарное неблагополучие по заболеванию. Данная проблема усугубляется тем, что частные предприниматели зачастую пренебрегают проведением противоэпизоотических мероприятий, направленных на борьбу с инфекцией, что приводит к массовой гибели птицы и колоссальным убыткам [5].

В неблагополучных по болезни Марека хозяйствах необходимы своевременная диагностика заболевания, разработка и принятие эффективных мер контроля и борьбы с данной инфекционной патологией [2]. Однако следует отметить, что при диагностике болезни Марека существуют трудности, так как заболевание характеризуется большим разнообразием клинических признаков и патологоанатомических изменений [4].

Лечение при болезни Марека не разработано и неэффективно, поэтому одним из важнейших методов защиты птицепоголовья от данной инфекционной патологии является иммунизация. Однако в связи с тем, что вирус постоянно мутирует, адаптируется, повышает свои вирулентные свойства, имеется необходимость постоянной разработки новых биопрепаратов и обновления арсенала имеющихся вакцин [1, 3, 5]. Также немаловажным является соблюдение высокого уровня биозащиты и поддержание высокого санитарного состояния птицеводческих объектов [6].

Учитывая актуальность и значимость болезни Марека для современного птицеводства,

была поставлена цель исследований – изучить особенности проявления инфекции в ЛПХ и КФХ Ростовской области и разработать научно обоснованную систему оздоровительных мероприятий в неблагополучном хозяйстве.

## **Материалы и методы**

Работа выполнялась в 2016–2020 гг. в личных подсобных (ЛПХ) и крестьянско-фермерских хозяйствах (КФХ) Ростовской области, занимающихся разведением кур, а также на кафедре паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии Донского ГАУ.

Диагноз на болезнь Марека ставили комплексно. Предварительный диагноз устанавливали на основании анализа эпизоотологических данных, клинических признаков и патологоанатомических изменений. Окончательный диагноз ставили в ГУРО «Ростовская областная ветеринарная лаборатория», куда отправляли трупы павших и тушки убитых с диагностической целью птиц.

При постановке эпизоотологического диагноза согласно «Методическим указаниям по эпизоотологическому исследованию» (1987) был проведен ретроспективный эпизоотологический анализ источника возбудителя инфекции, механизмов и путей его передачи, а также показателей интенсивности эпизоотического процесса.

Клиническое обследование проводили по схеме, общепринятой в клинической диагностике болезней. При исследовании больных кур обращали внимание на общее состояние птицы, положение тела в пространстве, реакцию на внешние раздражители, прием корма, состояние оперения и кожных покровов, окраску гребешка, сережек и видимых слизистых оболочек, цвет и консистенцию помета. Всего клиническому исследованию подвергнуто 820 голов кур.

Патологоанатомическую диагностику и послеубойный осмотр больной птицы проводили согласно общепринятым методикам. Описание органов и тканей проводили по схеме, предложенной профессором В.П. Воронянским (1993). За время выполнения работы было подвергнуто послеубойному осмотру 110 вынужденно убитых с диагностической целью кур и вскрыто 60 трупов павшей птицы (всего 170 голов).

Разработка и апробация системы оздоровительных мероприятий, проводилась в одном из неблагополучных по болезни Марека ЛПХ. При этом использовали разрешенные Департаментом ветеринарии Минсельхоза РФ к применению в ветеринарной практике препараты: вирицид и вакцину против болезни Марека сухую культуральную «АВИВАК – Марека». Данные препараты использовали согласно инструкции по их применению. Всего вакцинации было подвергнуто 92 головы суточных цыплят.

После проведения иммунизации определяли профилактическую и экономическую эффективность применения вакцины. Экономическую эффективность рассчитывали в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий» (Ветеринарное Законодательство, т. 1, 2000).

## Результаты исследований

Заболевание чаще всего проявлялось у кур в возрасте от 1,5 до 6 месяцев. В процессе вы-

полнения работы у больной птицы отмечали следующие симптомы болезни (табл. 1).

Как видно из таблицы, клиническое проявление заболевания было неодинаковым. В 94,9% случаев больная птица была малоподвижна и отказывалась от приема корма, оперение было взъерошено. У 87,4% кур вследствие поражения центральной и периферической нервной систем отмечали характерные для болезни Марека нервные явления. Они характеризовались многообразием проявляемых симптомов, в зависимости от того, какие нервы поражались. Отмечали параличи ног, крыльев, шеи и зоба.

У молодых кур-несушек часто отмечали сопорозное состояние, при котором птица находилась в характерной стоячей позе, с вытянутой вперед и наклоненной к земле шеей (рис. 1). Иногда шея была искривлена и повернута вокруг своей оси, вследствие чего птица закидывала голову на бок или на спину.

Некоторые куры вследствие параличей конечностей ложились на киль, при этом конечности птицы разъезжались в разные стороны. Передвижение такой птицы становилось невозможным (рис. 2). Как правило, параличи конечностей были ассиметричными. Иногда поражалась одна конечность, которую куры вытягивали вперед со скрюченными пальцами или же волочили ее по земле. У некоторых кур параличи были незначительными, и в 27,8% случаев у такой птицы из-за поражения нервов конечностей отмечалась лишь хромота.

Таблица 1

### Клиническое проявление болезни Марека у кур в ЛПХ и КФХ Ростовской области

Клинические признаки	Количество кур	
	голов	%
Угнетение, отказ от корма, взъерошенность оперения	778	94,9
Нервные явления	714	87,4
Кахексия	669	81,6
Анемичность гребня, сережек и видимых слизистых оболочек	583	71,1
Поражения глаз	457	55,7
Диарея	307	37,4
Кожные поражения	261	31,8
Хромота	228	27,8
Количество больных кур, подвергнутых клиническому исследованию	820	100

Из-за невозможности добраться до корма парализованной птице, отказа от приема пищи, а также нарушения обменных процессов вследствие болезни у 81,6% кур отмечалось сильное истощение. У 71,1% кур отмечали бледность гребня и сережек, а также анемию видимых слизистых оболочек.

В 55,7% случаев отмечали характерные для болезни Марека поражения глаз. У больных кур отмечали изменение формы и сужение зрачка, окрашивание радужной оболочки в серый цвет. При этом нередко отмечали частичную или полную потерю зрения (рис. 3).

Вследствие поражения желудочно-кишечного тракта и органов пищеварения у 37,4% кур отмечалась диарея. Помет был жидким зловонным, зеленовато-белого цвета.

В 31,8% случаев регистрировалась кожная форма болезни Марека, с поражением перьевых фолликулов и формированием опухолей на коже. Данная форма болезни, как правило, регистрировалась у бройлерных пород кур.

Летальность птицы при нервных поражениях была высокой и доходила до 70%. У остальных кур нервные явления проходили, однако такая, казалось бы, выздоровевшая на первый взгляд птица все равно погибала в течение 1–2 месяцев вследствие развития неопластических изменений во внутренних органах.

С целью выявления патологических изменений в организме кур при болезни Марека была проведена аутопсия 60 трупов и проведен санитарный убой с последующим послеубойным осмотром 110 голов больной птицы. В результате были отмечены следующие патизменения (табл. 2).

У 64,1% кур отмечали диффузные или очаговые утолщения нервных стволов и сплетений. Иногда на нервах обнаруживали одиночные или множественные опухоли различной величины. Характерные изменения наблюдали в седалищных нервах. Они были увеличены в 1,5–3 раза и местами размягчены (рис.4).

У некоторых кур при вскрытии обнаруживали опухолевидные саловидные образования различной конфигурации и размера во внутренних органах. Неопластические изменения чаще всего отмечали в селезенке – 35,9% случаев (рис. 5), печени – 34,1% (рис. 6), почках – 34,1%, яичниках – 30,6%, железистом желудке – 26,5%; миокарде – 23,5%, легких – 13,5%. Нередко множественные опухолевидные разрастания обнаруживали в кишечном тракте и на брыжейке кишечника – 21,2% (рис. 7).

На коже в 30% случаев обнаруживали эпителиальную гиперплазию на перьевых

**Таблица 2**

## Патологические изменения в организме кур при болезни Марека

Патологические изменения	Количество кур	
	голов	%
Утолщение седалищного и других нервов	109	64,1
Неопластические изменения в селезенке	61	35,9
Неопластические изменения в печени	58	34,1
Неопластические изменения в почках	58	34,1
Неопластические изменения в яичниках	52	30,6
Фолликулярная гиперплазия	51	30,0
Неопластические изменения в железистом желудке	45	26,5
Неопластические изменения на коже	43	25,3
Неопластические изменения в сердечной мышце	40	23,5
Неопластические изменения в кишечнике и на брыжейке	36	21,2
Неопластические изменения в скелетных мышцах	29	17,1
Неопластические изменения в легких	23	13,5
Количество больных кур, подвергнутых патологоанатомическому исследованию и послеубойному осмотру	170	100





Рис. 1. Паралич шеи при болезни Марека



Рис. 2. Паралич конечностей у кур при болезни Марека

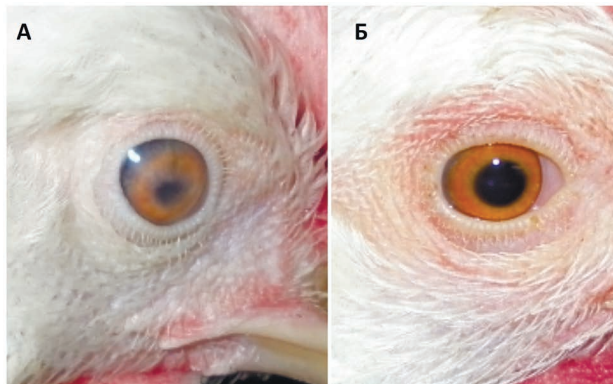


Рис. 3. Поражение глаз при болезни Марека у кур: А – глаз больной птицы; Б – глаз здоровой птицы

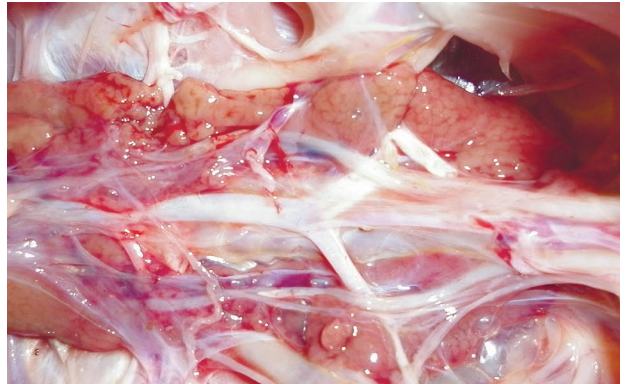


Рис. 4. Утолщение седалищного нерва при болезни Марека



Рис. 5. Неопластические изменения в селезенке

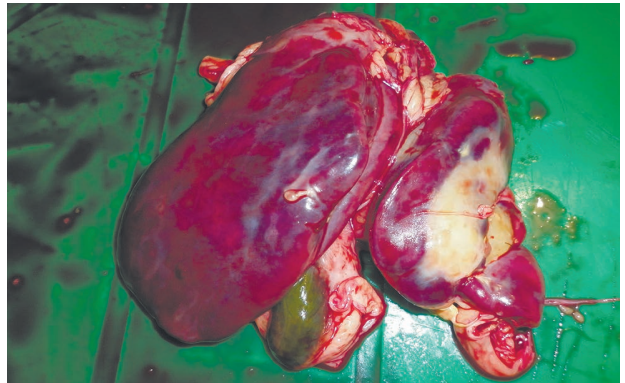


Рис. 6. Неопластические изменения в печени



Рис. 7. Многочисленные опухолевидные образования на брыжейке кишечника



Рис. 8. Поражение кожи при болезни Марека

фолликулах в виде беловатых узелков. Часто перьевые фолликулы срастались между собой, приобретая вид струпьев коричневого цвета. Струпьевидные, плотные, неправильной формы наросты на коже встречались у 25,3% кур (рис. 8).

Реже всего неопластические изменения обнаруживали в скелетной мускулатуре (17,1% случаев). Их чаще всего обнаруживали в поверхностных грудных мышцах в виде беловатых полосок.

В одном из ЛПХ, где была зарегистрирована вспышка болезни Марека, был разработан комплекс вынужденных противоэпизоотических и ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на оздоровление неблагополучного хозяйства. Для этого всех больных и подозрительных по заболеванию, а также слабых и истощенных кур изолировали от остального стада, подвергали санитарному убою и после проведения послеубойного осмотра и иных диагностических исследований сжигали. При этом во всех птицеводческих помещениях и на выгульных дворах проводилась ежедневная механическая очистка и текущая влажная дезинфекция. В качестве дезинфектанта применяли 0,5% раствор виروцида, который распыляли с помощью ранцевого опрыскивателя из расчета 250 мл раствора на 1 м<sup>2</sup> площади.

Также было решено провести постепенную замену имеющегося птицепоголовья иммунным молодняком. Для этого проводили вакцинацию суточного молодняка вакциной против болезни Марека сухой культуральной «АВИВАК – Марек». Данную вакцину использовали, так как не было возможности завозить жидкую вакцину в сосудах Дьюара. Разведенную в соответствии с инструкцией по применению вакцину вводили внутримышечно в область верхней трети внутренней поверхности бедра в объёме 0,2 мл. Всего вакцинации подвергнуто 92 головы суточного молодняка кур. При использовании данной вакцины был получен 100%-ный профилактический эффект, так как ни у одного цыпленка в дальнейшем не проявились симптомы, характерные для болезни Марека.

Дальнейший расчет показателей эффективности ветеринарных мероприятий пока-

зал, что экономический эффект от проведенной иммунизации (Эв) составил:

$Эв = Пу - Зв$ , где:

Пу – предотвращенный экономический ущерб, руб.;

Зв – затраты на проведение вакцинации, руб.

$Эв = 4857,6 - 693,56 = 4164,04$  руб.;

Экономическая эффективность иммунизации на один рубль затрат (Эр) составила:

$Эр = Эв / Зв$ , где:

Эв – экономический эффект от проведенной вакцинации, руб.;

Зв – затраты на проведение вакцинации, руб.

$Эр = 4164,04 / 693,56 = 6$  руб. на 1 руб. затрат.

## Обсуждение результатов

Анализ проведенных мониторинговых исследований показал, что в Ростовской области в малых формах хозяйствования болезнь Марека протекает в двух формах: нервной (классической) и опухолевидной (висцеральной). При этом в различных хозяйствах отмечали неодинаковое проявление показателей интенсивности эпизоотического процесса, симптомов болезни и патологических изменений. Данное обстоятельство, по всей видимости, обусловлено различным состоянием естественной резистентности и иммунологической реактивности больной птицы.

Чаще всего заболевание регистрировалось в ЛПХ граждан. Оно проявлялось в виде массовых эпизоотических вспышек, как правило, в нервной форме с высокой заболеваемостью и летальностью. Это обстоятельство объясняется тем, что в частном секторе владельцы птицы зачастую пренебрегают проведением профилактических противоэпизоотических мероприятий. Как правило, во всех ЛПХ, где были зарегистрированы вспышки болезни Марека, отмечали большую плотность посадки птицы, неудовлетворительные параметры микроклимата в помещениях и антисанитарные условия содержания. При этом иммунизация птицепоголовья против болезни Марека в таких хозяйствах не проводилась. Дезинфекция, как составная часть технологического цикла, осуществлялась крайне редко или отсутствовала.

На основании проведенных исследований предложена система вынужденных противоэпизоотических мероприятий, направленная на все звенья эпизоотической цепи: I звено – выявление и уничтожение источника возбудителя инфекции; II звено – ежедневная текущая дезинфекция птицеводческих помещений, выгулов, оборудования и инвентаря 0,5% раствором вирицида из расчета 250 мл раствора на 1 м<sup>2</sup> площади; III звено – иммунизация суточного молодняка вакциной «АВИВАК – Марек» согласно наставлению. Применение разработанного комплекса противоэпизоотических мероприятий оказалось экономически обоснованным, так как при проведении иммунизации птицы на 1 руб. материальных затрат было получено 5 руб. прибыли.

## Выводы

1. При болезни Марека у кур отмечается разнообразное проявление клинических и патологоанатомических признаков, что обусловлено различным состоянием естественной резистентности и иммунологической реактивности больной птицы.

2. В ЛПХ и КФХ Ростовской области регистрируются две формы заболевания: нервная и опухолевидная.

3. К болезни Марека наиболее восприимчивы куры в возрасте 1,5–6 мес. Летальность птицы при нервных поражениях составляет 70%, выжившая птица погибает в течение 1–2-х месяцев от развития неопластических изменений во внутренних органах.

4. Основными клиническими признаками при болезни Марека у кур являются: угнетение, потеря аппетита, кахексия, анемичность гребня и сережек, развитие парезов и параличей, нарушение координации движения, хромота, изменение формы и сужение зрачка, депигментация радужной оболочки глаз, потеря зрения, поражение перьевых фолликулов и формирование опухолей на коже.

5. Основными патизменениями являются: утолщение и деструктивные изменения нервных волокон; неопластические изменения в паренхиматозных органах, легких, брыжейке кишечника, желудочно-кишечном тракте, мышечной ткани и коже.

6. Предложена система оздоровительных мероприятий, включающая выявление и уничтожение источника возбудителя инфекции, проведение текущей дезинфекции помещений 0,5% раствором вирицида и иммунизацию суточного молодняка вакциной «АВИВАК – Марек».

Клинических проявлений болезни Марека у вакцинированного поголовья в изучаемый период времени не обнаружено, экономическая эффективность составила 6 руб. на 1 руб. затрат.

## Список литературы

1. Инфекционные болезни животных: учебник / Б.Ф. Бессарабов, А.А. Вашустин, Е.С. Воронин [и др.]; Под ред. А. А. Сидорчука. М.: КолосС, 2007. 671 с.

2. Кожемяка Н. Борьба с болезнью Марека: исход определяют вакцины / Н. Кожемяка // Животноводство России. 2007. №7. С. 48–49.

3. Куляшбекова Ш.К. Особенности технологии изготовления вакцин против болезни Марека / Ш.К. Куляшбекова // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. 2008. Т. 6. С. 477–498.

4. Новых А.А. Патологоанатомические, гистологические и гистохимические изменения головного мозга, некоторых эндокринных желёз и паренхиматозных органов при болезни Марека у кур: автореф. дис. ... канд. вет. наук / А.А. Новых // Свердловский сельскохозяйственный институт. Свердловск, 1975. 32 с.

5. Нуралиев Е.Р. Болезнь Марека в приусадебных хозяйствах – резервуар возбудителя инфекции для промышленного птицеводства / Е.Р. Нуралиев, И.И. Кочиш // Вестник Омского государственного аграрного университета. 2017. № 4 (28). С. 162–169.

6. Усовершенствование ветеринарно-санитарных мероприятий – важная составляющая биобезопасности на птицефабриках / Т.С. Тамбиев, А.Н. Тазаян, М.С. Кривко, В.В. Федюк // Агропромышленный комплекс: проблемы и перспективы развития: тез. докл. всерос. науч.-практ. конф. Благовещенск, 2020. С. 147.

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10026

УДК 619:57.082.54-148

Ключевые слова: суспензия клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH, бессывороточные среды, кратность прироста клеток, ПЭГ 6000, ПЭГ 8000, Pluronic F-68

Key words: BHK-21/SUSP/ARRIAH cell suspension, serum-free media, cell growth ratio, PEG 6000, PEG 8000, Pluronic F-68

Гусева М.Н., Доронин М.И., Михалишин Д.В., Шевченко М.А., Манин Б.Л.

**ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ И PLURONIC F-68  
В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТА БЕССЫВОРОТОЧНОЙ СРЕДЫ  
ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК ЛИНИИ ВНК-21/SUSP/ARRIAH**  
*USE OF POLYETHYLENE GLYCOL AND PLURONIC F-68 AS A COMPONENT  
OF SERUM-FREE MEDIA FOR BHK-21/SUSP/ARRIAH CELL CULTURE*

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Адрес: 600901, мкр. Юрьевец, г. Владимир, Россия

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH")

Address: 600901, mcr. Yurevets, Vladimir, Russia

Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

E-mail: guseva\_mn@arriah.ru

*Guseva Marina Nikolaevna, PhD of Biological Sciences, Senior Researcher. E-mail: guseva\_mn@arriah.ru*

Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

E-mail: doronin@arriah.ru

*Doronin Maksim Igorevich, PhD of Biological Sciences, Senior Researcher. E-mail: doronin@arriah.ru*

Михалишин Дмитрий Валерьевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура. E-mail: mihalishindv@arriah.ru

*Mikhailishin Dmitry Valerjevich, PhD of Veterinary Sciences, Head of Laboratory for FMD Prevention.*

E-mail: mihalishindv@arriah.ru

Шевченко Максим Александрович, ведущий ветеринарный врач. E-mail: shevchenko\_ma@arriah.ru

*Shevchenko Maksim Aleksandrovich, Leading Veterinarian. E-mail: shevchenko\_ma@arriah.ru*

Манин Борис Леонидович, кандидат биологических наук,

ведущий научный сотрудник отдела инноваций. E-mail: manin\_bl@arriah.ru

*Manin Boris Leonidovich, PhD of Biological Sciences, Leading Researcher of Department for Innovations. E-mail:*

*manin\_bl@arriah.ru*

**Аннотация.** В статье приводятся результаты исследований различных концентраций полимеров (ПЭГ 6000, ПЭГ 8000, Pluronic F-68) для определения возможности их использования в качестве добавок к бессывороточным питательным средам, которые бы не оказывали токсического влияния на клетки линии ВНК-21 и обеспечивали бы достаточную вязкость для снижения влияния механического стресса. Присутствие ПЭГ 6000 и ПЭГ 8000 влияло на жизнедеятельность живой клетки ВНК-21. Данные вещества приводили к изменению морфологии: появлялись дегидратационные выросты, в цитоплазме некоторых клеток наблюдали небольшие включения, это явление приводило к уменьшению кратности прироста клеточной популяции. При наличии Pluronic F-68 дегидратационные выросты не наблюдались, форма клетки была сферической, а цитоплазма прозрачной и гомогенной. Прирост клеточной популяции в присутствии Pluronic F-68 в концентрации 0,063 и 0,130 % был выше в 1,2–1,4 раза, чем при других концентрациях полимеров, и выше в 1,4 раза, чем в контроле с фетальной сывороткой КРС. При исследовании кинематической вязкости питательных сред с различными полимерами в качестве добавок определили, что вязкость в присутствии ПЭГ 6000 и Pluronic F-68 увеличивалась с повышением содержания вещества в растворе. В растворах с наличием Pluronic F-68 кинематическая вязкость варьировала от 2,65 до 2,80 мм<sup>2</sup>/с в зависимости от концентрации полимера. Кинематическая вязкость в растворах с ПЭГ 8000 находилась в пределах 2,74–2,77 мм<sup>2</sup>/с. Для создания необходимых условий для жизнедеятельности клеток наиболее приемлемым в качестве добавки в бессывороточных средах являлся Pluronic F-68 с концентрациями 0,063–0,130 %.

**Summary.** The paper describes the results of different polymer (PEG 6000, PEG 8000, Pluronic F-68) concentration tests, performed to establish the potential of their use as additives to serum-free nutrient media, their non-toxicity for BHK-21 cells and ability to provide sufficient viscosity, thus decreasing mechanical stress effect. PEG 6000 and PEG

8000 influenced the vital activity of BHK-21 live cells. These substances changed the morphology: dehydration-evoked protuberances appeared, small inclusions were observed in the cytoplasm of some cells and these events lead to decrease in cell growth ratio. If Pluronic F-68 was present, no dehydration-evoked protuberances were observed, cell shape was spherical and the cytoplasm remained transparent and homogenous. Cell growth in the presence of Pluronic F-68 at the concentrations of 0.063 and 0.130 % was 1.2–1.4 times higher, if compared to other polymer concentrations and 1.4 higher if compared to control, containing bovine fetal serum. When testing kinematic viscosity of different nutrient media, supplemented with various polymers, it was established that viscosity in the presence of PEG 6000 and Pluronic F-68 increased as the concentration of the substances in the solution became higher. Solutions containing Pluronic F-68 showed kinematic viscosity, varying from 2.65 to 2.80 mm<sup>2</sup>/s, depending on the polymer concentration. Kinematic viscosity of solutions, supplemented with PEG 8000 was within 2.74–2.77 mm<sup>2</sup>/s. To create conditions, necessary for cell vital activity, the most reasonable substance to be added to serum-free media was Pluronic F-68 at the concentrations of 0.063–0.130 %.

## Введение

Клеточная среда – самый важный компонент, в котором находятся клетки. Среда предоставляет питательные вещества, факторы роста и гормоны, регулирует водородный показатель pH и осмотическое давление в клетке. Одним из важных компонентов питательной среды является сыворотка крови. К главным функциям сыворотки относятся: обеспечение гормональными факторами, стимулирующими рост клеток и их функции; обеспечение факторами адгезии и седиментации клеток; обеспечение транспортными белками, переносящими ферменты, минеральные вещества, липиды и т. д. [3]. Сыворотка крови обладает защитным действием, которое связано с изменением прочности мембраны, что связано с облегчением переноса через мембрану хлорестирола или аналогичных веществ клеточной стенки, и таким образом, понижает влияние гидродинамического напряжения сдвига. С другой стороны, возможно, что при образовании устойчивой пены, которая не контактирует с клетками, также происходит защита от гидродинамического воздействия. Третьим возможным механизмом защитного действия является то, что величина гидродинамической силы изменяется при действии сыворотки крови посредством увеличения вязкости. Так как влияние сыворотки на вязкость питательной среды незначительно, увеличение вязкости может быть одним из механизмов защиты. Физиологический механизм может включать собственно изменения в клеточном скелете, плазматической мембране или других клеточных частях и органеллах [2]. По данным И. С. Трухана (2018), сыворотка крови, по-

вышая вязкость среды, защищает культуру от механических повреждений при перемещении или пипетировании, увеличивает буферную емкость среды, а протеазы обеспечивают защиту клеток от лизиса [7].

В последние годы внимание привлекают среды без содержания сыворотки. Они имеют определенные преимущества: улучшение воспроизводимости результатов опыта вследствие большей стабильности состава среды; снижение риска заражения культуры вирусами, грибами, микоплазмами; облегчение очистки продуктов клеточного метаболизма; снижение влияния дополнительных белков на результаты биологических исследований; отсутствие цитотоксического влияния, которое может оказывать сыворотка [3, 8]. Однако вопрос защиты клетки от гидродинамического воздействия при перемешивании зачастую остается открытым.

Любые повреждения клеток, которые происходят в условиях перемешивания клеточной суспензии или при диссоциировании клеток после трипсинизации, могут быть снижены при повышении вязкости среды с помощью различных полимеров [4]. За счет повышения вязкости уменьшается влияние механического стресса на клетки. Это становится особенно важным при низкой концентрации сыворотки, при ее отсутствии и для клеток, культивируемых в биореакторах с перемешиванием. В этих случаях часто используется Pluronic F-68, хотя его эффект, по-видимому, является многофакторным [6].

Соединения группы Pluronic представляют собой блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена. Различное сродство к воде полиоксипропиленовой (гидрофобной)

и полиоксиэтиленовых (более гидрофильных) частей молекулы придает Pluronic в водном растворе свойства поверхностно-активных веществ (ПАВ) [9].

Полимеры Pluronic находят широкое применение в медицине и фармакологии. Обладая очень низкой токсичностью по сравнению с другими ПАВ, Pluronic входят в состав композиций искусственных заменителей крови и выполняют роль стабилизаторов перфторуглеродных эмульсий.

Pluronic F-68 представляет собой вещество с молекулярной массой приблизительно 8000, содержащее гидрофильную и гидрофобную группы [9].

К полимерным соединениям, которые часто применяют в фармацевтической продукции относится полиэтиленгликоль (ПЭГ). В предыдущих исследованиях анализировали его влияние на клетки ВНК-21 в присутствии сыворотки КРС [5], но среди опубликованных научных данных практически не встречаются сведения о влиянии данного полимера непосредственно на клетки ВНК-21 без сыворотки в качестве защитного компонента. С увеличением молекулярной массы взаимодействие ПЭГ с молекулами растворителя становится более интенсивным, но ослабевает с ростом температуры. Для ПЭГ с большим числом оксиэтильных групп увеличение температуры влияет в основном на подвижность молекул и в меньшей степени на интенсивность взаимодействия ПЭГ с водой (с увеличением молекулярной массы вязкость увеличивается) [10].

Цель исследования заключалась в изучении возможности применения полимерных соединений Pluronic F-68, ПЭГ 6000 и ПЭГ 8000 в составе бессывороточных сред для выращивания клеток линии ВНК-21/SUSP/ARRIAN без цитотоксического влияния и с обеспечением достаточной вязкости для снижения влияния механического стресса на клетки.

## Материалы и методы

**Клеточная линия.** В работе применяли перевиваемую суспензионную клеточную линию из почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/SUSP/ARRIAN.

**Добавки.** В качестве добавок использовали ПЭГ 6000, ПЭГ 8000, Pluronic F-68 в конечных концентрациях 0,13; 0,25; 0,50, 1,00 %.

**Питательная среда для выращивания клеток,** изготовленная согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура различных типов» без сыворотки и с добавлением 0,25 % гидролизата белков крови (ГБК).

**Кратность прироста (КП)** оценивали путем определения прироста клеток за 48 ч (отношение конечной концентрации клеток и исходной в пределах одного пассажа).

**Контроль.** В качестве контроля использовали образцы:

– с добавлением к питательной среде только фетальной сыворотки КРС фирмы SERANA в концентрации 5 %;

– с добавлением к среде только 0,25 % ГБК;

– с добавлением к питательной среде и фетальной сыворотки КРС фирмы SERANA в концентрации 5 % и 0,25 % ГБК.

**Определение вязкости.** Кинематическую вязкость определяли с помощью вискозиметра по ГФ РФ, ОФС.1.2.1.0015.15 [1].

**Статистическая обработка данных.** Все исследования проводили на протяжении 5 пассажей в трех повторностях. Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel.

## Результаты исследований и обсуждение

При исследовании в качестве добавки ПЭГ 6000 (рис. 1) определили, что после 1 пассажа кратность прироста составляла 2,37–2,03–2,20–1,73 при разных концентрациях ПЭГ 6000 (0,13; 0,25; 0,50; 1,00 %). На втором пассаже КП увеличивалась в 1,40; 2,00; 1,50; 1,73 раза в зависимости от концентрации полимера, соответственно. В 3 пассаже кратность прироста или оставалась прежней, или начинала уменьшаться. На 4 пассаже КП уменьшалась в 1,1–1,6 раз, а к 5 пассажиру она была в 2,13; 1,97; 2,07; 1,50 раз ниже в зависимости от концентрации ПЭГ 6000 по сравнению с данными для 1 пассажа. Кратность прироста в контрольном образце

с фетальной сывороткой КРС на протяжении 4 пассажей была ниже в 1,1–2,0 раз в зависимости от пассажа, однако в 5 пассаже кратность прироста была практически идентичной опытным образцам. Вероятно, это было связано с агрегирующим и нейтрализующим свойством ПЭГ [9].

При использовании в качестве добавки ПЭГ 8000 (рис. 2) выявили, что на 1 пассаже кратность прироста клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAN находилась в пределах 2,2–1,93–1,83–1,87 при разных концентрациях ПЭГ 8000, что тождественно КП линии клеток, выросших в присутствии ПЭГ 6000. На втором пассаже кратность прироста увеличивалась в 1,5–1,9–1,7–1,9 раз в зависимости от концентрации добавки. На 3 пассаже при концентрации полимера 0,50 %, КП выросла в 1,2 раза, в других концентрациях прирост клеток стал уменьшаться. В следующих пассажах кратность прироста оставалась прежней, к 5 пассажиру она составляла 2,06–2,27–2,0–2,37 в зависимости от концентрации ПЭГ 8000. Кратность прироста в контрольном образце с фетальной сывороткой КРС на протяжении 4 пассажей была ниже в 1,2–2,1 раз в зависимости от пассажа, однако в 5 пассаже кратность прироста была практически идентичной опытным образцам, как и в предыдущем опыте с ПЭГ 6000.

На следующем этапе работы проводили исследование влияния Pluronic F-68 на кратность прироста клеточной линии ВНК-21/SUSP/ARRIAN. При концентрации вещества 1 % клетки погибали на втором пассаже, поэтому было принято решение уменьшить кон-

центрацию Pluronic F-68 (до 0,015 и 0,063 %). Результаты исследований представлены на рисунке 3. Из данных, представленных на этом рисунке, видно, что после 1 пассажа КП клеток ВНК-21SUSP/ARRIAN была в пределах 3,03–3,2–2,8–2,2 при разных концентрациях Pluronic F-68, что было выше в 1,2–1,4 раз КП клеток, выросших в присутствии ПЭГ 6000 (1,73–2,37) и ПЭГ 8000 (1,87–2,2). На втором пассаже кратность прироста увеличивалась в 1,01–1,20–1,30–1,30 раза в зависимости от концентрации добавки. На 3 пассаже наблюдали снижение кратности прироста при всех концентрациях Pluronic F-68 в 1,3–2,0 раз. В последующих пассажах КП при концентрациях Pluronic F-68 0,063 и 0,130 % была выше, чем при других концентрациях, в 1,30 и 1,85 в 4 пассаже и в 1,50 и 1,89 раз в 5 пассаже, соответственно.

Кратность прироста в контрольном образце с фетальной сывороткой КРС была ниже КП в суспензии в присутствии Pluronic F-68 в концентрации 0,063 и 0,130 % в 1,1–2,0 раз в зависимости от пассажа.

При анализе кратности прироста в пяти пассажах было установлено, что при концентрации Pluronic F-68 0,063 и 0,130 % клетки росли интенсивнее в 1,2–1,4 раза, чем при других концентрациях полимеров, и выше в 1,4 раза, чем в контроле с фетальной сывороткой КРС (рис. 4).

В присутствии ПЭГ 6000 и ПЭГ 8000 происходила седиментация клеток без адгезии (рис. 5 А, Б), у многих клеток наблюдались дегидратационные выросты, что говорило о возможном дефиците водного баланса в самой

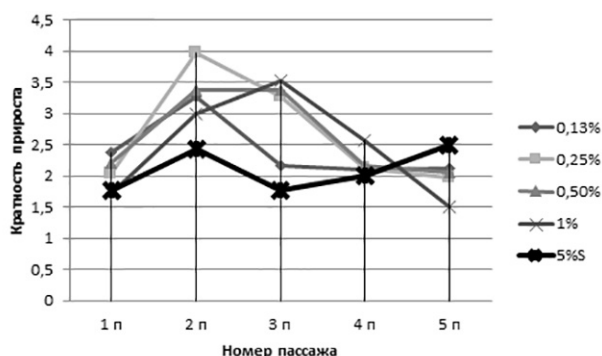


Рис. 1. Динамика изменения концентрации клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAN в зависимости от пассажа при использовании добавки ПЭГ 6000

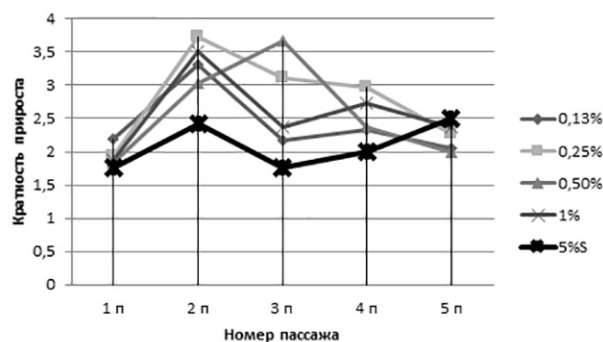


Рис. 2. Динамика изменений концентрации клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAN в зависимости от пассажа при использовании добавки ПЭГ 8000

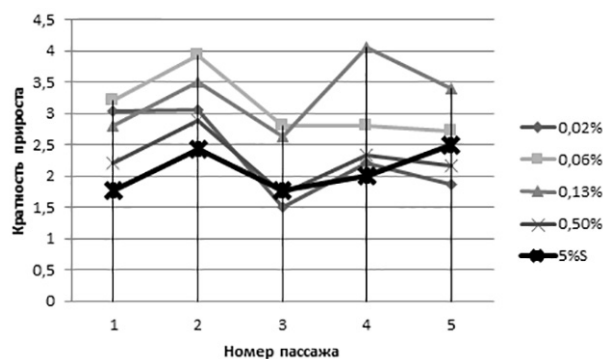


Рис. 3. Динамика изменений концентрации клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH в зависимости от пассажа при использовании добавки Pluronic F-68

клетке. В цитоплазме некоторых клеток наблюдали небольшие включения. С повышением концентрации ПЭГ до 1 % количество дегидратационных выростов увеличивалось. В присутствии Pluronic F-68 (рис. 5 В) дегидратационные выросты не наблюдались, форма клетки была сферической, а цитоплазма – прозрачной и гомогенной. В суспензии отмечали одиночные округлые клетки с небольшим количеством конгломератов, содержащих от 3 до 5 клеток. В монослое клетки проявляли адгезированные свойства.

В контрольных образцах все клетки (рис. 5 Г) имели фибробластоподобную форму, морфология была стандартной для культуры ВНК-21/SUSP/ARRIAH. Клетки седиментировались, часть адгезировалась перед активным ростом и делением в монослойной культуре.

Известно, что на вязкость культуральной среды влияет главным образом содержание сыворотки и, в большинстве случаев, влияние вязкости на клеточный рост невелико. Вязкость становится важна при перемешивании клеточной суспензии, или когда клетки диссоциируют после трипсинизации. Любые повреждения клеток, которые происходят в этих условиях, могут быть снижены при повышении вязкости среды [6]. Это становится особенно важным при низкой концентрации сыворотки, в отсутствие сыворотки и для клеток, культивируемых в биореакторах с перемешиванием.

Исходя из этого, проводили сравнение кинематической вязкости питательных сред с различными добавками. Результаты анализа

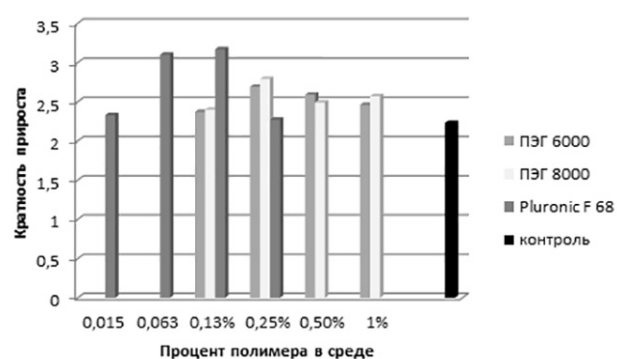


Рис. 4. Динамика изменения концентрации клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH в пяти пассажах в зависимости от концентрации различных полимеров

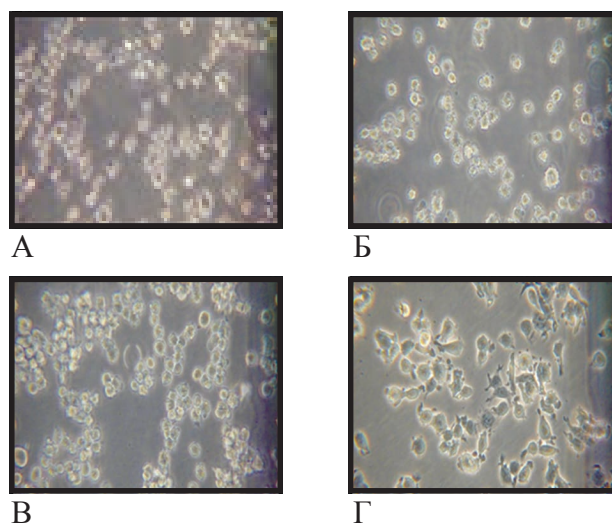


Рис. 5. Клетки ВНК-21/SUSP/ARRIAH, выросшие в присутствии ПЭГ 6000 (А), ПЭГ 8000 (Б), Pluronic F-68 (В); в присутствии 5 % сыворотки КРС (контроль) (Г)

продемонстрированы на рисунке 6. Определили, что вязкость среды в присутствии ПЭГ 6000 и Pluronic F-68 возрастала с повышением процентного содержания полимера в растворе. Так, при 0,13 % ПЭГ 6000 вязкость была 2,56 мм<sup>2</sup>/с, а при 1,00 % — 2,69 мм<sup>2</sup>/с. В растворах с наличием Pluronic F-68 кинематическая вязкость варьировала от 2,65 до 2,80 мм<sup>2</sup>/с в прямой зависимости от концентрации. Кинематическая вязкость в растворах с ПЭГ 8000 находилась в пределах 2,74–2,77 мм<sup>2</sup>/с. Вязкость в контрольном растворе с содержанием сыворотки и гидролизата белков крови составляла 2,75 мм<sup>2</sup>/с.

## Заключение

Установили, что присутствие ПЭГ 6000 и ПЭГ 8000 влияло на жизнедеятельность живой



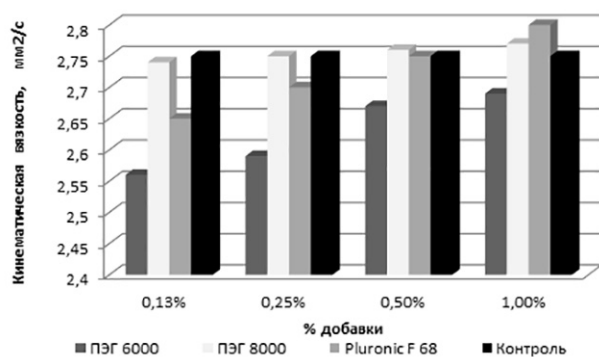


Рис. 6. Кинематическая вязкость питательных сред с различными добавками

клетки ВНК-21. Данные вещества приводили к изменению морфологии: появлялись дегидратационные выросты, в цитоплазме некоторых клеток наблюдали небольшие включения. С повышением концентрации ПЭГ до 1 % количество дегидратационных выростов увеличивалось, что говорило о возможном дефиците водного баланса в самой клетке. Все это приводило к уменьшению кратности прироста клеточной популяции.

Выявили, что в присутствии Pluronic F-68 дегидратационные выросты не наблюдались, форма клетки была сферической, а цитоплазма — прозрачной и гомогенной. В суспензии отмечали одиночные округлые клетки с небольшим количеством конгломератов, содержащих от 3 до 5 клеток. В монослое клетки проявляли адгезированные свойства. Прирост клеточной популяции в присутствии Pluronic F-68 в концентрации 0,063 % и 0,13 % был выше в 1,2–1,4 раза, чем при других концентрациях полимеров, и выше в 1,4 раза, чем в контроле с фетальной сывороткой КРС.

Определено, что вязкость питательной среды в присутствии ПЭГ 6000 и Pluronic F-68 увеличивалась с повышением процентного содержания полимера в растворе.

Доказано, что для создания необходимых условий для жизнедеятельности клеток наиболее приемлемым в качестве добавки в бессывороточных средах был Pluronic F-68 с концентрациями 0,063–0,130 %.

### Список литературы

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. Вязкость. /URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-0015-15-vyazkost/> (Дата обращения: 10.04.2020).
2. Гунин М. А. Исследование жизнеспособности клеток животных при культивировании в биореакторах в суспензии и на микроносителях. / М. А. Гунин. Автореф. дисс. ... к. биол. н. Щелково, 2000. 39 с.
3. Дьяконов Л. П. Животная клетка в культуре (Методы и применение биотехнологии). / Л. П. Дьяконов. М.: Компания Спутник+, 2009. 656 с.
4. Микроклетки. Химический состав и добавки сред. Вязкость. / URL: <http://microcells.ru/> (Дата обращения: 10.04.2020).
5. Михалишин Д. В. Влияние полиэтиленгликоля на пролиферативную активность клеток ВНК-21/2-17 / Д. В. Михалишин, М. Н. Гусева, Е. В. Белик, В. В. Михалишин // Ветеринария и кормление. 2010. № 6. С. 28–29.
6. Патент RU 2008 131 840 А Российская Федерация, МПК C12N 5/00 (2006.01) Способ суспензионного культивирования клеток человека и животных в бессывороточных средах и среда для его осуществления / В. В. Честков, Ю. В. Щепкина, В. Ю. Табаков; Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственное предприятие «ПанЭко», №2008131840/13: заявл. 08.05.2008; опубл. 02.10.2010.
7. Трухан И. С. Питательная среда как ключевой фактор культивирования клеток млекопитающих / И. С. Трухан // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018. № 12–1. С. 165–172.
8. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. / Р. Я. Фрешни. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 691 с.
9. Химическая энциклопедия. Т. 4. М: Большая Российская энцикл. 1995. 639 с.
10. Шуляк И. В. Реологические свойства водных растворов полиэтиленгликолей различной молекулярной массы / И. В. Шуляк, Е. И. Грушова, А. М. Семенченко // Журнал физической химии. 2011. Т. 85. № 3. С. 485–488.



Быстрое оформление подписки на журнал  
«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»  
ONLINE:

<http://avvb.ru/subscription>

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10027

УДК 616.995.1 (470. 342)

Ключевые слова: дирофиляриоз, трихинеллёз, эхинококкоз, служебные собаки, человек, зооантропоноз, Кировская область, дикие промысловые животные, домашние животные

Key words: *dirofilariasis, trichinosis, echinococcosis, service dogs, human, zoonanthroponosis, Kirov region, wild game animals, domestic animals*

Пилип Л. В., Бякова О. В.

## СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ ГЕЛЬМИНТОЗЫ ЧЕЛОВЕКА В КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ *SOCIALLY SIGNIFICANT HUMAN HELMINTHIASES OF THE KIROV REGION*

ФГБОУ ВО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»

Адрес: 610030, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133

*Vyatka State Agricultural Academy, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education*

*Address: 610030, Russia, Kirov, Oktyabrsky Prospekt, 133*

Пилип Лариса Валентиновна, к. в. н., доцент кафедры зоогигиены, физиологии и биохимии.

E-mail: pilip\_larisa@mail.ru

*Pilip Larisa Valentinovna, PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Zoohygiene, Physiology and Biochemistry Dept. E-mail: pilip\_larisa@mail.ru*

Бякова Ольга Викторовна, к. б. н., доцент кафедры зоогигиены, физиологии и биохимии. E-mail: aib05@mail.ru

*Byakova Olga Viktorovna, PhD of Biological Sciences, Associate Professor of the Zoohygiene, Physiology and Biochemistry Dept. E-mail: aib05@mail.ru*

**Аннотация.** На территории Кировской области зарегистрированы зооантропонозные заболевания, наиболее значимыми из которых являются описторхоз, эхинококкоз, токсокароз, токсоплазмоз, дирофиляриоз и трихинеллёз. Устойчивому сохранению и распространению данных заболеваний способствуют различные экологические и социальные факторы, к которым относят потепление климата, миграции людей и животных, растущую популяцию домашних животных, увеличение численности диких плотоядных и бродячих собак, приспособленность личинок гельминтов к развитию при разных температурах. Ежегодная регистрация трихинеллеза и эхинококкоза в дикой природе Кировской области создаёт потенциальную опасность возникновения заболевания у человека. Стабильно неблагополучными являются пограничные Лузский и Кикнурский районы Кировской области. Отмечена тенденция к снижению регистрации заболеваний среди диких животных, однако случаи эхинококкоза человека регистрируются и на сегодняшний день. Сохраняется возможность заболевания дирофиляриозом человека за счёт очага в дикой природе (дирофиляриоз медведей) и синантропном очаге (домашние и служебные собаки) с вектором передачи в виде кровососущих насекомых — комаров.

**Summary.** *On the territory of the Kirov region are registered zoonanthroponous diseases: opisthorchiasis, echinococcosis, toxocarosis, toxoplasmosis, dirofilariasis and trichinosis. Various environmental and social factors contribute to the sustainable conservation and spread of these diseases, among which the most significant are climate warming, migration of people and animals, a growing population of domestic animals, an increase in the number of wild carnivorous and stray dogs, and the adaptability of helminthes larvae to development at different temperatures. The annual registration of trichinosis and echinococcosis in the wild of the Kirov region creates a potential risk of a disease in humans. Luz and Kiknur districts of the Kirov region are stably dysfunctional. There is a tendency towards a decrease in the registration of diseases among wild animals, however, cases of human echinococcosis are recorded to date. The possibility of human dirofilariasis due to the outbreak in the wild (bear's dirofilariasis) and the synanthropic outbreak (domestic and service dogs) with the transmission vector in the form of blood-sucking insects — mosquitoes remains.*

### Введение

Увеличение площадей городов и концентрирование в них населения является глобальным процессом, при котором происходит трансформация природной среды. Урбанизация определяет существование очагов гельминтозов, при этом одни исчезают,

а другие расширяются, кроме того, изменяется популяция самих гельминтов.

Зооантропонозные заболевания представляют высокую социальную опасность для человека. На территории Кировской области регистрируются общие для человека и животных заболевания, такие как описторхоз,

эхинококкоз, токсокароз, токсоплазмоз, дирофиляриоз и трихинеллёз [14]. Некоторые из них, например, трихинеллез являются смертельными для человека, другие, например, дирофиляриоз до недавнего времени являлись нехарактерными для Кировской области. До конца XX века распространению дирофиляриоза приписывали территориальную приуроченность, обусловленную специфическим механизмом передачи возбудителя: считалось, что северная граница местных инцидентов заражения гельминтозом животных и людей проходит по 53–54° северной широты, однако в последнее время заболевание стали диагностировать в странах с умеренным климатом там, где раньше он не встречался, в том числе и Кировской области [8].

Основными причинами устойчивой регистрации и распространения зооантропоозных заболеваний на территории Кировской области являются такие факторы, как потепление климата, миграции людей и животных, растущая популяция домашних животных, увеличение численности диких плотоядных и бродячих собак, приспособленность личинок гельминтов к развитию при разных температурных условиях [4, 6].

Целью данных исследований явился анализ эпизоотологической ситуации по некоторым зооантропоозным социально значимым гельминтозам на территории Кировской области.

### Материалы и методы

На протяжении 2015–2019 гг. проводили сбор информации, в том числе анализировали отчётность управления ветеринарии, Кировской областной ветеринарной лаборатории и Роспотребнадзора по Кировской области для оценки регистрации зооантропоозных заболеваний. Научные исследования по выявлению дирофиляриоза среди собак в Кировской области проводились в период 2013–2019 гг. в рамках госконтрактов. Кровь у животных брали в утренние часы из вены сафена в пробирки с антикоагулянтом для обнаружения живых микрофилярий методом центрифугирования с дистиллированной водой по В. Б. Ястребу, 2004.

### Результаты исследований и обсуждение

Трихинеллез относится к природно-очаговым инвазиям, распространенным в природном и синантропном биоценозах во всем мире [1, 3]. Наиболее распространены высокопатогенные для человека *Trichinella spiralis* и *Trichinella nativa*. Трихинеллы паразитируют у всеядных, плотоядных, насекомоядных, грызунов, морских млекопитающих, птиц и человека [2, 3].

Известно более 100 видов млекопитающих, являющихся трихинеллоносителями. В качестве хозяев выступают не только хищники и всеядные, но и отдельные виды травоядных животных. В природных очагах циркуляция возбудителей трихинеллёза осуществляется между дикими животными: хищничество, каннибализм, поедание падали [14, 15].

Впервые вспышка трихинеллеза у человека была зарегистрирована в городе Кирове в 1947 году. Заболело 22 человека, 3 умерло, 2 болели в очень тяжелой форме. Источником инвазии явилась свинина из личного подсобного хозяйства. С данного времени в г. Кирове была введена обязательная трихинеллоскопия всех свиных туш, а в последующем и туш диких животных, мясо которых употреблялось человеком в пищу. Однако случаи заболевания трихинеллёзом продолжали регистрироваться (1995, 1999, 2002 гг.) и были связаны с употреблением в пищу мяса бурого медведя, не прошедшего ветеринарно-санитарную экспертизу, однако в 2000 году люди заболели при употреблении в пищу мяса бродячей собаки [8].

Так, в 1995 году в Лузском районе зарегистрирован 1 случай, в 1999 году – 5 случаев в Подосиновском, Шабалинском, Яранском районах, в том числе у 2 детей (Подосиновский район), в 2002 году – 1 случай в Пижанском районе. В 2000 году зарегистрированы 6 случаев трихинеллёза в Слободском районе Кировской области, в том числе 1 ребенок. Последний случай заболевания трихинеллезом человека зафиксирован в 2007 году в Кирово-Чепецке: по данным управления Роспотребнадзора по Кировской области заболело 6 человек, из них 2 детей до 14 лет.

У диких животных трихинеллез распространен на территории всей области и регистрирует-

ся постоянно. Впервые среди диких животных трихинеллез был выявлен у бурого медведя в 1957 году в Шабалинском районе [7, 14].

В 2015 году при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы было выявлено 7 случаев трихинеллеза в мясе диких животных, обязательных к прохождению экспертизы: 3 барсука, 2 кабана, 2 медведя; в 2016 году выявлено 5 случаев трихинеллеза: 4 медведя, 1 кабан; в 2017 году в 8 случаях: 1 барсук, 7 медведей, в 2018 году в 5 случаях: 2 кабана, 3 медведя, в 2019 году в 3 случаях (рис.1). Туши были отправлены на утилизацию.

Выявлено снижение регистрации количества случаев трихинеллеза у диких животных в 2018 году до уровня 2016 года. На основании данных показателей были установлены ограничительные мероприятия (карантин) по трихинеллёзу животных: в 2015 и 2016 гг. в 4 случаях, в 2017 году в 6 случаях, в 2018 году в 2 случая, в 2019 году в 2 случаях.

По данным управления ветеринарии Кировской области в 2015 году трихинеллез был выявлен на территории Санчурского, Яранского, Унинского, Уржумского районов, в 2016 году в Слободском, Верхошижемском, Куменском и Унинском районах, в 2017 году в Уржумском, Советском, Немском, Подосиновском и Унинском районах, в 2018 году в Лузском и Кикнурском районах, в 2019 году трихинеллез зарегистрирован на территории Котельничского и Оричевского районов. Лузский и Подосиновский районы граничат с неблагоприятными по трихинеллёзу с Архангельской и Вологодской областями, Кикнурский район находится на границе с Нижегородской областью, Советский и Санчурский районы на границе с Марий Эл, Немский и Унинский с Удмуртией, Уржумский с Татарстаном.

Необходимо отметить, что цифровые значения, представленные по регистрации трихинеллёза среди диких животных, могут быть занижены, так как исследованию подвергались только туши барсуков, медведей и кабанов, доставленных на экспертизу. В 2014 году зарегистрирован случай трихинеллёза у рыси в посёлке Афанасьево.

В РФ остаётся сложной эпидемиологическая ситуация по эхинококкозу у людей.

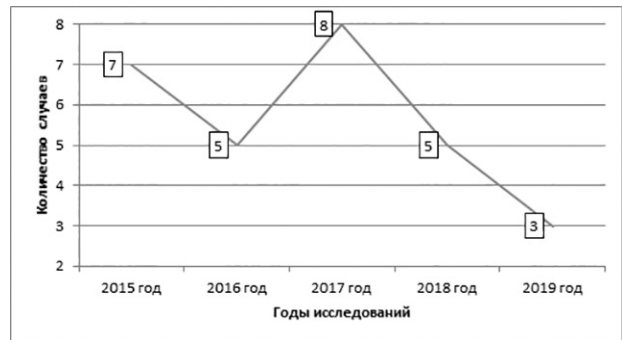


Рис. 1. Регистрация трихинеллёза диких животных на территории Кировской области по годам (по данным управления ветеринарии)

Неблагополучными по эхинококкозу являются Северный Кавказ, Урал, Иркутская область и Дальний Восток. Эхинококкоз характеризуется хроническим течением болезни, нередко приводит к длительной потере трудоспособности, инвалидности и, иногда, к летальному исходу. При этом гельминтозе в печени, легких, головном мозге образуются единичные или множественные кистозные образования, содержащие личинки паразитов — «эхинококковые пузыри». Киста растет медленно, на протяжении нескольких лет, отодвигая и сдавливая ткани хозяина, которые атрофируются и некротизируются. В РФ ежегодно регистрируется более 500 случаев эхинококкоза, в том числе в Кировской области выявляется по 6–7 случаев в год. За последние 20 лет показатель заболеваемости эхинококкозом в стране увеличился в 3 раза, в структуре заболевших 14 % составляют дети [11, 16].

В Кировской области эхинококкоз ежегодно регистрируется у людей с 2001 года. Тревожным сигналом является устойчивая регистрация данного заболевания на территории области. Так, на протяжении последних 10 лет, с 2009 по 2019 гг. заболевание регистрировалось на территории 19 районов Кировской области (47,5 %), в том числе в самом городе Кирове. На протяжении последних 5 лет эхинококкоз регистрировался ежегодно с максимальным значением в 2017 году (6 случаев заболевания), в 2018 и 2019 гг. значения были ниже и достигали 4 и 2 заболевших соответственно (рис.2).

Данная ситуация с устойчивой регистрацией эхинококкоза возможно связана со

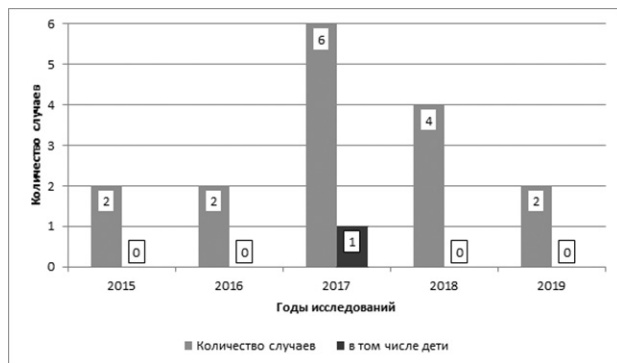


Рис. 2. Регистрация эхинококкоза у жителей Кировской области по годам (по данным Роспотребнадзора)

значительной численностью волков, лисец, лосей, обилием мелких грызунов, а также наличием безнадзорных собак и домашних животных, способствующих формированию очагов в дикой природе и синантропном очаге. Кроме того, наличие стойкого очага способствует высокая устойчивость гельминтов во внешней среде [11, 15, 16].

Кроме того, за данный период с 2015 по 2019 гг. эхинококкоз выявлен в природном очаге Кировской области в 10 случаях (77 %): у лося 8 случаев (61,5 %) и кабана 2 случая (15,4 %), а также у домашних животных в 3 случаях (23 %): крупный рогатый скот — 1 случай (7,7 %) и мелкий рогатый скот — 2 случая (15,4 %) (рис. 3).

В РФ растет число случаев регистрации дирофиляриоза. До конца 90-х годов прошлого века зоонозу приписывали определенную территориальную приуроченность. Однако к началу 2000 года инвазия была зарегистрирована у жителей 28 субъектов РФ, к 2008 г. — уже в 39 субъектах РФ, а в настоящее время зооноз выявлен в 41 субъекте РФ [9].

Широкому распространению дирофиляриоза способствует изменение климатических, экологических и социальных условий. До 2008 года в Кировской области не было зарегистрировано случаев дирофиляриоза. В 2008 году был впервые диагностирован дирофиляриоз у жителей Нововятского и Котельничского районов. На сегодняшний день дирофиляриоз человека зарегистрирован в Кирово-Чепецком и Котельничском районах, а также в городе Кирове. Из клинических проявлений заболевания преобладает дирофиляриоз органов зрения, вызванный

нематодой *Dirofilaria repens*. Наиболее благоприятным для заражения является период с мая по сентябрь при наличии инвазированных животных и значительной численности кровососущих насекомых. Урбанизация и социально-бытовые проблемы привели к возникновению синантропных «подвальных» популяций комаров в затопляемых подвалах многоквартирных домов, что возможно является причиной круглогодичного заражения [5, 6, 12].

Заражение человека происходит через укусы комаров, зараженных личинками микрофиляриями. Человек считается биологическим тупиком в развитии гельминта, так как самки не могут достигать половой зрелости и продуцировать личинки. Однако заболевание приносит дискомфорт человеку, применение микрофилярицидных препаратов неэффективно и гельминта можно удалить только хирургически [6, 10]. Кроме дирофиляриоза органов зрения описаны случаи локализации гельминта в коже, слизистых оболочках, легких и плевре. Однако в последнее время появляются работы, свидетельствующие о возможности микрофиляриемии и доказывающие, что условия в организме человека являются более благоприятными для развития дирофилярии, чем считалось ранее, и позволяют гельминту достигать половой зрелости и размножаться. В таком случае человек может являться источником инвазии [13].

Существует очаг дирофиляриоза в дикой природе Кировской области. По данным ветеринарно-санитарной экспертизы неодно-

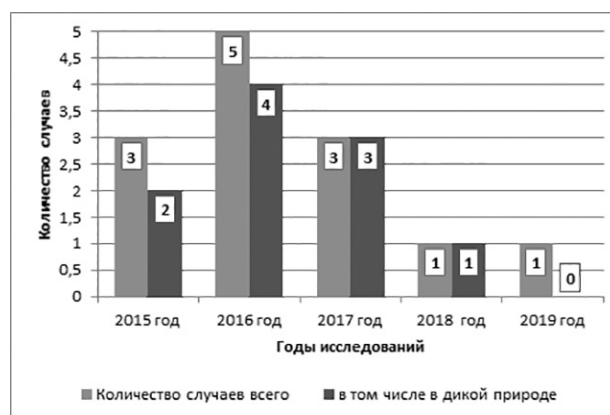


Рис. 3. Регистрация эхинококкоза у животных Кировской области по годам (по данным областной ветеринарной лаборатории)

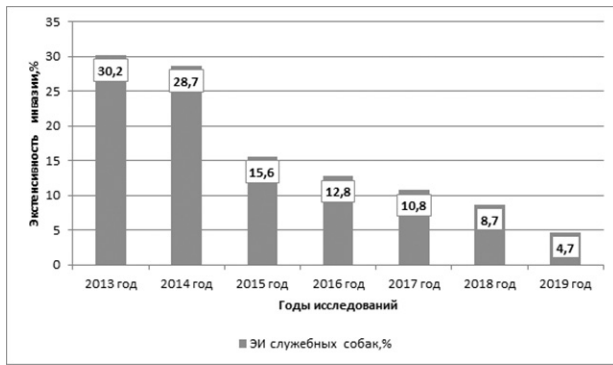


Рис. 4. Экстенсивность инвазии дирофиляриоза у служебных собак в Кировской области (по данным авторов в рамках грантов)

кратно выявлялись случаи дирофиляриоза медведей. Так, в 2015 году областной ветеринарной лабораторией были выявлены 2 случая дирофиляриоза медведя в Уржуме. Ранее в 2002, 2004, 2009–2012 гг. О. В. Масленниковой [4] зарегистрирован дирофиляриоз у бурых медведей в природной среде, вызванный нематодой *Dirofilaria ursi*.

В синантропном очаге, начиная с 2013 года, ежегодно регистрируется дирофиляриоз среди служебных и домашних собак. Максимальная экстенсивность инвазии (ЭИ) среди служебных собак отмечена в 2013 году и достигала 30,2 %, а среди собак, проживающих в квартире, показатель был значительно ниже и находился на уровне 11,8 %. Наименьшая экстенсивность инвазии зарегистрирована в 2019 году, данный показатель среди служебных собак составил 4,7 %, что несомненно связано с эффективными диагностическими и лечебно-профилактическими мероприятиями в отношении данного гельминтоза.

## Выводы

На сегодняшний день Кировская область благополучна по трихинеллёзу человека, однако ежегодно регистрируют трихинеллез в дикой природе. С 2017 года снизилась частота регистрации трихинеллёза человека в РФ (со 139 человек в 2016 году до 63 человек в 2017 и 40 человек в 2018 годах). В Кировской области произошло снижение количества случаев регистрации в дикой природе (с 8 случаев в 2017 до 5 случаев в 2018 и 3 случаев в 2019 гг.). Стабильно неблагополучными являются пограничные Лузский и Кикнурский районы Кировской области.

Эхинококкоз человека в Кировской области ежегодно регистрируется с 2001 года. Начиная с 2017 года, отмечена тенденция к снижению частоты случаев заболевания с 6 до 4 в 2018 году и 3 в 2019 г. В дикой природе с 2015 по 2019 гг. эхинококкоз зарегистрирован в 77 % случаев (лось и кабан), у домашних животных в 23 % случаев (крупный и мелкий рогатый скот).

Дирофиляриоз человека в Кировской области впервые зарегистрирован в 2008 году. На сегодняшний день сохраняется возможность заболевания человека за счёт очага в дикой природе (дирофиляриоз медведей) и синантропном очаге (домашние и служебные собаки) с вектором передачи в виде кровососущих насекомых – комаров.

Распространению рассматриваемых заболеваний способствует наличие очага в дикой природе, в том числе соседних регионах, высокая устойчивость и вирулентность возбудителей, благоприятные климатические и социально-экологические условия.

## Список литературы

1. Бессонов А. С. Методические указания по лабораторной диагностике трихинеллеза животных / А. С. Бессонов, А. В. Успенский, Н. В. Шеховцов // Департамент ветеринарии МСХиП РФ. № 13-7-2/1428 от 28.10.98.
2. Букина Л. А. Методические положения по профилактике трихинеллеза на территории Чукотского полуострова / Л. А. Букина, И. М. Одоевская, А. В. Успенский // Российский паразитологический журнал. 2014. № 3. С. 137–140.
3. Букина Л. А. Распространение трихинеллеза на морских побережьях Чукотки Л. А. Букина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2011. № 4 (16). С. 80–84.
4. Бякова О. В. Дирофиляриоз собак в Кировской области / О. В. Бякова, О. В. Масленникова, С. А. Ермолина // Фундаментальные исследования. 2014. № 11–6. С. 1297–1300.
5. Бякова О. В. *Dirofilaria repens* и *dirofilaria immitis* – возбудители дирофиляриоза плотоядных в Кировской области / О. В. Бякова, Л. В. Пилип // Актуальные проблемы науки и агропромышленного комплекса в процессе европейской интеграции: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию высшего сельскохозяйственного образования на Урале. 2013. С. 165–167.
6. Бякова О. В. Облигатно-трансмиссивный зооноз служебных собак / О. В. Бякова, Л. В. Пилип // Аграрная наука — сельскому хозяйству: сборник материалов XIII Международной научно-практической

конференции: в 2 кн. ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», 2018. С. 364–366.

7. Бякова О. В. Распространение трихинеллеза на территории Кировской области / О. В. Бякова, Л. В. Пилип, В. В. Усов // Вестник Совета молодых ученых Рязанского государственного агротехнологического университета имени П.А. Костычева. 2019. № 1 (8). С. 5–11.

8. Жданова О. Б. Некоторые особенности распространения трихинеллеза в естественных биоценозах кировской области / И. И. Окулова, С. П. Ашихмин, З. Н. Бельтюкова, И. А. Домский, А. А. Хайдарова, Л. А. Написанова // Вятский медицинский вестник. 2015. № 3 (47). С. 36–39.

9. Золотых Т. А. Дирофиляриоз домашних плотоядных Воронежской области (распространение, клинико-гематологическая характеристика, меры борьбы и профилактики: диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук [Электронный ресурс] [http://www.stgau.ru/science/dis/dis\\_presto/zolotyh.pdf](http://www.stgau.ru/science/dis/dis_presto/zolotyh.pdf) (Дата обращения 22.02.2020).

10. Ким Е. А. Дирофиляриоз / Е. А. Ким, Ю. А. Котина, Л. Б. Сейдулаева, К. Б. Карманова // Вестник АГИУВ. № 4. 2012. С. 40–42.

11. Марамзина М. Н. Эпидемия эхинококкоза в Кировской области / М. Н. Марамзина, Н. В. Дехтерева, Т. Н. Рохина // Новые и возвращающиеся паразитозы. 2012. Т. 2. № 1–2. С. 371–372.

12. Пилип Л. В. Использование экспресс-теста для выявления антигенов *D.immitis* / Л. В. Пилип, О. В. Бякова // Вестник Совета молодых ученых Рязанского государственного агротехнологического университета имени П.А. Костычева. 2018. № 1 (6). С. 53–57.

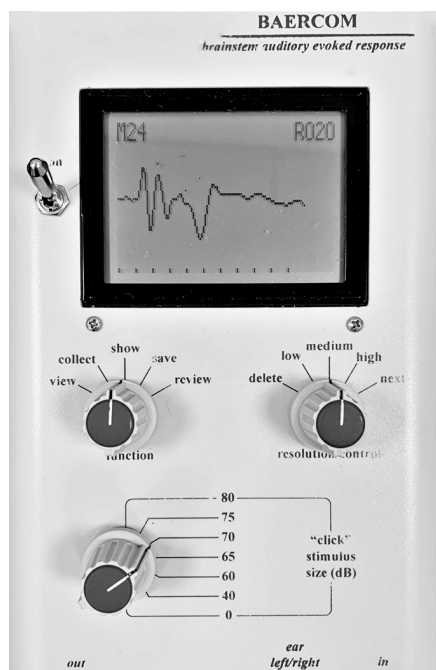
13. Сергиев В. П. Итоги изучения дирофиляриоза человека в России / В. П. Сергиев, В. Г. Супряга, А. М. Бронтейн, Л. А. Галушкина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. № 3. 2014. С. 3–9.

14. Управление ветеринарии Кировской области [Электронный ресурс] <http://www.vetuprkirov.ru/v-kirovskoj-oblasti> (Дата обращения 22.02.2020).

15. Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Кировской области [Электронный ресурс] <https://www.43.rosпотребнадзор.ru> (Дата обращения 22.02.2020).

16. Центр гигиены и эпидемиологии в Кировской области [Электронный ресурс] <http://www.sanepid.ru> (Дата обращения 24.12.2019).

## Объективная проверка слуха у животных. ВАЕР-тест



С 2018 года ЧОУ ДПО «Институт Ветеринарной Биологии» проводит обучающий курс по объективной проверке слуха у животных (ВАЕР-тест) у собак, кошек и других видов животных. В теоретической части занятий слушатели знакомятся с теорией процесса регистрации вызванных слуховых потенциалов и основами нейрофизиологии. За время практических занятий каждый курсант обучается самостоятельно проводить осмотр животного перед проведением ВАЕР-теста, проверять племенные документы (для выписки сертификата допуска в разведение), непосредственно выполнять ВАЕР-тест, фиксировать данные тестирования, интерпретировать данные тестирования, выписывать экспертное заключение о результатах ВАЕР-теста. По окончании курса слушатели получают **СЕРТИФИКАТ СПЕЦИАЛИСТА** по проведению ВАЕР-теста.

Подробнее: [http://invetbio.spb.ru/seminar\\_baer.htm](http://invetbio.spb.ru/seminar_baer.htm)

Записаться на курс, приобрести прибор для проверки слуха у животных: [ivb-info@mail.ru](mailto:ivb-info@mail.ru)

DOI: 10.24411/2074-5036-2020-10028

УДК: 619:615.015.35:616-091

Ключевые слова: доклинические исследования, острая токсичность, препарат «Эмикон», крастацеозы, карп, средняя летальная доза (ЛД50)

Key words: preclinical studies, acute toxicity, drug «Emicon», crustaceosis, carp, median lethal dose (LD50)

<sup>1</sup>Головина Н.А., <sup>2</sup>Енгатев С.В., <sup>3</sup>Гончарова М.Н., <sup>2</sup>Корсакова М.В., <sup>1</sup>Сафронов Д.С.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «ЭМИКОН» НА КАРПАХ *DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY OF "EMICON" ON FISH*

<sup>1</sup>Дмитровский рыбохозяйственный технологический институт (филиал) ФГБОУ ВО «АГТУ»  
Адрес: 141821, Россия, Московская обл., Дмитровский р-он, п. Рыбное, 36  
*Dmitrov Fish Farming Industrial Institute (Branch), FSBEI «Astrakhan State Technical University»*

*Address: 141821, Russia, Moscow area, Dmitrov district, Rybnoe, 36*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины  
и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Адрес: 109472, Россия, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

*Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Scriabin*

*Address: 109472, Russia, Moscow, Academician Scriabin street, 23*

<sup>3</sup>ООО «НВЦ Агроветзащита»

Адрес: 129329, Россия, Москва, Игарский проезд, д. 4, стр. 2

*NVT Agrovetsaschita*

*Address: 129329, Russia, Moscow, Igarsky passage, 4, parade 2*

Головина Нина Александровна, д. б. н., профессор, заведующая кафедрой «Аквакультура и экология».

E-mail: kafvba@mail.ru

*Golovina Nina Aleksandrovna, PhD in Biological Science, Professor. E-mail: kafvba@mail.ru.*

Енгатев Сергей Владимирович, д. в. н., профессор, академик РАН. E-mail: sve@vetmag.ru.

*Engashev Sergey Vladimirovich, PhD in Veterinary Science, Professor, academician of the RAS.*

E-mail: sve@vetmag.ru

Гончарова Маргарита Николаевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник.

E-mail: mgoncharova@vetmag.ru

*Goncharova Margarita Nikolaevna, PhD of Veterinary Sciences, senior scientist.*

E-mail: mgoncharova@vetmag.ru

Корсакова Мария Валерьевна, аспирант кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы.

E-mail: masha.korsakova.94@mail.ru

*Korsakova Maria Valeryevna, Postgraduate at the Department of parasitology and veterinary sanitary expertise.*

E-mail: masha.korsakova.94@mail.ru

Сафронов Дмитрий Сергеевич, студент кафедры «Аквакультура и экология». E-mail: kafvba@mail.ru

*Safonov Dmitry Sergeevich, Student of Department «Aquaculture and ecology». E-mail: kafvba@mail.ru*

**Аннотация.** Оценка острой токсичности является необходимым этапом доклинических исследований, направленных на получение доказательств безопасности лекарственных средств. Цель настоящей работы – определение острой токсичности нового противопаразитарного препарата «Эмикон» на карпах. Приготовленную суспензию препарата с помощью катетера вводили рыбам массой 140–150 г в передний отдел кишечника порционно через каждые 2 часа. Регистрировали сроки развития интоксикации карпов с подробным описанием наблюдаемой клинической картины. Патологоанатомическое вскрытие погибших рыб проводили через 5 и 14 суток после введения препарата. При пероральном введении препарата «Эмикон» карпам было установлено значение средней летальной дозы (ЛД50), которое составило 10416,7 мг/кг массы рыб. Согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007 – 76) [2] препарат «Эмикон» может быть отнесен к 4-му классу токсичности – малоопасные вещества.

**Summary.** Acute toxicity evaluation is an indispensable stage of preclinical studies aimed at obtaining evidence of drug safety. The purpose of this work is to determine the acute toxicity of the new antiparasitic drug “Emicon” on carps. Prepared suspension of the drug were injected intragastric into fish weighing 140–150 g. via a catheter portionwise every 2 hours. The period of carp intoxication progresses was noted with a detailed description of the observed clinical presentation. Pathological autopsy of dead fish was conducted 5 and 14 days after the drug injection. Oral administration of “Emicon” drug into Carp showed the median lethal dose (LD50) which equals 10416,7 mg / kg of fish weight. According to the generally accepted hygienic classification (GOST 12.1.007 – 76) [2], the drug “Emicon” can be assigned to the 4th toxicity class – low hazardous substances.



**Введение**

Успех современного рыбоводства зависит в значительной степени от обеспечения его эпизоотического благополучия. В природных экосистемах у рыб редко отмечаются массовые заражения паразитическими рачками, тогда как в условиях аквакультуры crustaceозы способны причинять значительный экономический ущерб рыбоводным хозяйствам [1]. Исходя из этого компанией ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» разработан и представлен для исследования противопаразитарный препарат «Эмикон» в форме порошка для орального применения, действующее вещество которого относится к группе авермектинов и обладает активностью в отношении паразитических ракообразных.

К одним из обязательных требований, необходимых для внедрения в ветеринарную практику новых лекарственных средств, относится изучение их безопасности для целевых животных. Острая токсичность, являющаяся токсикометрической характеристикой лекарственного препарата, выражает его способность вызывать гибель животных при введении в течение суток и служит для определения переносимых, токсических и летальных доз фармакологического вещества и причин наступления гибели животных с анализом клинической картины интоксикации [3, 4].

**Цель работы** – изучение острой токсичности препарата «Эмикон» на карпах при пероральном введении и определение токсических параметров.

**Материалы и методы**

Исследования проводились в условиях аквариального помещения Дмитровского рыбохозяйственного технологического института (филиал) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет» (ДРТИ ФГБОУ ВО «АГТУ»). Схему опыта разрабатывали на основании имеющегося исходного показателя LD<sub>50</sub> действующего вещества для карпов [5].

При проведении опытов применялись биологические, клинические и патоморфологические методы исследований.

В эксперименте были использованы чешуйчатые карпы массой 140–150 г, в возрасте 18 месяцев в количестве 42 экз. Предварительно рыбы содержались в пластиковом бассейне объемом 300 л. Затем было сформировано 6 опытных и 1 контрольная группы рыб по 6 экз. в каждой, которые пересадили в проточные аквариумы объемом 70 л. Рыбам первой опытной группы препарат задавали в дозе 2,5 г/кг, второй – 5,0 г/кг, третьей – 7,5 г/кг, четвертой – 10 г/кг, пятой – 12,5 г/кг, шестой – 15 г/кг, а контрольной группе рыб вводили суспензию из вспомогательных веществ в дозе 15 г/кг. Температура на протяжении всего эксперимента составляла +15...+17°C, pH – 8,1, содержание кислорода в воде – 8,3–8,7 мг/л. Рыб в контрольной и опытных группах кормили экструдированным кормом для молоди карпа в количестве 1 % от ихтиомассы.

Препарат рекомендован для карповых рыб в дозе 0,15 г на 1 кг массы рыб. Непосредственно перед введением «Эмикон» смешивали с водой до получения густой суспензии. Для подготовки исследуемого образца к введению в передний отдел кишечника было экспериментально выбрано соотношение максимально возможного количества препарата к воде 1 : 5, при котором образуется суспензия, способная проходить сквозь просвет катетера. Аналогичным образом готовили контрольный образец из вспомогательных веществ.

На основании предварительных опытов установлена невозможность однократного введения доз, вызывающих гибель рыб, поэтому суспензии препарата с помощью катетера вводили рыбам в передний отдел кишечника от 2 до 4 раз в течение суток порционно с интервалом 2 часа. Для каждой рыбы производился перерасчет в соответствии с живой массой. Карпам контрольной группы вводили суспензию из вспомогательных веществ.

Расчет LD<sub>50</sub> произведен по методу Кёрбера с использованием формулы:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(E * D)}{N}$$

где  $LD_{100}$  — доза изучаемого вещества, которая вызвала смертельный исход у всей группы рыб;

E — интервал между каждыми двумя смежными дозами;

D — среднее арифметическое из числа рыб, у которых наблюдался летальный исход под влиянием каждых двух смежных доз;

N — число рыб в каждой группе;

$\Sigma$  — сумма.

Результаты исследований. Схема и результаты опыта по оценке острой токсичности препарата «Эмикон» на годовиках карпа в лабораторных условиях описаны в таблице № 1. Дозы «Эмикона» 2,5 г/кг и 5,0 г/кг ихтиомассы, введенные за 2 приема, не вызвали гибели и выраженных клинико-патологических признаков токсикоза у подопытных рыб. После каждого введения суспензии препарата у рыб в течение первых 2–3-х часов наблюдали незначительное угнетение, вялость, малоподвижность. В дальнейшем общее состояние у большинства рыб восстановилось, только у отдельных рыб координация движений была немного нарушена.

При введении дозы препарата 7,5 г/кг ихтиомассы (1,125 г / экз.) за 3 приема каждые

2 часа, к концу опыта (14 день) погибла 1 из 6 рыб. У всех карпов первые 3–6 дней наблюдали клинические признаки токсического воздействия — замедленное поведение, вздутие брюшка. В конце опыта выжившие рыбы начинали брать корм. Кишечник немного гиперемированный, внутренние органы близки к норме, сдавленные.

При введении дозы препарата 10 г/кг ихтиомассы за 3 приема к концу опыта погибло 3 рыбы с проявлением у погибших и выживших особей таких же клинических признаков токсического воздействия, как и в группе № 2.

При введении дозы препарата 12,5 г/кг ихтиомассы за 4 приема гибель к концу опыта составила 4 экз. из 6 рыб с проявлением у погибших рыб признаков токсикоза — угнетенное и замедленное поведение, сильно вздутое брюшко, которое сохранялось до гибели, внутренние органы и кишечник гиперемированные, сдавленные.

При введении дозы препарата 15 г/кг ихтиомассы погибли все 6 опытных рыб, при этом 4 из них погибли в первые 5 дней с проявлением клинических признаков острого токсического воздействия.

**Таблица 1**

**Результаты опытов по оценке острой токсичности препарата «Эмикон»**

№ группы, кол-во рыб	Доза препарата г/кг рыб (одной рыбе)	Суммарный объем введения лекарственной суспензии на 1 рыбу	Доза однократного введения лекарственной суспензии	Количество погибших рыб		
				через 5 дней	через 14 дней	Всего
№ 1 6 рыб	2,5 г/кг (0,375 г)	2 мл	1 мл + 1 мл	0	0	0
№ 2 6 рыб	5,0 г/кг (0,75 г)	4 мл	2 мл + 2 мл	0	0	0
№ 3 6 рыб	7,5 г/кг (1,125 г)	5,63 мл	2+2+ 1,63 мл	0	1	1
№ 4 6 рыб	10 г/кг (1,125 г)	7,5 мл	2,5+2,5+2,5 мл	2	1	3
№ 5 6 рыб	12,5 г/кг (1,875 г)	9,38 мл	2,5 мл + 2,5 мл + 2,0 мл + 2,4 мл	2	2	4
№ 6 6 рыб	15 г/кг (2,25 г)	11,25 мл	2,5 мл + 2,5 мл + 2,5 мл + 3,75 мл	4	2	6
№ 7 6 рыб (контрольная)	15 г/кг (2,25 г)	11,25 мл	2,5 мл + 2,5 мл + 2,5 мл + 3,75 мл	4	2	6

Таблица 2

**Обработка материала по изучению острой токсичности препарата «Эмикон» на карпах по методу Кёрбера**

Доза мг/кг	5000	7500	10000	12500	15000
Карп экз.	6	6	6	6	6
Из них выжило	6	5	3	2	0
Из них погибло	0	1	3	4	6
Д	0,5; 2,0; 3,5; 5,0				
Е	2500; 2500; 2500; 2500				
Е × Д	1,25; 5,0; 8,75; 12,5				

$$LD_{50} = 15000 - (0,5 \times 2500 + 2 \times 2500 + 3,5 \times 2500 + 5 \times 2500) : 6 = 15000 - 27500 : 6 = 10416,7 \text{ мг/кг}$$

У контрольной группы рыб, которой по схеме была введена суспензия из вспомогательных веществ в дозе 15 г/кг ихтиомассы, также произошла гибель всех 6 рыб с проявлением у них выраженных клинических признаков отравления в виде сильного вздутия брюшка, гиперемии внешних покровов, кишечника, ануса, кровоизлияний в почках и печени (очевидно в результате их сдавливания).

На основании того, что при введении одинаковых доз препарата и суспензии из вспомогательных веществ (15 г/кг ихтиомассы) наблюдалась сходная динамика гибели рыб, можно заключить, что наличие действующего вещества в испытанной дозе не влияет на увеличение токсичности препарата, а гибель рыб обусловлена не токсическими свойствами активной фармацевтической субстанции, а введением большого объема суспензии препарата.

Исходные показатели для расчета ЛД50 на основании результатов проведенных опытов приведены в таблице 2.

При обработке данных эксперимента при помощи прикладной программы для ПК LD<sub>16</sub>, LD<sub>50</sub>, LD<sub>84</sub>, LD<sub>100</sub> evaluation V.0.2 Copyright© 2002 НПП «Наука Плюс» получены следующие значения:

$$LD_{16} = 6987,35 \text{ мг/кг};$$

$$LD_{50} = 10610,08 \text{ мг/кг};$$

$$LD_{84} = 14232,8 \text{ мг/кг};$$

$$LD_{100} = 16044,16 \text{ мг/кг}.$$

Таким образом, LD50 = 10610,08 ± 922,68 мг/кг. Оба метода дали близкий результат,

что говорит о достоверности полученных данных.

**Заключение**

В результате проведенных исследований были изучены токсикологические свойства лекарственного препарата для ветеринарного применения «Эмикон» на целевых животных (рыбах) в условиях острого эксперимента.

При пероральном введении препарата «Эмикон» карпам было установлено значение ЛД50, которое составило 10416,7 мг/кг массы рыб. Таким образом, согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007 — 76), исследуемый препарат можно отнести к 4-му классу опасности — малоопасные вещества.

**Список литературы**

1. Головина Н. А. Ихтиопатология / Н. А. Головина, Ю. А. Стрелков, В. Н. Воронин, П. П. Головин, Е. Б. Евдокимова, Л. Н. Юхименко // М.: Колос, 2010. 512 с.
2. ГОСТ 12.1.007 — 76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. М.: Стандартинформ, 2007.
3. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / А. Н. Миронов. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
4. Самохин В. Т. Методические указания по токсикологической оценке новых препаратов для лечения и профилактики незаразных болезней животных / утв. дир. института, д. б. н., проф. В. Т. Самохин, ВНИ-ИНБЖ, 1987. 22 с.
5. Уразаева Р. Д. Фармако-токсикологическая оценка и применение филомеда при филотроидозе карпа: Автореф. ... к. б. н. / Р. Д. Уразаева М., 2010. 21 с.

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10029

УДК 619:616.9:616-08:616-008.8:636.7

Ключевые слова: собаки, лептоспироз, бабезиоз, лечение, клинические признаки, кровь, морфологические показатели, биохимические показатели

*Key words: dogs, leptospirosis, babesiosis, treatment, clinical signs, blood, morphological parameters, biochemical parameters*

**Кривко М. С., Тамбиев Т. С., Кошляк В. В., Дулетов Е. Г.**

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ СХЕМ ЛЕЧЕНИЯ СОБАК ПРИ АССОЦИАТИВНОМ ТЕЧЕНИИ ЛЕПТОСПИРОЗА И БАБЕЗИОЗА**

### *COMPARATIVE EFFICIENCY OF HEPATOPROTECTIVE TREATMENT PLANS OF DOGS IN ASSOCIATIVE COURSE OF LEPTOSPIROSIS AND BABESIOSIS*

ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет»

Адрес: 346493, Россия, п. Персиановский, ул. Кривошлыкова, д. 24

*Don State Agrarian University. Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education*

*Address: 346493, Russia, Persianovsky, Krivoshlykov st., 24*

Кривко Михаил Сергеевич, к. в. н., доцент кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии.

E-mail: [mihail-krivko@mail.ru](mailto:mihail-krivko@mail.ru)

*Krivko Mikhail Sergeevich, PhD in Veterinary Science, Associate Professor of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology Dept. E-mail: [mihail-krivko@mail.ru](mailto:mihail-krivko@mail.ru)*

Тамбиев Тимур Сергеевич, к. в. н., и. о. зав. кафедрой паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии.

E-mail: [tim.tambieff-earl@yandex.ru](mailto:tim.tambieff-earl@yandex.ru)

*Tambiev Timur Sergeevich, PhD in Veterinary Science, Acting Head of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology Dept. E-mail: [tim.tambieff-earl@yandex.ru](mailto:tim.tambieff-earl@yandex.ru)*

Кошляк Владимир Васильевич, к. с.-х. н., доцент кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы и эпизоотологии.

E-mail: [koschlyak2017@yandex.ru](mailto:koschlyak2017@yandex.ru)

*Koshlyak Vladimir Vasilyevich, PhD in Agriculture Science, Associate Professor of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology Dept. E-mail: [koschlyak2017@yandex.ru](mailto:koschlyak2017@yandex.ru)*

Дулетов Евгений Георгиевич, к. в. н., доцент кафедры биологии, морфологии и вирусологии.

E-mail: [eduletov@yandex.ru](mailto:eduletov@yandex.ru)

*Duletov Evgenii Georgievich, PhD in Veterinary Science, Associate Professor of Biology, Morphology and Virology Dept. E-mail: [eduletov@yandex.ru](mailto:eduletov@yandex.ru)*

**Аннотация.** Изучены клинические признаки, морфологические и биохимические показатели крови собак, у которых методом полимеразной цепной реакции было диагностировано ассоциативное течение лептоспироза и бабезиоза. Отмечали следующие клинические признаки болезни: угнетение, анорексию, повышение температуры тела до 39,5–40,5°C, ярко выраженную желтушность видимых слизистых оболочек, гемоглобинурию, диарею. Морфологические показатели крови характеризовались эритроцитопенией на фоне выраженного моноцитоза, незначительной лейкопенией с регенеративным сдвигом ядра влево, резким снижением количества гемоглобина. При биохимическом исследовании крови отмечали резкое увеличение уровня аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и билирубина. Проведена сравнительная эффективность различных гепатопротекторных схем лечения собак. Наиболее эффективной с терапевтической точки зрения оказалась схема лечения с использованием препаратов синулос, метрогил, пиро-стоп, ливенциале, гепа-мерц, 40%-го раствора глюкозы и 5%-го раствора аскорбиновой кислоты.

**Summary.** *Clinical signs, morphological and biochemical parameters of the blood of dogs were studied, in which by polymerase chain reaction the associative course of leptospirosis and babesiosis was diagnosed. Clinical signs of the disease: oppression, anorexia, temperature rise to 39.5–40.5 °C, pronounced biliousness of visible mucous membranes, hemoglobinuria, diarrhea. Morphological blood parameters were characterized by erythrocytopenia against the background of monocytosis, leukopenia with a regenerative shift of the nucleus to the left, a decrease in hemoglobin. A biochemical blood test showed a sharp increase the level of alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and bilirubin. The comparative efficacy of various hepatoprotective treatment plans in dogs was carried out. The most effective medications from a therapeutic point of view was: Sinuloks, Metrogyl, Pyro-Stop, Liventsiale, Hepa-Merz, 40% glucose solution and 5% ascorbic acid solution.*

### Введение

Различные природно-очаговые инфекционные и инвазионные заболевания собак являются серьезным фактором, сдерживающим развитие отечественного собаководства [4, 5].

Из заболеваний данной группы на юге Российской Федерации достаточно часто регистрируются лептоспироз и бабезиоз, при которых развиваются сходные клинические признаки, обусловленные выраженным гемолизом эритроцитов, анемией, поражением печени и почек [2, 3, 6].

По результатам исследований различных авторов лептоспироз и бабезиоз довольно часто протекают в ассоциации друг с другом, что проявляется более тяжелым развитием морфофункциональных изменений в организме больных собак, чем при моноинфекции. В связи с этим дальнейшее изучение патогенеза заболевания и разработка эффективных методов борьбы с данной патологией являются весьма актуальными [1, 5, 6, 7].

Целью наших исследований являлось изучение клинические признаков, морфологических и биохимических показателей крови у собак, а также сравнение терапевтической эффективности различных гепатопротекторных схем лечения при смешанном течении лептоспироза и бабезиоза.

### Материалы и методы

Исследования проводились в 2019–2020 гг. в частной ветеринарной клинике «Белый Клык» (г. Новочеркасск) на 24 собаках со смешанным течением лептоспироза и бабезиоза. Диагноз заболевания устанавливали на основании ПЦР-диагностики в лабораторно-диагностическом центре «Vet Union». Клиническое обследование животных проводили по схеме, общепринятой в клинической диагностике болезней. При этом у больных собак проводили сбор анамнеза, внешний осмотр и термометрию. Тяжесть течения заболевания определяли посредством изучения морфологических и биохимических показателей крови.

Проведение общего анализа крови собак осуществляли при помощи полуавтоматического гематологического анализатора. При

этом определяли общее количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина и лейкоцитарную формулу.

Определение биохимических показателей крови собак проводили на автоматическом биохимическом анализаторе с помощью соответствующих диагностических наборов. При этом определяли уровень общего белка сыворотки крови, альбуминов, глобулинов, щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, мочевины, общего билирубина и глюкозы.

Для оценки сравнительной эффективности гепатопротекторных схем лечения собак больных лептоспирозом в ассоциации с бабезиозом было сформировано две группы животных по 12 голов в каждой – контрольная и опытная. Животных контрольной группы лечили по схеме, традиционно используемой в ветеринарной клинике, а опытной – по разработанной нами схеме.

Схема лечения в контрольной группе: 40%-й раствор глюкозы внутривенно в дозе 0,5 мл / кг живой массы 1 раз в день в течение 5 суток; эссенциале Н внутривенно в дозе 0,25 мл / кг живой массы 1 раз в день в течение 10 суток; 5 %-й раствор аскорбиновой кислоты подкожно в дозе 3 мл на животное, в течение 10 суток; пиростоп подкожно в дозе 0,25 мл / 10 кг живой массы однократно; синулокс внутримышечно в дозе 8,75 мг / кг живой массы 1 раз в течение 10 суток.

Схема лечения в опытной группе: 40%-й раствор глюкозы внутривенно в дозе 0,5 мл / кг живой массы 1 раз в день в течение 5 суток; ливенциале внутривенно в дозе 0,25 мл / кг живой массы 1 раз в день в течение 10 суток; гепа-мерц внутривенно в дозе 0,2 мл / кг живой массы 1 раз в день в течение 5 суток, 5 %-й раствор аскорбиновой кислоты подкожно в дозе 3 мл на животное, в течение 10 суток; пиростоп подкожно в дозе 0,125 мл / 10 кг живой массы двукратно с интервалом 24 ч, метрогил внутривенно в дозе 15 мг / кг живой массы 2 раза в течение 6 суток; синулокс внутримышечно в дозе 8,75 мг / кг живой массы 1 раз в течение 10 суток.

Помимо проводимой медикаментозной терапии, собакам обеих групп было назначено

**Морфологические показатели крови собак при смешанном течении лептоспироза и бабезиоза, n=24**

Показатели	Норма	Больные животные
Гемоглобин, г/л	142,68	99,85±9,4
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	7,04	4,27±0,81
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	9,37	6,48±1,1
Эозинофилы, %	4,58	2,22±0,1
Палочкоядерные нейтрофилы, %	5,02	18,2±0,3
Сегментоядерные нейтрофилы, %	62,01	42,94±2,4
Лимфоциты, %	26,36	16,71±0,29
Моноциты, %	2,03	19,25±0,1

диетическое кормление. Об эффективности используемых гепатопротекторных схем лечения судили по изменениям морфологических и биохимических показателей крови.

**Результаты исследований и обсуждение**

У всех подопытных животных на момент поступления в ветклинику при клиническом осмотре отмечали угнетение и анорексию. При этом температура тела колебалась от 39,5 до 40,5°C, частота дыхательных движений – от 35 до 45 дыхательных движений в мин, пульс – от 140 до 160 ударов в мин. Моча была бурого или светло-коричневого цвета. Также отмечали диарею, в отдельных случаях – рвоту. Видимые слизистые оболочки и непигментированные участки кожи имели ярко выраженную желтушность (рис. 1–3).

При проведении гематологических исследований у больных собак выявляли следую-

щие изменения морфологических и биохимических показателей крови (табл. 1, табл. 2).

Морфологические показатели крови больных собак характеризовались резким снижением количества эритроцитов до 4,27±0,81×10<sup>12</sup>/л и уровня гемоглобина до 99,85±9,4 г/л, что связано с разрушением эритроцитов бабезиями и эндотоксинами лептоспир. При этом уровень лейкоцитов опускался до 6,48±1,1×10<sup>9</sup>/л. В лейкоформуле стоит отметить изменение количества лимфоцитов, которое снижалось в среднем до 16,71±0,29%, что связано с развитием иммунодепрессивного состояния на фоне заболевания. Одновременно с этим происходило резкое увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов до 18,2±0,3% и моноцитов до 19,25±0,1%.

Биохимические показатели характеризовались изменением активности аланинами-

**Таблица 2**

**Биохимические показатели крови собак при смешанном течении лептоспироза и бабезиоза, n=24**

Показатели	Норма	Больные животные
Общий белок, г/л	69,4	47,2±0,7
Альбумин, г/л	32,1	25,8±1,5
Глобулин, г/л	37,9	41,4±3,7
Аланинаминотрансфераза, Е/л	82,3	369,81±14,7
Щелочная фосфатаза, Е/л	95,4	288,07±13,1
Мочевина, ммоль/л	4,95	13,62±1,8
Билирубин, мкмоль/л	4,31	19,5±0,42
Глюкоза, ммоль/л	4,76	4,25±0,1

нотрансферазы в сыворотке крови больных собак, уровень которой резко повышался до  $369,81 \pm 14,7$  Е/л вследствие повреждения гепатоцитов лептоспирами и бабезиями и выходом в кровь большого количества фермента. Также отмечали значительное увеличение щелочной фосфатазы до  $288,07 \pm 13,1$  Е/л, что связано с поражением желчных протоков; подъем уровня общего билирубина до  $19,5 \pm 0,42$  ммоль/л, что связано с развитием паренхиматозного холестаза, а также увеличение уровня мочевины до  $13,62 \pm 1,8$ , ммоль/л.

При апробации различных гепатопротекторных схем у больных собак в обеих группах на вторые сутки после начала лечения отмечали снижение температуры тела до  $39,0-39,3^\circ\text{C}$ , однако видимые слизистые оболочки были по-прежнему желтушны, аппетит слабо выражен. Также по мере лечения собак, больных ассоциативным течением лептоспироза и бабезиоза происходило постепенное повышение показателей красной крови (табл. 3).

Количество эритроцитов на пятый день лечения составляло  $5,08 \pm 0,08 \times 10^{12}/\text{л}$  в контрольной и  $5,97 \pm 0,06 \times 10^{12}/\text{л}$  в опытной группах; концентрация гемоглобина соответственно –  $107,1 \pm 1,7$  и  $115,2 \pm 1,7$  г/л. Это, прежде всего, связано с прекращением гемолиза эритроцитов, их адгезии и фагоцитоза. На 10-й день лечения в обеих группах показатели красной крови были в пределах нормы.



Рис. 1. Желтушность кожи и видимых слизистых оболочек при ассоциативном течении лептоспироза и бабезиоза

Динамика биохимических показателей крови по мере лечения больных собак с микс-инфекцией лептоспироза и бабезиоза представлена в табл. 4.

Как видно из представленных табличных данных, уровень аланинаминотрансферазы на пятый день лечения в контрольной группе составлял  $171,7 \pm 19,6$  Е/л, тогда как в опытной группе он был  $129,37 \pm 10,24$  Е/л. Уровень щелочной фосфатазы –  $138,1 \pm 9,9$  и  $127,4 \pm 7,6$  Е/л, билирубина –  $6,82 \pm 0,3$  и  $6,56 \pm 0,3$  мкмоль/л соответственно. На 10-й день лечения данные показатели в контрольной группе составляли соответственно  $102,4 \pm 14,4$  Е/л,  $133,0 \pm 9,4$  Е/л и  $5,05 \pm 0,3$  мкмоль/л; тогда как в опытной группе они были приближены к норме и составляли  $45,4 \pm 9,7$  Е/л,  $86,0 \pm 3,6$  Е/л и  $3,38 \pm 0,3$  мкмоль/л. Это связано с тем, что препараты, применяемые для лечения животных опытной группы, приводят к более быстрому снижению и прекращению цитолиза гепатоцитов и



Рис. 2. Желтушность конъюнктивы при ассоциативном течении лептоспироза и бабезиоза



Рис. 3. Желтушность слизистой оболочки ротовой полости при ассоциативном течении лептоспироза и бабезиоза

**Таблица 3**

**Изменение морфологических показателей крови при применении различных гепаторотекторных схем лечения больных собак, n=24**

Показатели	Норма	Группы животных	
		Контрольная, n=12	Опытная, n=12
на 5-й день лечения			
Гемоглобин, г/л	142,68	107,1±1,7	115,2±1,7
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	7,04	5,08±0,08	5,97±0,06
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	9,37	8,35±1,2	10,33±0,9
Эозинофилы, %	4,58	3,21±0,1	4,13±0,2
Палочкоядерные нейтрофилы, %	5,02	10,44±0,2	8,45±0,3
Сегментоядерные нейтрофилы, %	62,01	57,57±1,9	57,36±1,4
Лимфоциты, %	26,36	20,45±0,2	25,75±0,3
Моноциты, %	2,03	8,33±0,1	4,31±0,2
на 10-й день лечения			
Гемоглобин, г/л	142,68	128,05±1,5	140,07±1,6
Эритроциты, ×10 <sup>12</sup> /л	7,04	6,1±0,2	7,2±0,14
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	9,37	7,1±0,5	8,9±0,6
Эозинофилы, %	4,58	4,02±0,15	4,6±0,2
Палочкоядерные нейтрофилы, %	5,02	9,8±0,7	8,1±0,8
Сегментоядерные нейтрофилы, %	62,01	56,4±1,3	56,8±1,5
Лимфоциты, %	26,36	25,4±1,4	28,4±1,3
Моноциты, %	2,03	4,38±0,17	2,1±0,2

**Таблица 4**

**Изменение биохимических показателей крови при применении различных гепаторотекторных схем лечения больных собак, n=24**

Показатели	Норма	Группы животных	
		Контрольная, n=12	Опытная, n=12
на 5-й день лечения			
Общий белок, г/л	69,4	58,9±1,5	62,6±2,2
Альбумин, г/л	32,1	26,1±1,4	26,6±1,5
Аланинаминотрансфераза, Е/л	37,9	171,7±19,6	129,37±10,24
Щелочная фосфатаза, Е/л	82,3	138,1±9,9	127,4±7,6
Мочевина, ммоль/л	95,4	4,28±0,17	4,13±0,18
Билирубин, мкмоль/л	4,95	6,82±0,3	6,56±0,3
Глюкоза, ммоль/л	4,31	4,28±0,16	4,48±0,17
на 10-й день лечения			
Общий белок, г/л	69,4	66,0±1,4	68,0±1,9
Альбумин, г/л	32,1	25,9±1,3	28,4±1,8
Аланинаминотрансфераза, Е/л	37,9	102,4±14,4	45,4±9,7
Щелочная фосфатаза, Е/л	82,3	133,0±9,4	86,0±3,6
Мочевина, ммоль/л	95,4	4,3±0,18	4,31±0,19
Билирубин, мкмоль/л	4,95	5,05±0,3	3,38±0,3
Глюкоза, ммоль/л	4,31	4,33±0,13	4,67±0,15



активизации регенеративных процессов в паренхиме печени.

## Выводы

1. При ассоциативном течении лептоспироза и бабезиоза собак отмечают следующие клинические признаки болезни: угнетение, анорексию, повышение температуры тела до 39,5–40,5°C, ярко выраженную желтушность кожи и видимых слизистых оболочек, гемоглобинурию, диарею.

2. Морфологические показатели крови больных собак характеризуются эритроцитопенией на фоне выраженного моноцитоза, незначительной лейкопенией с регенеративным сдвигом ядра влево, резким снижением количества гемоглобина.

3. Биохимические показатели крови характеризуются резким увеличением уровня аланинаминотрансферазы, щелочной фосфотазы, билирубина и мочевины.

4. Наиболее эффективной с терапевтической точки зрения является схема лечения с использованием препаратов синулокс, метрогил, пиро-стоп, ливенциале, гепа-мерц, 40%-го раствора глюкозы и 5%-го раствора аскорбиновой кислоты.

## Список литературы

1. Бажанова А.Г. Показатели крови собак при сочетанном течении бабезиоза с лептоспирозом / А.Г. Бажанова // Инновации в производстве, хранении и переработке сельскохозяйственной продукции: матер. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. 2015. С. 45–48.

2. Бобина Е.А. Эпизоотологические особенности и клиническое проявление лептоспироза у собак / Е.А. Бобина, Е.И. Корниенко, А.С. Тищенко // Стратегии и тренды развития науки в современных условиях. 2018. Т. 2. № 1 (4). С. 2–5.

3. Гепатопривный синдром при пироплазмозе у собак (диагностика и лечение) / М.С. Кривко, А.А. Миронова, Е.В. Карташова, Н.В. Ярошенко // Актуальные проблемы научного обеспечения устойчивого развития животноводства Южного Федерального округа: сб. науч. тр. Новочеркасск, 2006. С. 91–93.

4. Диагностика и лечение при ассоциативном течении эрлихиоза и бабезиоза у собак / М.С. Кривко, Т.С. Тамбиев, А.Н. Тазаян, А.А. Миронова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2020. № 1 (60). С. 180–183.

5. Луцук С.Н. Течение бабезиоза собак в моно- и миксинвазии с лептоспирозом / С.Н. Луцук, К.В. Темичев, М.Е. Пономарева // Вестник АПК Ставрополя. 2015. № 4 (20). С. 99–105.

6. Никитин О.А. Использование препаратов крови при совместном течении лептоспироза и бабезиоза собак / О.А. Никитин // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. 2011. № 1. С. 146–148.

7. Темичев К.В. Лечение собак при ассоциативном течении бабезиоза и лептоспироза / К.В. Темичев, С.Н. Луцук, Ю.В. Дьяченко // Вестник АПК Ставрополя. 2012. № 3 (7). С. 140–141.

## АРТРОГЛИКАН (ARTROGLYCAN)

**хондропротектор нового поколения, геронтологический препарат для собак, кошек, хорей, крыс**

Выпускается в форме таблеток по 0,7 г. В состав препарата входят: глюкозамин гидрохлорид (100 мг); хонroitина сульфат (200 мг); витамин Е (20 мг); селенометионин (50 мг); органическая форма кальция (100 мг).

### Биологическое действие

Артрогликан обладает хондропротекторным, умеренно анальгезирующим, противовоспалительным действиями, антиоксидантной активностью; укрепляет стенки капилляров.

Препарат стимулирует процессы регенерации и замедляет дегенерацию хрящевой ткани; способствует восстановлению суставной сумки и хрящевых поверхностей суставов; улучшает подвижность суставов; участвует в построении основного вещества костной и хрящевой ткани. Артрогликан участвует в синтезе протеогликанов и гиалуроновой кислоты, стимулирует образование хондроитинсерной кислоты, нормализует отложение кальция в костной ткани.

Препарат препятствует развитию дегенеративно-дистрофических изменений в сердечной мышце и скелетной мускулатуре; обладает гепатопротекторными свойствами.

Артрогликан восполняет дефицит витамина Е, кальция и селена.

### Показания

Дегенеративные заболевания суставов и позвоночника, первичный артроз, межпозвоночный остеохондроз, остеоартрит, остеоартроз, спондилез, остеопороз, дисплазия суставов. Для улучшения качества жизни собак, кошек, крыс и хорьков старшей возрастной группы. Дополнительная информация: [www.invetbio.spb.ru/farma/artroglycan.htm](http://www.invetbio.spb.ru/farma/artroglycan.htm)

### Заказ Артрогликана

**в Екатеринбурге:** ЗАО «Уралбиовет», т. (343) 345-34-34, 345-34-37, 345-34-38;

**в Тюмени:** ЗАО «Айболит», т. (3452) 33-58-65, 33-97-81;

**в Москве:** ООО «АС-Маркет», т. (498) 696-00-10; ООО «ЗооВетКом», т. +7 926 369-70-55; ЗАО «ВетИмпэкс», т. (495) 786-97-81, 786-97-82; ООО «ВЕТМАРКЕТ», т. (495) 777-60-81, 777-61-06; ООО «Торговый Дом «Гама-Маркет», т. (499) 190-72-41;

**у производителя (от одной банки/пачки):** ООО «Биоцентр «ЧИН», т. + 7 921 350-92-53; e-mail: [investbio@mail.ru](mailto:investbio@mail.ru)



DOI 10.24411/2074-5036-2020-10030

УДК 636.033

Ключевые слова: вермикулит, байтрил, тяжелые металлы, холестерол, антиоксидантная система, телята  
*Key words: vermiculite, baytril, heavy metals, cholesterol, antioxidant system, calves.*

Польских С. В., Грызлов В. А.

## ПРИМЕНЕНИЕ ВЕРМИКУЛИТА В ВЕТЕРИНАРИИ КАК НЕОБХОДИМОЕ УСЛОВИЕ ПОВЫШЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ЖИВОТНЫХ И СОХРАННОСТИ ИХ МОЛОДНЯКА

### *VERMICULITE IN VETERINARY MEDICINE AS A PRECONDITION FOR ANIMAL PRODUCTIVITY GROWTH AND OFFSPRING SURVIVAL*

Воронежский Государственный Аграрный университет им. Императора Петра I  
Адрес: 394036, Россия, Воронеж, ул. Мира 8-9  
*Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great  
Address: 394036, Russia, Voronezh, Mira Street, 8-9*

Польских Светлана Валерьевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры частной зоотехнии.

E-mail: s-polskikh@inbox.ru

*Polskikh Svetlana Valeryevna, PhD of Biological Sciences, associated professor of Private Zootechnics Dept.*

E-mail: s-polskikh@inbox.ru

Грызлов Валерий Александрович, студент 2 курса. E-mail: gryzlov\_valery@rambler.ru

*Gryzlov Valery Alexandrovich, Student 2nd year. E-mail: gryzlov\_valery@rambler.ru*

**Аннотация.** Цель исследования — апробировать оригинальную терапию гастроэнтерита телят при помощи сочетанного воздействия вермикулита и антибиотика байтрила. Исследования проводились в 2019 г. среди 98 телят с диагнозом гастроэнтерита на базе животноводческой фермы «Заря» (Московская область, Российская Федерация). Телята черно-пестрой породы (региональная порода центральных районов России) были разделены на 2 группы по 48 особей – контроль (стандартная терапия) и эксперимент (терапия адсорбентом вермикулитом и байтрилом – антибиотиком широкого действия). Проводили анализ крови на 1, 7 и 14 сутки терапии. В результате исследований установлено, что сочетанное применение вермикулита и байтрила приводит к существенному улучшению болезненного состояния телят вплоть до их выздоровления в течение 2 недель после начала терапии. Происходят изменения в липидном обмене, снижение уровня холестерина до 13,8 % в конце терапии, малонового альдегида до 34 %, а также аккумуляция и выведение тяжелых металлов: снижение концентрации кадмия на 30 %, никеля до 60 % в конце терапии.

**Summary.** *The purpose of this study is to test an original therapy for calf gastroenteritis that involves the combined use of vermiculite and antibiotic Baytril. The study on 98 calves diagnosed with gastroenteritis was conducted in 2019 in the livestock farm “Zarya” (Moscow region, Russia). All animals were sub-divided in 2 smaller groups with 48 animals in each group: a control (standard therapy) group and an experimental (adsorbent vermiculite + baytril, a broad-spectrum antibiotic) group. A blood test was performed on days 1, 7, and 14 of treatment. The results of the study may be useful in animal husbandry, since vermiculite/baytril combination may be effective in treating intoxication and gastroenteritis in calves. It was found that the combined use of vermiculite and baytril results in a significant health improvement in calves until full recover within 2 weeks after the beginning of the treatment. Subjects experienced changes in lipid metabolism, a decrease of cholesterol to 13.8 %, and a decrease of malonic aldehyde to 34 %. Also, the concentration of heavy metals such as cadmium and nickel decreased by 30 % and 60 %, respectively.*

### Введение

Многие индустриально развитые регионы стран мира помимо промышленных объектов, имеют в своем составе и сельскохозяйственный сегмент. В число сельхозугодий входят и животноводческие хозяйства, в том числе и разводящие крупный рогатый скот [1]. Естественно, что животные в таких регионах постоянно подвергаются воздействию сильнейших загрязнителей – как правило, это тяжелые металлы.

Выброс тяжелых металлов и других токсических веществ происходит сначала в атмосферу, затем эти частицы попадают в почву, грунтовые и поверхностные воды. Далее, при всасывании корнями растений происходит аккумуляция этих веществ в их надземных частях. При выпасе скота или сборе сена для периода зимнего кормления, токсические вещества попадают в молоко и мясо животных. Такие продукты становятся

не только непригодными, но даже и вредными для употребления людьми в пищу, в итоге вызывая различные онкологические и другие заболевания. Помимо конечного потребителя, то есть человека, от интоксикации или накопления загрязнителей страдают и сами животные. Проявляется это в различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а также в развитии рахита у молодняка [2]. Последнее способствует снижению качества молока и мясных продуктов. Среди заболеваний взрослых животных, по данным некоторых авторов, на промышленно загрязненных территориях преобладают остеодистрофия, а также ацидоз рубцового отдела желудка, заболевания почек (нефрит и нефроз), печени (гепатит, гепатоз), а также сердечно-сосудистой системы – а именно миокардиодистрофия. Для молодняка – телят, характерен несколько другой набор заболеваний – рахит, бронхопневмония, а также анемия крови. Все эти заболевания принято относить к незаразным патологиям. В то же время, по другим данным, некоторые сельскохозяйственные животные (до 30 %) остаются устойчивыми к поллютантам и не проявляют признаков клинических заболеваний [3]. Таким образом, воздействие продуктов промышленно развитого производства можно охарактеризовать как многофакторное, и однозначно негативное, приводящее к заболеваниям и гибели как рогатого скота, так и людей.

Поэтому необходимо искать выход из сложившейся ситуации. Промышленно развитые регионы – неотъемлемая часть любой развитой страны (Европейский Союз, США, Российская Федерация, Китайская Народная Республика). Понятно, что перенести промышленность в другой регион невозможно, поскольку расположение промышленных объектов (заводов, шахт, фабрик) часто обусловлено логистикой или близким залеганием необходимых компонентов в данном районе (уголь, газовые месторождения и др.). Единственный выход в сложившейся ситуации – это развитие современных технологий ветеринарии, сводящихся к быстрому и эффективному очищению организма сельскохозяйственных животных от присутствия или накопления вредных веществ [4].

Данному вопросу посвящена и настоящая статья. За последние годы наиболее распространенным заболеванием среди молодняка крупного рогатого скота (телят) стал гастроэнтерит. Последний вызывается накоплением солей свинца, кадмия, ванадия, молибдена и хрома в организме животных, когда они переходят с молочного питания на корм растительного происхождения. Гастроэнтерит – это комплексное заболевание, сопровождающееся поражениями слизистой оболочки кишечника, а также нарушениями в функционировании клеток печени – гепатоцитов. Последнее приводит к усиливающимся нарушениям в обмене липидов, а также снижению антиоксидантной защиты организма молодого животного. В ветеринарной литературе данные по терапии молодняка коров в условиях промышленно загрязненных территорий отрывочны и нет единой методики по их излечению. Обычно применяется традиционное лечение, которое приводит к пролонгации сроков терапии, но телята могут терять свою массу и даже погибнуть. Между тем, проблема гастроэнтерита у молодых животных очень актуальна и необходимы новые разработки способов терапии этого опасного заболевания.

В связи с вышеперечисленным, поставленная проблема представляется актуальной. Цель нашего исследования – изучить новый способ терапии наиболее распространенного среди телят заболевания – гастроэнтерита, с возможностью применения в качестве одного из компонентов вермикулита. В соответствии с целью нами были поставлены следующие задачи: а) выявить факторы, приводящие к заболеванию гастроэнтеритом у телят; б) оценить прилегающую к месту исследования территорию в плане уровня загрязнения. В данную задачу входит оценка корма (растений), воды и почв; в) оценить возможность совместного применения вермикулита с антибиотиком широкого действия; г) выявить основные количественные характеристики липидного обмена и антиоксидантной системы у телят контрольной и экспериментальной групп до лечения, во время его проведения и после окончания терапии.

Вермикулит относится к минералам природного происхождения, из группы гидрослюд. Его адсорбирующее действие проявляется в многофакторности, а именно в связывании солей тяжелых металлов, веществ органического происхождения (микотоксинов) и других ядовитых и опасных веществ. Как известно, в состав вермикулита входит по меньшей мере 40 микро- и макроэлементов. В современной литературе по ветеринарии сведения о применении вермикулита немногочисленны и в основном касаются использования его как вспомогательного средства при борьбе с гельминтозами сельскохозяйственных животных [5, 6]. В нашей статье предпринята попытка использования вермикулита при борьбе с последствиями отравлений животных – болезнями желудочно-кишечного тракта, в частности с гастроэнтеритом.

Авторы настоящей статьи придерживаются гипотезы, что вермикулит может выполнять функцию эффективного адсорбента в желудочно-кишечном тракте и способен аккумулировать в себе молекулы поллютантов и, таким образом, снижать интоксикацию организма. В случае подтверждения гипотезы возможно рекомендовать вермикулит как метод для эффективной терапии интоксикации поллютантами неорганического и органического происхождения.

## Материалы и методы

Изначально определяли содержание поллютантов – солей тяжелых металлов (Cd, Ni, Pb), а также эссенциальных металлов (Fe, Cu, Co, Mn, Zn) в кормовых культурах, которые употреблялись животными в пищу, в воде, которую они пили, и в почвах, на которых произрастали кормовые растения. Образцы почвы 800 г просеивали через сито, затем измельчали до однородной массы в фарфоровой чаше при помощи ступки. Пробу усредняли, затем помещали в бюксы, и осуществляли высушивание при помощи сушильного шкафа при температурном режиме 105 °С до постоянной массы. Затем, приготовив почвенную вытяжку, проводят определение содержания металла с помощью тест-системы. Образцы растений также

высушивали в сушильном шкафу, затем сжигали и определяли концентрацию тяжелых металлов в них. В качестве методики использовали ГОСТ 26929-94 «Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов», а также ГОСТ 30178-96 «Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов». Анализ всех видов проб осуществлялся при помощи атомно-адсорбционного спектрофотометра (марка AAS-3). Содержание тяжелых металлов определяли также в крови телят. Анализ проб кормов животных на содержание тяжелых металлов проводили при помощи метода атомно-адсорбционной спектрофотометрии, а также при помощи метода полярографии.

Диагностика гастроэнтерита проводилась на основании проб мочи, кала и крови телят, а также их физикального обследования. Применяли комплексную диагностику гастроэнтерита, включающую в себя следующие симптомы: а) наблюдаемое угнетение после кормления; б) наличие серого налета на языке; в) внешний вид – животные, больные гастроэнтеритом, как правило, исхудавшие и ослабленные со сниженным тургором кожных покровов. В другие группы признаков входило напряжение брюшной стенки при пальпации, а также включение в каловые массы нехарактерных компонентов: слизи, крови, а также не подвергшихся перевариванию частиц корма. Дополнительные сведения дала перкуссия печени (в области печеночного притупления). При гастроэнтерите становятся явными такие признаки, как увеличение печени и болезненные ощущения при ее пальпации.

Использовались две схемы лечения гастроэнтерита. Первая – традиционно применяемая в данной ферме, равно как и в других российских фермах, согласно ветеринарным рекомендациям. Этой терапии подвергались животные из контрольной группы. В течение 2 недель, по 2 раза в день, телятам путем внутримышечной инъекции вводили гидрохлорид тетрациклина. Телятам из экспериментальной группы вводили «Байтрил» – антибиотик широкого действия, вместе с вермикулитом. «Байтрил» (2,5 % раствор, производитель Bayer, Германия) назначается

при болезнях желудочно-кишечного тракта, а также органов дыхания и при инфекционных болезнях. Доза вермикулита составила 0,1 г на каждый килограмм массы тела теленка. Инъекции «Байтрила» и вермикулита проводили 1 раз в день, также в течение 2 недель. Дополнительно, как симптоматическую терапию, животным из обеих групп путем подкожной инъекции вводили кофеин, бензоат натрия, а также при помощи внутривенной инъекции, 5 % раствор глюкозы, согласно общепринятым рекомендациям. Выбрано две схемы, поскольку первая относится к традиционным методам терапии, применяемым в животноводстве, тогда как вторая, экспериментальная, должна показать отличающиеся либо те же результаты. Оба антибиотика оказывают широкое действие на патогенную микрофлору, т. е. они идентичны, что определило их выбор. Первая схема подразумевает применение гидрохлорида тетрациклина, который относится к антибиотикам широкого действия. Вторая схема предлагает комплексное лечение, в котором действие антибиотика («Байтрила») сочетается с действием адсорбента (вермикулита). В данном случае вермикулит эффективно нейтрализует токсичные продукты жизнедеятельности микроорганизмов, а также ионы тяжелых металлов. В связи с этим стоит ожидать улучшения биохимических показателей крови у исследуемых животных. В случае лучших результатов предложенную экспериментальную методику терапии возможно широко применять в животноводстве.

В течение всего периода наблюдения проводился мониторинг следующих параметров: прирост массы тела, присутствие клинических признаков гастроэнтерита. Во время эксперимента, как и до него, условия кормления и содержания телят были идентичными. Помимо этого, проводили 2 раза в день измерение температуры тела, а также количество дыхательных движений, уровень пульса и числа сокращений рубца. Исследования биохимических показателей крови у телят проводили при помощи стандартных в ветеринарной практике методов, на 1-е сутки, т. е. до начала терапии, на 7-е сутки и в конце терапии, на 14-е сутки. За-

бор анализов крови осуществлялся из яремной вены, ранним утром, до того, как животным давали корм.

При анализе крови использовали биохимический анализатор Vitalab Flexor Junior (Нидерланды) с помощью наборов фирмы ELITech Clinical Systems, а также пипеточный дозатор ДПОПц 200 и 1000 мкл, спектрофотометр-центрифугу ОПН 8 (Россия). При помощи последнего определяли содержание тяжелых металлов в крови животных. Биохимический анализ крови включал определение следующих показателей: мочевины – с помощью биолахема-теста, белка – с помощью биуретовой реакции, билирубина – по методу Ендрашика-Грофа.

При этом, во избежание инфекции, придерживались основных асептических и антисептических правил.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета анализа данных программы Microsoft Excel 2010 (Microsoft Inc.). Рассчитывали следующие параметры: среднее арифметическое, ошибку среднего. Различия между параметрами определяли при помощи двухвыборочного t-теста для независимых выборок, при минимальном уровне достоверности  $p \leq 0.05$ .

### Результаты исследований

#### *Результаты анализов почвы и корма*

Анализ образцов почвы выявил существенное превышение предельно допустимого уровня (ПДК) таких элементов, как Cd, Ni, Pb, Fe. Для кадмия зафиксировали превышение ПДК на 25 %, никеля – на 33 %. Для железа уровень загрязнения был максимальным и составил 59 %. Первые два элемента относятся к особо опасным поллютантам первого класса. Остальные элементы не превышали норм ПДК. Что касается кормов, то здесь обнаружено преобладание трех элементов – Cd (28 %), Ni (18 %), Pb (5 %). Если уровень превышения ПДК для свинца незначителен, то для кадмия и никеля сохраняются близкие к показателям почвы значения. В воде также зафиксировали повышенное содержание поллютантов: в 2,5 раза более высокий по сравнению с нормой уровень кадмия, на 23 % больший по сравнению с ПДК уровень

свинца и на 29 % – уровень никеля. Таким образом, наиболее активным поллютантом проявил себя кадмий, уровень которого максимален во всех видах отобранных образцов. Из этого следует ожидать высокий уровень поллютантов в крови опытных животных.

### Биохимические показатели проб крови

Уровень содержания Pb в крови телят превышал ПДК на 14 %, Ni – 21 %, Cd – 24 %. Из этих данных можно заключить, что никель и кадмий содержатся в крови и других тканях организма практически на неизменном уровне по сравнению с их же концентрацией в воде, почве и в кормах. Свинец показал накопительную способность, в крови его концентрация превышала таковую в кормах в 2,5 раза ( $p \leq 0.01$ ). Что касается форменных элементов крови, то зафиксировано увеличение концентрации гемоглобина в эритроцитах на 20,2 %, что сопровождалось увеличением среднего числа эритроцитов практически на то же значение – 18,3 %. Максимально увеличилось количество лейкоцитов – на треть (36 %). Также получили более высокие показатели скорости оседания эритроцитов (СОЭ) – в 2,6 раза быстрее по сравнению с нормой. Отмечены также качественные изменения в лейкограмме: эозинофилия, нейтрофилия, моноцитоз. Концентрация липидов была увеличена на 6 %, для холестерина это значение составило 7,5 %, а для билирубина – 17,5 %. Максимальные показатели увеличения концентрации зафиксиро-

ваны для малонового диальдегида (61,6 %), а также для церулоплазмينا (на 35,1 %). Увеличилась и активность фермента каталазы – более чем на одну треть (37,1 %).

### Эффекты от терапии в контрольной и экспериментальной группах

Применяемая в экспериментальной группе терапия показала значимые и положительные результаты (Табл. 1).

Так, в контрольной группе не обнаружено достоверных изменений в концентрации тяжелых металлов. В экспериментальной группе, концентрация кадмия снизилась на 14 % ( $p \leq 0,05$ ) уже через неделю после начала терапии, на вторую неделю тенденция снижения продолжилась и составила уже 30 % ( $p \leq 0,01$ ). Для никеля получена аналогичная, но более выраженная тенденция в экспериментальной группе: 21 % в первую неделю ( $p \leq 0,001$ ) и 60 % во вторую ( $p \leq 0,001$ ). Свинец также снизился в концентрации на 18 % в первую неделю ( $p \leq 0,01$ ) и на 31 % во вторую  $p \leq 0,001$ ). Наименее токсичный из тяжелых металлов, железо, также снизило концентрацию на 6 % в первую неделю ( $p \leq 0,05$ ) и на 13 % во вторую ( $p \leq 0,01$ ). Из этого можно заключить, что предлагаемая схема терапии действенна, и уже за две недели позволяет получить снижение концентрации тяжелых металлов на 30–60 %. Примечательно, что железо дольше сохраняется в крови. Этот металл – жизненно необходимая составляющая процессов дыхания и обмена (как компонент

**Таблица 1**

### Сравнительные показатели концентрации поллютантов (в мг / л) в крови телят экспериментальной и контрольной групп при разных стратегиях терапии

Поллютант	Группа животных	Период терапии		
		1 сутки	1 неделя	2 недели
Pb	Контроль	0.290 ± 0.31	0.270 ± 0.02	0.270 ± 0.008
	Эксперимент	0.290 ± 0.13	0.240 ± 0.02 <sup>2</sup>	0.200 ± 0.007 <sup>3</sup>
Ni	Контроль	0.620 ± 0.16	0.620 ± 0.12	0.610 ± 0.14
	Эксперимент	0.620 ± 0.19	0.490 ± 0.30 <sup>3</sup>	0.250 ± 0.15 <sup>3</sup>
Cd	Контроль	0.058 ± 0.004	0.058 ± 0.005	0.057 ± 0.080
	Эксперимент	0.060 ± 0.003	0.052 ± 0.004 <sup>1</sup>	0.042 ± 0.002 <sup>2</sup>
Fe	Контроль	289.90 ± 0.08	290.50 ± 0.07	289.30 ± 0.06
	Эксперимент	290.10 ± 0.03	274.10 ± 0.04 <sup>1</sup>	253.80 ± 0.03 <sup>2</sup>

Примечание. <sup>1</sup> –  $p \leq 0.05$ ; <sup>2</sup> –  $p \leq 0.01$ ; <sup>3</sup> –  $p \leq 0.001$ .

Таблица 2

**Концентрация в крови телят контрольной и экспериментальной групп основных маркеров липидного обмена при разных стратегиях терапии**

Соединение	Группа животных	Период терапии		
		1 сутки	1 неделя	2 недели
Липиды (общее содержание), в г / л	Контроль	3.780 ± 0.004	3.740 ± 0.002	3.760 ± 0.005
	Эксперимент	3.740 ± 0.006	3.690 ± 0.003 <sup>2</sup>	3.600 ± 0.004 <sup>2</sup>
Холестерол (в ммоль / л)	Контроль	3.20 ± 0.02	2.95 ± 0.04	2.90 ± 0.04
	Эксперимент	3.18 ± 0.19	2.83 ± 0.05 <sup>3</sup>	2.74 ± 0.03 <sup>2</sup>
Билирубин (общее содержание, в мкмоль / л)	Контроль	2.960 ± 0.003	2.940 ± 0.007	2.930 ± 0.005
	Эксперимент	2.960 ± 0.005	2.740 ± 0.008 <sup>2</sup>	2.650 ± 0.003 <sup>2</sup>

Примечание. Обозначения уровня вероятности как в Табл. 1.

гемоглобина), поэтому даже в повышенной концентрации его действие не проявляется настолько токсично, как у кадмия или никеля.

Снижение концентрации тяжелых металлов также положительно повлияло на показатели липидного обмена (Табл. 2).

Так, концентрация липидов в контроле оставалась без изменений все 2 недели, тогда как в экспериментальной группе произошло снижение на 1,4 % в первую неделю ( $p \leq 0,01$ ) и на 3,75 % во вторую ( $p \leq 0,01$ ). Для холестерина получены схожие результаты – в первую неделю снижение на 11 % ( $p \leq 0,001$ ), и на 13,8 % во вторую ( $p \leq 0,001$ ). Наиболее резкое снижение показателей холестерина произошло уже на первой неделе. Наконец, для билирубина получено снижение на 7,5 % ( $p \leq 0,01$ ) в первую неделю и на 10,4 % во вторую ( $p \leq 0,01$ ). Здесь также присутствует тенденция максимального снижения концентрации в первую неделю терапии.

Для показателей липидного окисления и антиоксидантной системы также получено снижение концентрации в экспериментальной группе на фоне ее сохранения в контроле (Табл. 3).

Так, концентрация малонового альдегида снизилась на 18 % уже в первую неделю ( $p \leq 0,01$ ) и на 34 % – во вторую ( $p \leq 0,01$ ). Для церулоплазмينا получили снижение на 14,6 % в первую неделю ( $p \leq 0,01$ ) и на 21 % во вторую ( $p \leq 0,01$ ). Активность каталазы также снизилась: на 14 % в первую неделю ( $p \leq 0,01$ ) и на 17,6 % во вторую ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, примененная схема терапии «Байтрила» и вермикулита показала положительные результаты по сравнению со стандартной терапией. У телят за 1–2 недели произошла нормализация показателей пероксидации, липидного обмена, существенно снизились (до нормы) показатели концентрации тяжелых металлов. Также была активизирована антиоксидантная система.

Таблица 3

**Изменения в показателях перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в крови телят опытной и контрольной групп на фоне разной стратегии терапии**

Соединение	Группа животных	Период терапии		
		1 сутки	1 неделя	2 недели
Малоновый диальдегид (в ммоль / л)	Контроль	1.08 ± 0.01	1.05 ± 0.03	1.02 ± 0.02
	Эксперимент	1.09 ± 0.02	0.90 ± 0.02 <sup>2</sup>	0.72 ± 0.02 <sup>2</sup>
Церулоплазмин (в мкмоль бензохинона / л*мин)	Контроль	317.00 ± 0.03	315.00 ± 0.04	315.00 ± 0.04
	Эксперимент	317.00 ± 0.03	271.00 ± 0.04 <sup>2</sup>	252.00 ± 0.04 <sup>2</sup>
Каталаза (в мкмоль пероксида водорода / л*мин*10 <sup>8</sup> )	Контроль	57.30 ± 0.04	56.80 ± 0.03	56.10 ± 0.04
	Эксперимент	57.60 ± 0.04	49.80 ± 0.03 <sup>2</sup>	47.5 ± 0.02 <sup>1</sup>

Примечание. Обозначения уровня вероятности как в Табл. 1.

## Обсуждение результатов

Центральное место в данном исследовании занимают общие анализы крови у сельскохозяйственных животных. Такие анализы применялись и другими авторами, результаты позволяют вовремя выявить различные предлетальные состояния, а также заболевания не только кровеносной, но и пищеварительной систем [7]. Заболевания желудочно-кишечного тракта скота — это основной фактор, наносящий наибольший урон современному животноводству [8].

Заболевания пищеварительной системы начинаются, как правило, с интоксикации организма животного [9]. В качестве мер профилактики в нашей работе показана ведущая роль вермикулита по сравнению со стандартными методами, до сих пор находящими широкое применение в развивающихся странах [10]. Комплексное исследование позволило установить, что сочетанное применение вермикулита с антибиотиком широкого спектра действия показывает максимально возможные результаты по сравнению со стандартной терапией. Произошли изменения в сторону нормализации показателей липидного обмена, а также активизация антиоксидантной системы. В случае выздоровления животных при стандартной терапии после введения их в состав стада не происходит нормализации их показателей продуктивности.

Полученные результаты, безусловно, помогут нормализовать состояние не только молодняка коров, пострадавшего от интоксикации в промышленно развитых районах, но могут быть рекомендованы и для животноводства в других регионах в целом. Минувя заболевания желудочно-кишечного тракта, или сводя их последствия к минимуму, становится возможным получение здорового молодняка скота. В итоге это приведет к повышению молочной и мясной продуктивности. Последнее, без сомнения, положительно отразится на сельском хозяйстве.

## Выводы

В результате исследований установлено, что сочетанное применение вермикулита и «Байтрила» приводит к существенному улучшению болезненного состояния телят вплоть до их выздоровления в течение 2 недель после начала терапии. Происходят изменения в липидном

обмене, в частности уровень холестерина падает за первую неделю на 11 % ( $p \leq 0,001$ ), и на 13,8 % во вторую ( $p \leq 0,001$ ), для малонового альдегида на 18 % в первую неделю ( $p \leq 0,01$ ) и на 34 % — во вторую ( $p \leq 0,01$ ). Также происходит аккумуляция и выведение тяжелых металлов. Особенно выражено это для никеля и кадмия. Концентрация кадмия уменьшилась на 14 % ( $p \leq 0,05$ ) через неделю после начала терапии, на вторую неделю — на 30 % ( $p \leq 0,01$ ), а для никеля на 21 % в первую неделю ( $p \leq 0,001$ ) и до 60 % во вторую ( $p \leq 0,001$ ).

## Список литературы

1. Александрова М. Г. Влияние кормления минеральной смесью на основе белитового ила на физиологическое состояние молочных коров / М. Г. Александрова, Н. А. Табаков, Л. Е. Тюрина // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. 2010. № 4. С. 12–15.
2. Волынкина М. Г. Экстракт Руминант в рационах коров Тюменской области / М. Г. Волынкина, И. Е. Иванова // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. 2014. № 6. С. 97–100.
3. Дмитриева М. Е. Современные подходы к решению актуальных ветеринарных проблем в промышленном птицеводстве / М. Е. Дмитриева // Эффективное животноводство. 2016. № 2 (123). С. 9–11.
4. Некрасов Р. В. Эффективность использования пробиотических комплексов нового поколения в комбикормах для крупного рогатого скота и свиней / Р. В. Некрасов // Расширенная Аннотация докторской диссертации на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук. Дубровицы. 2016. 43 с.
5. Charlier J. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: impact on production, diagnosis and control / J. Charlier, J. Høglund, G. von Samson Himmelstjerna, P. Dorny, J. Vercruyse // Vet. Parasitol. 2009. № 164. P. 70–79.
6. Cobellis G., Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: a review / G. Cobellis, M. Tralbalza-Marinucci, Y. Zhontang // Sci. Total Environ. 2016. P. 545–546, 556–568.
7. Domke A. V. M. Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway / A. V. M. Domke, C. Chartier, B. Gjerde, N. Leine, S. Vatn, S. Stuen // Vet. Parasitol. 2013. № 194. P. 40–48.
8. Kaplan R.M. An inconvenient truth: global warming and anthelmintic resistance / R. M. Kaplan, A. N. Vidyashankar // Vet. Parasitol. 2012. № 186. P. 70–78.
9. Macedo I. T. F. Evaluation of Eucalyptus citriodora essential oil on goat gastrointestinal nematodes / I. T. F. Macedo, C. M. L. Bevilacqua, L. M. B. de Oliveira, A. L. F. Camurca-Vasconcelos, L. S. Vieira, S. S. A. Amora // Rev. Bras. Parasitol. V. 2011. № 20. P. 223–227.
10. Verschave S. H. Measuring larval nematode contamination on cattle pastures: comparing two herbage sampling methods / S. H. Verschave, B. Leveck, L. Duchateau, J. Vercruyse, J. Charlier // Vet. Parasitol. 2015. № 210. P. 159–166.



DOI 10.24411/2074-5036-2020-10031

УДК 619:616.98:578.835.1

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, биоинсектицид, эфирные масла, медоносная пчела, большая восковая моль  
 Key words: *Bacillus thuringiensis*, bioinsecticide, essential oils, honey bee, large wax moth

Шульга И. С., Желябовская Д. А., Лаврушина Л. А., Горбачёва И. Е.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ  
 ПРОТИВ БОЛЬШОЙ ВОСКОВОЙ МОЛИ**  
*COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF DRUGS  
 AGAINST LARGE WAX MOTH*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт».

Адрес: 675005, Россия, г. Благовещенск, ул. Северная, д. 112

*Federal State Budgetary Scientific Institution Far East Zone Research Veterinary Institute.*

*Address: 675005, Russia, Blagoveshchensk, Severnaya St., 112*

Шульга Ирина Станиславовна, кандидат биологических наук, заведующая отделом микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

*Shulga Irina Stanislavovna, candidate of biological sciences, head of department microbiology, virology and immunology, E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru*

Желябовская Дина Анатольевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

*Zhelyabovskaya Dina Anatolyevna, candidate of biological sciences, senior research associate of department of microbiology virology and immunology. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru*

Лаврушина Любовь Анатольевна, научный сотрудник отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии.

E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

*Lavrushina Lyubov Anatolyevna, staff scientist, department of microbiology, virology and immunology.*

*E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru*

Горбачёва Инна Евгеньевна, младший научный сотрудник отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии.

E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

*Gorbacheva Inna Evgenievna, junior staff scientist, department of microbiology, virology and immunology,*

*E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru*

**Аннотация.** Восковая моль (*Galleria melonella*) из семейства огневок является опасным вредителем пчел. Выбор средства или способа для борьбы с каким-либо вредителем, в том числе и с восковой молью, основывается на таких факторах, как его эффективность, безопасность, простота применения, продолжительность профилактического эффекта. Целью исследования явилось изучение и сравнительная оценка эффективности препаратов против большой восковой моли: коммерческого препарата на основе растительных эфирных масел и экспериментального препарата на основе *Bacillus thuringiensis*. Коммерческий препарат в своем составе в качестве действующего вещества содержит пихтовое и кориандровое масла. Основой опытного препарата является штамм *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045. При изучении и сравнительной оценке инсектицидной активности экспериментального препарата на основе штамма *B. thuringiensis* RCAM 00045 и коммерческого препарата в условиях лаборатории установлено, что препарат на основе штамма *B. thuringiensis* обладает 100 %-ной инсектицидной активностью против личинок восковой моли. Обработка воскового сырья препаратом предупреждает дальнейшее развитие восковой моли и длительно защищает его от повторного поражения. Коммерческий препарат на основе эфирных масел обладает 100 %-ной инсектицидной активностью против личинок, куколок и бабочек моли. В условиях пасек коммерческий препарат защищает восковое сырье от поражения восковой молью, но его применение возможно только в условиях сотохранилища. После установки обработанных соторамок в улей наблюдается негативное воздействие препарата на деятельность пчел. После прекращения воздействия коммерческого препарата восковое сырье вне пчелиной семьи является незащищенным от повторного заражения. Обработка соторамок против восковой моли с применением опытного препарата на основе штамма *B. thuringiensis* RCAM 00045 в условиях пасеки подтверждает, что он безопасен для пчел, не нарушает их деятельности и профилактирует появление восковой моли в течение сезона медосбора.

**Summary.** Wax moth (*Galleria melonella*) from the family of fireworms is a dangerous pest of bees. The choice of means or method for controlling any pest, including wax moth, is based on factors such as its effectiveness, safety,

ease of use, and the duration of the preventive effect. The aim of the study was to study and comparatively evaluate the effectiveness of preparations against large wax moths: a commercial preparation based on plant essential oils and an experimental preparation based on *Bacillus thuringiensis*. A commercial preparation in its composition, as an active substance, contains fir and coriander oils. The basis of the experimental preparation is a strain of *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045. When studying and comparatively evaluating the insecticidal activity of an experimental preparation based on the *B. thuringiensis* RCAM 00045 strain and a commercial preparation in the laboratory, it was found that the preparation based on the *B. thuringiensis* RCAM 00045 strain has 100 % insecticidal activity against wax moth larvae. Processing the wax material with the preparation prevents the further development of the wax moth and protects it from repeated damage for a long time. A commercial preparation based on essential oils has 100 % insecticidal activity against larvae, pupae and moth butterflies. In apiary conditions, the commercial preparation protects the wax material from being damaged by a wax moth, but its use is possible only in the conditions of a cell storage. After installing the treated honeycomb in the hive, the drug negatively affects the activity of the bees. After the cessation of exposure to a commercial preparation, the wax material outside the bee colony is unprotected from reinfestation. Processing honeycombs against wax moths using an experimental preparation based on the *B. thuringiensis* RCAM 00045 strain in apiary conditions confirms that it is safe for bees, does not interfere with their activity, and prevents the appearance of wax moths during the honey harvest season.

## Введение

Восковая моль (*Galleria melonella*) из семейства огневок является опасным вредителем пчел [1, 11].

Климатические условия Дальневосточного региона чрезвычайно благоприятны для развития восковой моли, которая интенсивно размножается и паразитирует на пасеках региона с мая по август. На пасеках Амурской области интенсивность поражения пчелосемей восковой молью составляет от 10 до 65 %.

В результате поражения пчелосемей и запасов воскового сырья личинками восковой моли, пчеловодческим хозяйствам наносится значительный экономический ущерб.

Комплекс мероприятий по борьбе с восковой молью включает профилактику и применение специальных средств и методов. Выбор средства или способа для борьбы с каким-либо вредителем, в том числе и с восковой молью, должен основываться на таких факторах, как его эффективность, безопасность, простота применения, продолжительность профилактического эффекта.

Использование химических и физических способов не всегда эффективно, так как восковая моль может вторично поражать соты после проведения обработок.

В настоящее время отечественный рынок препаратов для пчеловодства, в частности для борьбы с восковой молью, предлагает весьма ограниченный перечень препаратов. В основном этот перечень представлен серой для окуривания сот и препаратами на основе эфирных масел, такими как «МолиНет», «Фаворит» и «СтопМоль».

Наиболее перспективным методом борьбы с большой восковой молью является биологический. Он предусматривает применение энтомопатогенных бактерий как естественных паразитов насекомых-вредителей [7] и гарантирует наиболее безопасное воздействие в отношении медоносной пчелы, безвреден для человека и теплокровных животных [4, 8].

Бактерии *B. thuringiensis* обладают широким спектром патогенности по отношению к чешуекрылым и являются в настоящее время основным агентом микробиологической борьбы с ними [7].

В отделе микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБНУ ДальЗНИВИ разработан экспериментальный препарат [10], основой которого является штамм *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045. Штамм выделен из природных источников и характеризуется повышенной энтомопатогенной активностью в отношении личинок большой восковой моли всех возрастов [9].

Целью исследования явилось изучение, и сравнительная оценка эффективности препаратов против большой восковой моли: коммерческого препарата на основе растительных эфирных масел и опытного образца препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045.

## Материалы и методы исследований

В течение 2013–2019 гг. сотрудниками отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБНУ ДальЗНИВИ проведен ряд исследований по изучению общетоксического действия

экспериментального препарата по отношению к лабораторным животным и пчелам, получены данные о стабильности препарата при разных способах консервации, определены сроки сохранения его инсектицидной активности, разработана технологическая схема применения экспериментального биоинсектицида против личинок восковой моли [2, 3, 6, 12].

Исследовательская работа выполнена в отделе микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБНУ ДальЗНИВИ и в условиях базовой пасеки, расположенной в с. Низинное Белогорского района Амурской области.

В лабораторных условиях для проведения эксперимента были сформированы три группы.

В первой опытной группе вощину обработали суспензией экспериментального препарата, высушили ее на воздухе и поместили в отдельные герметично закрываемые емкости объемом 23 литра. В одну емкость посадили 30 личинок восковой моли 4–6 возрастов, а в другую – 10 бабочек восковой моли.

Во второй группе аналогично, но только ничем не обработанную вощину поместили в закрываемые емкости вместе с испытуемым коммерческим препаратом. Данный препарат обладает инсектицидным действием против всех стадий развития восковой моли, поэтому в емкости с препаратом посадили 30 личинок, 20 куколок и 10 бабочек восковой моли. Емкость герметично закрыли.

В третьей – контрольной группе в емкости с необработанной вощиной поместили то же количество личинок, куколок и бабочек восковой моли и так же герметично закрыли.

Инсектицидную активность испытуемого препарата определяли по формуле Аббота [5].

Изучение эффективности применения препаратов проводили в условиях базовой пасеки. Перед обработкой оценивали наличие поражения личинками восковой моли пчелосемей и воскового сырья.

Обработку экспериментальным биоинсектицидом проводили в сухую безветренную погоду методом аэрозольного распыления суспензии препарата, содержащей споры и кристаллы штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045. Коммерческий препарат согласно инструкции вместе с соторамками помещали в неиспользуемые корпуса ульев из расчета одна пластина

с препаратом на 12 рамок и герметично упаковывали в плотный целлофан.

Учет результатов проводили на основании осмотра и отсутствия (или наличия) живых личинок восковой моли в условиях помещения, приспособленного для хранения воскового сырья, и в ульях после обработки и в течение пчеловодческого сезона.

### Результаты исследований и их обсуждение

В процессе наблюдения в лабораторных условиях выявлено, что в емкости с экспериментальным препаратом личинки восковой моли начали погибать на вторые сутки (одна личинка). Массовая гибель личинок началась на третьи сутки. В результате погибло 27 личинок. И на четвертые сутки погибли оставшиеся две личинки. Бабочки в другой емкости с вощиной, обработанной препаратом, погибли по окончании своего цикла развития. Дальнейшее наблюдение за состоянием вощины, обработанной препаратом, в течение последующего месяца показало, эта вощина осталась в неповрежденном состоянии, признаков появления и проявления жизнедеятельности личинок восковой моли обнаружено не было.

В емкостях с коммерческим препаратом в течение первых суток погибли все 10 бабочек, 20 куколок и 24 личинки. Постепенную гибель оставшихся живых шести личинок восковой моли наблюдали в течение следующих трех суток.

В дальнейшем, после гибели тест-объектов коммерческий препарат извлекли из емкостей, проветрили до исчезновения стойкого запаха эфирных масел и на эту же вощину посадили 10 новых личинок и 10 бабочек восковой моли. В результате личинки восковой моли поедали вощину, окукливались и по окончании цикла развития превращались в бабочек. В емкости с бабочками после воздействия коммерческого препарата, через 10 дней появились первые признаки жизнедеятельности восковой моли – тонкие паутинные оболочки на вощине, через 14 дней были обнаружены мелкие личинки восковой моли. С каждым днем количество личинок и их размеры увеличивались, спустя 24 дня появились первые куколки, а еще через 9 дней – бабочки *Galleria melonella*.

В третьей – контрольной группе – развитие восковой моли проходило согласно её биологическому циклу.

В результате лабораторного эксперимента установлено, что экспериментальный препарат на основе штамма *B. thuringiensis* RCAM 00045 обладает 100 %-ной инсектицидной активностью против личинок восковой моли. Обработка воскового сырья препаратом предупреждает дальнейшее развитие восковой моли. Вероятно, что в том случае, когда бабочки восковой моли откладывают яйца, личинка, вышедшая из яйца, на самых ранних стадиях своего развития погибает и не успевает нанести видимый урон. Таким образом, препарат на основе штамма *B. thuringiensis* RCAM 00045 защищает восковое сырье от повторного поражения восковой молью.

В отношении коммерческого препарата на основе эфирных масел, инсектицидная активность по Абботу для всех стадий развития восковой моли (личинок, куколок и бабочек) составила 100 %. После прекращения воздействия препарата и в случае проникновения вредителя на стадии личинки или имаго восковое сырье является незащищенным от повторного заражения.

Изучение эффективности применения экспериментального препарата на основе штамма *B. thuringiensis* RCAM 00045 и коммерческого препарата на основе эфирных масел в условиях базовой пасеки дало следующие результаты.

Препаратом на основе *B. thuringiensis* в сентябре 2018 г. после окончания медосбора было обработано 300 соторамок (сушь, кормовые медо-перговые рамки). Все обработанные рамки были складированы в приспособленном помещении в свободные корпуса ульев.

Обработку коммерческим препаратом на основе эфирных масел проводили в это же время. В пять корпусов поместили приспособленные плотные целлофановые мешки, в каждый из которых были установлены соторамки по 10 штук в каждый и разложены пластины с препаратом, согласно инструкции. Целлофановые мешки герметично закрыли.

В течение всего пчеловодческого сезона 2019 года проводили регулярное наблюдение за состоянием соторамок в условиях хранения и после установки в пчелиной семье.

Состояние рамок, подвергнутых обработке препаратами, находившихся в условиях сохранилища, оставалось неизменным на протяжении всего весенне-летнего сезона 2019 г. Признаки поражения восковой молью отсутствовали. Однако, рамки, обработанные экспериментальным препаратом, стояли в обычных ульевых корпусах, а рамки, обработанные коммерческим препаратом, продолжали хранить в условиях сохранения полной герметичности.

Явные различия были замечены нами после установки рамок в ульи. После установки рамок, обработанных препаратом на основе *B. thuringiensis*, никаких изменений в работе пчелиной семьи замечено не было. Пчелы осваивают и используют соты как для сбора меда, так и для развития пчелиной семьи.

После установки в улей рамок, обработанных коммерческим препаратом, пчелы ослабляли (и даже прекращали) свою деятельность на прилегающих рамках, находящихся рядом с обработанной, в течение 1–3 дней, продолжительное время осваивали рамки.

Согласно инструкции к коммерческому препарату, соторамки, подвергнутые обработке, можно использовать на общих основаниях. Вероятно, что перед установкой рамок в ульи после проведенной обработки их нужно проветривать. Но проветривание впоследствии не исключает дальнейшего поражения восковой молью.

Сохранность рамок, обработанных препаратами, в условиях содержания сильных пчелосемей была без видимых отличий.

Таким образом, изучение эффективности применения испытуемых препаратов в условиях базовой пасеки показало, что оба препарата обладают достаточной эффективностью и защищают восковое сырье от поражения восковой молью при соблюдении инструкции по их применению. В условиях сохранилища для соторамок, обработанных препаратом на основе *B. thuringiensis*, не требуется создания специальных условий герметичности, а при обработке коммерческим препаратом — соторамки необходимо хранить в условиях, предупреждающих появление восковой моли. В условиях пчелиной семьи сохранность соторамок, обработанных препаратами, поддерживается. Однако, после установки в улей соторамок,

обработанных коммерческим препаратом, освоимость сот пчелами занимает продолжительное время (задерживается на 1–3 дня), кроме того, в рамках, прилегающих к обработанной, ослабляется деятельность пчел. Препарат на основе *B. thuringiensis* не оказывал отрицательного влияния на работу пчелиной семьи. Применение препарата на основе *B. thuringiensis* возможно в присутствии пчел, а коммерческий препарат на основе эфирных масел используют только в условиях сотохранилища.

### Заключение

При изучении и сравнительной оценке инсектицидной активности экспериментального препарата на основе штамма *B. thuringiensis* RCAM 00045 и коммерческого препарата на основе эфирных масел в условиях лаборатории установлено, что препарат на основе *B. thuringiensis* обладает 100 %-ной инсектицидной активностью против личинок восковой моли. Обработка воскового сырья препаратом предупреждает дальнейшее развитие восковой моли и защищает его от повторного поражения.

Профилактическая обработка против восковой моли с применением экспериментального препарата на основе *B. thuringiensis* в условиях базовой пасеки подтверждает, что данный препарат безопасен для пчел, не нарушает их деятельности, профилактирует появление восковой моли в течение всего следующего сезона медосбора. При хранении воскового сырья не требуется создания особых условий герметичности.

Коммерческий препарат на основе эфирных масел обладает 100 %-ной инсектицидной активностью против личинок, куколок и бабочек моли. В условиях пасек он обладает высокой эффективностью и защищает восковое сырье от поражения восковой молью, но рамки необходимо хранить в условиях, предупреждающих появление восковой моли. При установке рамок, обработанных коммерческим препаратом, в улей, освоимость сот пчелами занимает продолжительное время, и в рамках, прилегающих к обработанной, ослабляется деятельность пчел. Применение препарата возможно только в условиях сотохранилища. После прекращения воздействия эфирных масел препарата восковое сырье является незащищенным от повторного поражения восковой молью.

### Список литературы

1. Гробов О. Ф. Болезни и вредители медоносных пчел: Справочник. / О. Ф. Гробов, А. М. Смирнов, Е. Г. Попов. М.: Агропромиздат, 1987. 334 с.
2. Желябовская Д. А. Изучение токсичности опытного биопрепарата «Антигаллерин» для медоносной пчелы / Д. А. Желябовская, М. Е. Остякова, И. С. Шульга, Л. А. Лаврушина, В. А. Коноплев, А. В. Куразеева // Вестник КрасГАУ. 2016. № 12. С. 51–57.
3. Желябовская Д. А. Исследование острой токсичности экспериментального биоинсектицида «Антигаллерин» на кроликах / Д. А. Желябовская, М. Е. Остякова, И. С. Шульга, Л. А. Лаврушина, В. А. Коноплев, В. А. Почтарь // Вестник КрасГАУ. 2017. № 9. С. 30–34.
4. Кашина Г. В. Современные инсектициды против восковой моли / Г. В. Кашина // Пчеловодство. 2014. № 8. С. 26–28.
5. Кольчевский А. Г. Выделение и отбор высоковирулентных культур *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*: методические рекомендации / А. Г. Кольчевский [и др.]; ВНИИ защиты растений. Л., 1987. 21 с.
6. Коноплев В. А. Изучение инсектицидной активности препарата на основе *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 при различных способах консервации / В. А. Коноплев, А. В. Куразеева, Л. А. Лаврушина, И. С. Шульга // Вестник КрасГАУ, 2015. №12. С. 191–194.
7. Крыжко А. В. Выделение и изучение новых высокоактивных штаммов *Bacillus thuringiensis* / А. В. Крыжко, Л. Н. Кузнецова // Таврический вестник аграрной науки. 2016. № 4(8). С. 30–36.
8. Парамонова И. Е. Активный штамм *Bacillus thuringiensis* – продуцент белка δ-эндотоксина / И. Е. Парамонова, М. В. Фоменко, Д. С. Балпанов, О. А. Тен // Вестник Евразийского национального университета им. Л.Н. Гумилева. 2013. № 6. С. 262–269.
9. Пат. 2453595 Российская федерация, МПК C12N 1/20 Штамм бактерий *Bacillus thuringiensis* для получения биоинсектицида для борьбы с большой восковой молью / Н. Е. Горковенко, Ю. А. Макаров, В. А. Серебрякова; Заявитель и патентообладатель Дальневосточный зон. науч.-исслед. ветеринар. ин-т. – № 201110498/10; опубл. 20.06.2012, Бюл. № 17. 4 с.
10. Пат. 2603271 Российская федерация, МПК C12N 1/20, A01N 63/02, C12R 1/07 Биоинсектицид для борьбы с большой восковой молью / И. С. Шульга, В. А. Рябуха, Н. Н. Шульга, Л. А. Лаврушина, В. А. Коноплев, А. В. Куразеева; Заявитель и патентообладатель Дальневосточный зон. науч.-исслед. вет. ин-т. – № 2015130407/10; заявл. 22.07.2015; опубл. 27.11.2016, Бюл. № 33. 1 с.
11. Полтеев В. И. Болезни и вредители пчел. / В. И. Полтеев, Е. В. Нешатаева. М.: Колос, 1984. 175 с.
12. Шульга И. С. Изменение инсектицидной активности этомопатогенных штаммов *Bacillus thuringiensis* при длительном хранении / И. С. Шульга, Д. А. Желябовская, Л. А. Лаврушина, И. Е. Горбачева // Вестник КрасГАУ. 2019. № 9. С. 66–71.

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10032

УДК 619:636.2.034

Ключевые слова: корова, молоко, жир, белок, кетоновые тела

*Key words: cow, milk, fat, protein, ketone bodies*

**Крупин Е. О.**

## КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ И РЕГРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗЫ В ДИАГНОСТИКЕ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ *CORRELATION AND REGRESSION ANALYZES IN THE DIAGNOSIS OF METABOLIC DISORDERS IN LACTATING COWS*

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ Казанский научный центр РАН

Адрес: 420059, Россия, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 48

*Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences*

*Address: 420059, Russia, Kazan, Orenburgskii trakt, 48*

Крупин Евгений Олегович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом агrobiологических исследований. E-mail: [tatniva@mail.ru](mailto:tatniva@mail.ru)

*Krupin Evgeny Olegovich, PhD of Veterinary Science, Leading Researcher, Head of Agrobiological Research Department. E-mail: [tatniva@mail.ru](mailto:tatniva@mail.ru)*

**Аннотация.** Приведены результаты корреляционного и регрессионного анализов показателей молока как инструмента в оценке метаболизма лактирующих коров. Исследования выполнены на 440 дойных коровах СХПК им. Вахитова Кукморского муниципального района Республики Татарстан и в ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН в 2019 году. Определение содержания массовой доли жира и белка в молоке, его активную кислотность, содержание мочевины, БОМК и ацетона проводили с применением анализатора молока MilcoScan 7RM. Приведены результаты оценки изучаемых показателей в разрезе СЖБ. С учетом  $R^2$  вызывает большее доверие наличие взаимосвязи между рН молока и уровнем содержания мочевины ( $r = 0,731$ ,  $p < 0,01$ ,  $R^2 = 0,53$ ). В группе животных с СЖБ от 1,11 до 1,50 угловой коэффициент изменения содержания мочевины выше, чем в группе животных с СЖБ 1,10 и менее. Наиболее сильная взаимосвязь между СЖБ и уровнем содержания ацетона ( $R^2 = 0,33$ ). Применение нелинейных моделей может оказать влияние на степень выраженности полученного результата взаимосвязи между изучаемыми показателями, в связи с чем начатые исследования необходимо продолжить.

Статья подготовлена в рамках государственного задания АААА-А18-118031390148-1.

**Summary.** The results of correlation and regression analyzes of milk indicators as a tool in assessing the metabolism of lactating cows are presented. The research was carried out on 440 dairy cows of APC named after Vakhitov of the Kukmorsky municipal district of the Republic of Tatarstan and at the Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences in 2019. Determination of the content of mass fraction of fat and protein in milk, its active acidity, the content of urea, BHBA and acetone was carried out using a MilcoScan 7RM milk analyzer. The results of the assessment of the studied indicators in the context of FPR are presented. Taking into account  $R^2$ , the presence of a relationship between the pH of milk and the level of urea ( $r = 0.731$ ,  $p < 0.01$ ,  $R^2 = 0.53$ ) gives rise to greater confidence. In the group of animals with FPR from 1.11 to 1.50, the angular coefficient of change in the urea content is higher than in the group of animals with FPR of 1.10 or less. The strongest relationship is between FPR and acetone level ( $R^2 = 0.33$ ). The use of non-linear models can affect the degree of expression of the obtained result of the relationship between the studied indicators, so it is necessary to continue these studies.

*This research was supported by project АААА-А18-118031390148-1.*

### Введение

В настоящее время при постоянном расширении ассортимента молочных продуктов необходимы новые технологии производства молока как сырья, а также высокие требования к его качеству [1]. У высокопродуктивных животных, обладающих ценным генетическим потенциалом, особенно в связи с недостаточно полноценным кормлением, часто наблюдаются

нарушения обмена веществ [2, 3]. Указанные нарушения наиболее часто возникают в ранний период лактации. Они, безусловно, могут отражаться и на изменении показателей качества молока, таким образом, его состав может отражать состояние метаболизма животных [4, 7]. Использование методов спектроскопии молока позволит создавать модели прогнозирования изменений метаболизма в целом, а также

прогнозировать изменения уровня метаболитов в крови и/или молоке животных в частности [10]. Использование такого индикатора, как мочевины в молоке, в качестве инструмента управления кормлением вызывает повышенный интерес в Европе, США и Японии [6]. Чрезмерная мобилизация резервов организма предполагает увеличение циркулирующих в крови кетоновых тел, а установление их уровня в молоке может быть использовано для диагностики гиперкетонемии и кетоза [8]. Изменение уровня рН сырого молока сопряжено с изменением качества белка, изменением состава жирных кислот, концентрации лактозы, ионов и минералов в целом, технологическими свойствами молока [9]. Массовые доли жира и белка в молоке определяют его цену, являются экономическими стимулами для отрасли. Использование оценки метаболизма животных с позиции соотношения массовой доли жира к массовой доле белка в молоке позволяет на ранних стадиях диагностировать субклинический ацидоз рубца, субклинический кетоз, также клинические формы указанных патологий, установить дефицит энергии и т.д. [5].

Таким образом, целью настоящей работы являлось выявление взаимосвязи между физико-химическими показателями молока и концентрацией метаболитов в нем, основываясь на результатах корреляционного и регрессионного анализа, оценка применимости указанных методов в диагностике нарушений обмена веществ у лактирующих коров.

Материалы и методы. Исследования выполнены на 440 дойных коровах СХПК им. Вахитова Кукморского муниципального района Республики Татарстан и в Татарском научно-исследовательском институте сельского хозяйства ФИЦ Казанский научный центр РАН в 2019 году в рамках Государственного задания АААА-А18-118031390148-1. Во время исследований обращение с экспериментальными животными проводилось в соответствии ГОСТ 33215-2014 и не противоречило European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (European Treaty Series — No. 123). Определение содержания массовой доли жира (%) и массовой доли белка (%) в молоке, активную кислотность (ед.), содержание мочевины (мг/100 мл), бета-гидроксимасляной (БОМК) кислоты (ммоль/л) и

ацетона (ммоль/л) проводили с применением анализатора молока MilcoScan 7RM (FOSS Analytical A/S, Дания) в соответствии с инструкцией производителя. Исследованию подвергали среднюю пробу молока от животных, отобранную и подготовленную по ГОСТ 26809-86 в соответствии с методиками, определенными для каждого из изучаемых показателей: массовой доли жира по ISO 1211:2010 [IDF 1:2010]; массовой доли белка по ISO 8968-1:2001 [IDF 20-1: 2001]; активной кислотности по ISO 26323:2009 [IDF 213:2009], содержания мочевины по ISO 14637:2004 [IDF 195:2004]; содержания БОМК и ацетона по А. P.de Roos. Референсные значения активной кислотности молока и содержания мочевины установлены ГОСТ 32892-2014 и ГОСТ Р 55282-2012 соответственно, а содержание БОМК и ацетона в молоке определены по А.Т.М. van Kneegsel et al. С учетом полученных данных рассчитывали соотношения содержания массовой доли жира к массовой доле белка (СЖБ) для каждого животного в отдельности по следующей формуле:

$$СЖБ = \frac{\text{Массовая доля жира в молоке, \%}}{\text{Массовая доля белка в молоке, \%}}$$

Оптимальными значениями СЖБ считали от 1,11 до 1,50 в соответствии с рекомендациями W. Richardt. Исходя из полученных значений СЖБ, животных разделили на 2 группы: с СЖБ 1,10 и менее и 1,11 до 1,50 по 75 и 365 голов соответственно. Для каждой из групп животных провели анализ по изучаемым показателям активной кислотности, содержания мочевины, БОМК и ацетона.

Полученные результаты были обработаны с использованием математических и статистических методов посредством программы Microsoft Excel. Оценка корреляционных связей между изучаемыми показателями проведена с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена с учетом нормальности распределения данных на основании критерия Колмогорова-Смирнова, сила связи оценена по шкале Чеддока.

## Результаты исследований

Исследованиями наличия возможных корреляционных связей установлено (Таблица 1), что СЖБ достоверно, положительно и слабо связано с рН молока ( $r = 0,327$ ,  $p < 0,01$ )

и уровнем мочевины ( $r = 0,497$ ,  $p < 0,01$ ), а с ацетоном — отрицательно, слабо, достоверно ( $r = -0,572$ ,  $p < 0,001$ ). В свою очередь величина рН имеет положительную высокую достоверную связь с содержанием мочевины ( $r = 0,731$ ,  $p < 0,01$ ,  $R^2 = 0,53$ ), а с концентрацией БОМК и ацетона — отрицательную, слабую, достоверную ( $r = -0,313$ ,  $p < 0,01$  и  $r = 0,346$ ,  $p < 0,01$  соответственно). Кроме того, содержание мочевины и ацетона в молоке связаны друг с другом достоверной очень слабой отрицательной связью ( $r = -0,235$ ,  $p < 0,05$ ), в то время как содержание БОМК с ацетоном — средней положительной достоверной связью ( $r = 0,630$ ,  $p < 0,01$ ).

На рисунке 1 приведены диаграммы рассеяния для изучаемых показателей молока в разрезе СЖБ, классифицированного по W. Richardt. Из данных, представленных на рисунке 1а видно, что при отклонении СЖБ в меньшую от нормальных значений сторону (от 1,10 и менее) наблюдается уменьшение рН молока ( $y = 6,2949 + 0,2044 \cdot x$ ) и содержания мочевины в молоке ( $y = 40,0077 + 8,1879 \cdot x$ ). При увеличении СЖБ в пределах нормальных значений (Рисунок 1б) отмечается увеличение содержания мочевины ( $y = 40,0129 + 9,5069 \cdot x$ ) в молоке и незначительное снижение рН ( $y = 6,5796 - 0,0012 \cdot x$ ). Следует отметить, что в группе животных с СЖБ от 1,11 до 1,50 угловой коэффициент изменения содержания мочевины выше, чем в группе животных с СЖБ 1,10 и менее. В целом,  $R^2$  для СЖБ и уровня мочевины составил 0,25. Из данных, представленных на рисунке 1в видно, что при смещении СЖБ в меньшую сторону относительно нормальных значений отмечается увеличение содержания в молоке БОМК ( $y = 0,3086 - 0,1678 \cdot x$ ) и ацетона

( $y = 0,4393 - 0,3151 \cdot x$ ). Однако, при увеличении СЖБ, не превышающего значения физиологической нормы (Рисунок 1г), наблюдается снижение содержания в молоке как БОМК ( $y = 0,1409 - 0,0342 \cdot x$ ), так и ацетона ( $y = 0,1412 - 0,0458 \cdot x$ ). Следует отметить, что между СЖБ и уровнем ацетона установлен  $R^2 = 0,33$ .

Обсуждение результатов. Как сообщалось Н. Ogola, А. Shitandi и J. Nanua (2007) [9] содержание мочевины, как в молоке, так и в сыворотке крови отражает деградацию белка в рубце, обеспеченность животного белком для процессов биосинтеза. Кроме того, ими отмечено, что концентрация молочного белка зависит от потребления энергии с кормом и производством белка в рубце заселяющими его микроорганизмами. В связи с этим весьма очевидной видится взаимосвязь между рН молока и содержанием мочевины, поскольку белковый перекарм при дефиците энергии в рационах животных, сопровождающийся увеличением азота мочевины, как в сыворотке крови, так и в молоке, может вызвать и вызывает смещение рН содержимого рубца в более кислую сторону, что при нарушении компенсаторных механизмов приводит к более «кислым» значениям рН молока. Кроме того, как указывает W. Richardt (2004) [23] закономерно рассматривать взаимосвязь между СЖБ и уровнем содержания кетоновых тел в целом, и ацетона в частности, поскольку высокая разница между массовыми долями жира и белка в молоке может являться достоверным клиническим признаком кетоза (субклинической или клинической его формы), а низкая — ацидоза. Стоит также отметить, что на фоне применения животным рационов с высоким содержанием концентратов без обеспечения адекватного потребностям уровня

**Таблица 1**

**Корреляционные связи между изучаемыми показателями молока**

Показатель	СЖБ	рН	Мочевина	БОМК	Ацетон
СЖБ	1,000	0,327**	0,497**	0,054	-0,572**
рН		1,000	0,731**	-0,313**	-0,346**
Мочевина			1,000	-0,056	-0,235*
БОМК				1,000	0,630**
Ацетон					1,000

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$



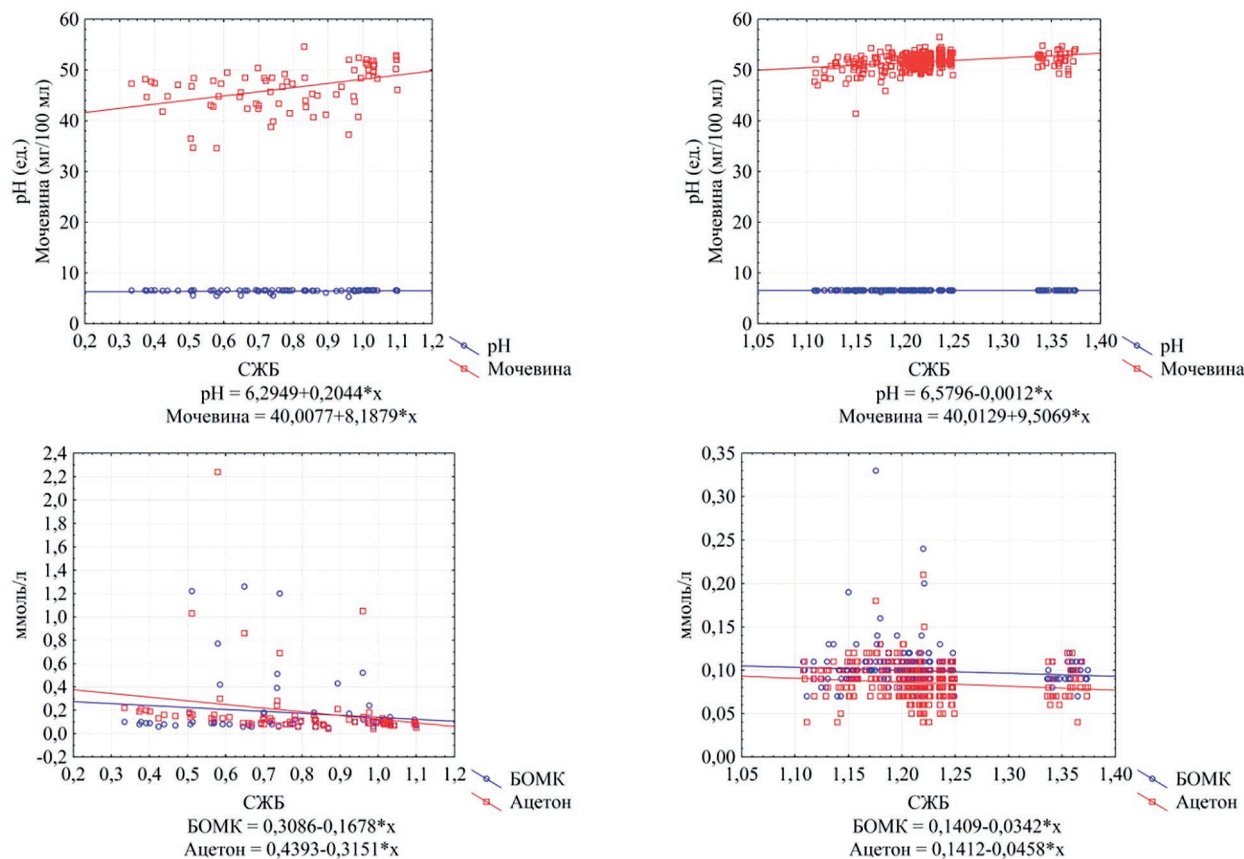


Рис. 1 — Диаграммы рассеяния изучаемых показателей молока в разрезе СЖБ

энергии указанный показатель вполне может коррелировать с уровнем содержания мочевины в молоке, о чем также сообщается всеми вышеназванными авторами.

**Выводы**

Основываясь на полученных результатах, следует отметить, что вызывает большее доверие наличие взаимосвязи между рН молока и уровнем содержания мочевины в молоке. В отношении взаимосвязи между уровнем кетонных тел в молоке и СЖБ наиболее выражена таковая между СЖБ и уровнем содержания ацетона. Указанные взаимосвязи можно использовать в диагностике нарушений обмена веществ у лактирующих коров. Следует продолжить указанные исследования, применяя нелинейные модели, для углубления анализа взаимосвязей.

**Список литературы**

1. Биологическая химия: методические указания к лабораторным занятиям по биохимии для студентов ветеринарных факультетов и врачей ФПК / Н. В. Пилаева, Б. М. Федоров, Л. Ю. Карпенко и др. СПб.: 2002. 67 с.
2. Костомарин Н. М. Болезни продуктивности крупного рогатого скота / Н. М. Костомарин // Главный зоотехник. 2011. № 12. С. 40–46.

3. Тёвс А. Краткий справочник консультанта / Под общ. ред. А. Тёвса. Мекенхайм: DCM Druck Center Meckenheim GmbH, 2010. 159 с.
4. Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance / J. A. A. McArt, D. V. Nydam, G. R. Oetzel [et al.]. // Vet. J. 2013. Vol. 198 (3). P. 560–570.
5. Haas D. The diagnostic importance of milk components for a human and cows' health. (in Czech) / D. Haas, B. Hofirek // CUA Prague, Proceedings of contributions: Milk day. 2004. P. 26–29.
6. Hwang S. Y. (December). Monitoring nutritional status of dairy cows in Taiwan using milk protein and milk urea nitrogen / S. Y. Hwang, M. J. Lee, P. W. S. Chiou // Asian-Australas. J. Anim. Sci. 2000. Vol. 13 (12). P. 1667–1673.
7. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. / G. Esposito, P. C. Irons, E. C. Webb [et al.]. // Anim. Reprod. Sci. 2014. Vol. 144 (3–4). P. 60–71.
8. Liconsa. Scheme of prices and incentives for L of fluid milk, effective as of October 9, 2011. Social Supply Program. Acquisition of milk. Mexico City / Liconsa // Official Journal of the Federation. 2013. Vol. 32. P. 216–230.
9. Ogola, H. Effect of mastitis on raw milk compositional quality / H. Ogola, A. Shitandi, J. Nanua // J. Vet. Sci. 2007. Vol. 8 (3). P. 237–242.
10. Prediction of blood metabolites from milk mid-infrared spectra in early lactation cows / A. Benedet, M. Franzoi, M. Penasa [et al.]. // J. Dairy Sci. 2019. Vol. 102 (12). P. 11298–11307.

DOI 10.24411/2074-5036-2020-10033

УДК 619:616-091:636.4

Ключевые слова: свиньи, болезни, пневмония, патологоанатомические изменения

Key words: pigs, diseases, pneumonia, pathological changes

Балабанова В. И., Кудряшов А. А.

## ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ОТКОРМОЧНЫХ СВИНЕЙ ПРИ БОЛЕЗНЯХ, ПРОТЕКАЮЩИХ С ПНЕВМОНИЕЙ *PATHOANATOMIC CHANGES IN FATTENING PIGS IN DISEASES OCCURRING WITH PNEUMONIA*

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Адрес: 196084, Россия, Санкт-Петербург, Черниговская ул., 5

*Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine*

*Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya Str., 5*

Балабанова Виктория Игоревна, к. в. н., доц., доцент кафедры патологической анатомии  
и судебной ветеринарной медицины

*Balabanova Victoria Igorevna, PhD of Veterinary Science, Associate Professor of the Pathologic Anatomy Depart*

Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., проф., зав. кафедрой патологической анатомии  
и судебной ветеринарной медицины

*Kudriashov Anatoly Alekseevich, Doctor of Veterinary Science, Professor, Head of the Pathologic Anatomy Depart*

**Аннотация.** Цель работы — определить типичные патологоанатомические изменения у откормочных свиней при болезнях, протекающих с пневмонией, для усовершенствования патологоанатомической дифференциальной диагностики. Объектом и материалом исследования послужили 26 откормочных свиней из промышленных свиноводческих ферм. В число исследованных животных вошли свиньи с комплексным диагнозом стрептококкоз — 8 голов, цирковироз — 6 голов, АПП — 4 головы и энзоотическая пневмония — 8 голов. При диагностике основывались на патологоанатомических изменениях, характерных для той или иной болезни. Патологоанатомический диагноз подтверждали результатом полимеразной цепной реакции и гистологическим исследованием. У всех животных была установлена пневмония. Стрептококкоз и цирковироз явно отличались от актинобациллёзной плевропневмонии и энзоотической пневмонии наличием патологоанатомических изменений во многих органах. При актинобациллёзной плевропневмонии и энзоотической пневмонии локализация патологоанатомических изменений была ограничена лёгкими и регионарными лимфоузлами, что не позволяет спутать эти две болезни со стрептококкозом и цирковирозом. Стрептококкоз и цирковироз характеризовались септическими изменениями, делающими эти болезни сходными между собой. Однако перикардит и эндокардит, как дифференцирующие признаки, были свойственны стрептококкозу, но не цирковирозу. Актинобациллёзная плевропневмония отличалась от энзоотической пневмонии по виду патологоанатомических изменений в лёгких: лобарная фибринозная плевропневмония при актинобациллёзной плевропневмонии против лобулярной катаральной пневмонии с ателектазом долек при энзоотической пневмонии. Подобных патологоанатомических изменений в лёгких не установлено ни при стрептококкозе, ни при цирковирозе.

**Summary.** The purpose of this work is to determine the typical, pathological changes in fattening pigs in diseases occurring with pneumonia to improve the pathoanatomical differential diagnosis. The object and material of the study were 26 fattening pigs from industrial pig farms. The studied animals included pigs with a complex diagnosis of streptococcosis — 8 heads, circovirosis — 6 heads, APP — 4 heads and enzootic pneumonia — 8 heads. The diagnosis was based on pathological changes characteristic of a particular disease. The pathoanatomic diagnosis was confirmed by a polymerase chain reaction and histological examination. All the animals were diagnosed with pneumonia. Streptococcosis and circovirosis clearly differed from actinobacillosis pleuropneumonia and enzootic pneumonia by the presence of pathological changes in many organs. In actinobacillosis pleuropneumonia and enzootic pneumonia, the localization of pathological changes is limited to the lungs and regional lymph nodes, which does not allow to confusing these two diseases with streptococcosis and circovirosis. Streptococcosis and circovirosis were characterized by septic changes making these diseases are similar. However, the pericarditis and endocarditis, as differentiating features were characteristic of streptococcosis, but not circovirosis. Actinobacillosis pleuropneumonia differed from enzootic pneumonia by the type of pathological changes in the lungs: lobar fibrinous pleuropneumonia in actinobacillosis pleuropneumonia, lobular and catarrhal pneumonia with lobular atelectasis in enzootic pneumonia. Similar pathological changes in the lungs is not installed when streptococcosis or circovirosis.

## Введение

Эффективность производства на свиноводческих фермах во многом зависит от состояния здоровья выращиваемого поголовья. Фермы терпят убытки, порой значительные, от потерь массы и падежа животных, в особенности в группах откорма, причиняемых различными болезнями. Мероприятия по сокращению потерь основываются и зависят от правильной диагностики болезней поголовья каждой фермы. В диагностическом комплексе важным, а часто и решающим является патологоанатомическое исследование [1, 2, 4]. Патологоанатомическое исследование даёт возможность выявить типичные для отдельных болезней патологоанатомические изменения, получить объективные данные для их дифференцировки [5]. В ходе исследования поголовья на ряде ферм промышленного типа нам удалось определить структуру и статистику болезней откормочных свиней, среди которых значительное место заняли болезни, протекающие с пневмонией: стрептококкоз (у 10,8 % всех исследованных животных), цирковироз (у 4,8 %), актинобациллёзная плевропневмония – АПП (у 10,2 %) и энзоотическая пневмония (у 7,3 %) [6]. На наш взгляд, проводя вскрытие, удобно взять пневмонию, легко диагностируемую при макроскопическом исследовании, за отправную точку в дифференциальной диагностике болезней, одним из проявлений которых и является собственно пневмония. У этих болезней существуют и другие патологоанатомические проявления, отличающие каждую болезнь от других. С целью научного обеспечения дифференциальной диагностики болезней, протекающих с пневмонией, провели анализ результатов комплексного исследования откормочных свиней, больных стрептококкозом, цирковирозом, актинобациллёзной плевропневмонией и энзоотической пневмонией, т. е. болезнями, протекающими с пневмонией. Для достижения цели было необходимо решить две задачи: во-первых, определить типичные патологоанатомические и патогистологические изменения в лёгких и, во-вторых, определить типичные патологоанатомические изменения в других органах при каждой болезни.

## Материалы и методы исследования

Объектом и материалом исследования послужили 26 павших и подвергнутых убою свиней в возрасте 100–160 дней из свиноводческих ферм промышленного типа, в том числе с комплексным диагнозом стрептококкоз – 8 голов, цирковироз – 6 голов, АПП – 4 головы и энзоотическая пневмония – 8 голов. Патологоанатомическое исследование проводили по методу Рудольфа Вирхова [3]. Согласно этому методу, органы удаляли из трупа и исследовали отдельно один за другим на столе. Во время патологоанатомического исследования отбирали пробы лёгких для исследования с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) и для гистологического исследования. Пробы для гистологического исследования помещали для фиксации в 10 % раствор нейтрального формалина, а затем проводили заливку в парафин по общепринятой методике и на ротационном микротоме готовили срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрасили гематоксилином и эозином. Изучение гистологических препаратов провели при помощи светоптических микроскопа для биологических исследований N-100В и микроскопа Микмед-5 при увеличении 160 и 400.

## Результаты исследования и обсуждение

### 1. Результаты исследования ПЦР

У 8 свиней из патологического материала, взятого при вскрытии, при исследовании ПЦР с наборами реагентов на наличие инфекционных агентов выделен геном бактерии *Streptococcus suis*. У 6 свиней из патологического материала, взятого при послеубойном осмотре, в результате исследования ПЦР с наборами реагентов на наличие инфекционных агентов выделен геном цирковируса PCV2. У 4 свиней из патологического материала, взятого при послеубойном осмотре, в результате исследования ПЦР с наборами реагентов на наличие инфекционных агентов выделен геном *Actinobacillus pleuropneumoniae*. У 8 животных, из патологического материала, взятого при послеубойном осмотре, в результате исследования ПЦР с наборами реагентов на наличие инфекционных агентов выделен геном *Mycoplasma hyopneumoniae*.

## 2. Результаты патологоанатомического исследования откормочных свиней при болезнях, протекающих с пневмонией

Результаты патологоанатомического исследования откормочных свиней при болезнях, протекающих с пневмонией, сведены в таблице 1.

Результаты патологоанатомического исследования откормочных свиней при болезнях, протекающих с пневмонией, сведенные в таблице, согласуются с литературными данными по стрептококкозу [9], по цирковирозу [10], по АПП [7], по энзоотической пневмонии [8].

Исходя из результатов патологоанатомического исследования свиней при стрептококкозе, цирковирозе, актинобациллёзной плевропневмонии и энзоотической пневмонии, сведённых в таблице, стрептококкоз и цирковироз явно отличаются от актинобациллёзной плевропневмонии и энзоотической пневмонии наличием патологоанатомических изменений во многих органах. При актинобациллёзной плевропневмонии и энзоотической пневмонии локализация патологоанатомических изменений ограничена лёгкими и регионарными лимфоузлами.

## 3. Патологоанатомические и патогистологические изменения в лёгких откормочных свиней при болезнях, протекающих с пневмонией

### Стрептококкоз

Патологоанатомические изменения. Лёгочная ткань при пальпации ощущалась уплотнённой, с поверхности были видны

очаги красного цвета, междольковые перегородки также имели красный цвет (рисунок 1). Мелкие фрагменты лёгочной ткани тонули в воде. С поверхности разреза лёгких стекала водянистая, мутная, белая или красная жидкость.

Патогистологические изменения. Выявили острую интерстициальную серозно-геморрагическую пневмонию, сочетающуюся с колонизацией лёгочной ткани стрептококками, а также смешанными тромбами в артериальных и венозных сосудах (рисунок 2, 3). Колонизацию лёгочной ткани стрептококками логично рассматривать скорее как продолжение фазы внедрения стрептококков в начале инфекционного процесса с быстрым ответом макроорганизма в виде острой интерстициальной лимфоцитарно-макрофагальной пневмонии, нежели как часть септических изменений при генерализации инфекции. Серозно-геморрагическая пневмония, у ряда свиней сочетающаяся с красными тромбами в венозных сосудах, представляется результатом воздействия токсинов и ферментов стрептококков непосредственно на эндотелий кровеносных сосудов и состав крови.

### Цирковироз

Патологоанатомические изменения. Лёгочная ткань имела уплотнённую консистенцию. С поверхности были видны мелкие очаги красного цвета (рисунок 4). Мелкие фрагменты лёгочной ткани тонули в воде. С поверхности разреза лёгких стекала

Таблица 1

**Патологоанатомические изменения у откормочных свиней при болезнях, протекающих с пневмонией**

Болезни	Патологоанатомические изменения	
	В лёгких	В других органах
Стрептококкоз	Серозно-геморрагическая пневмония	Перикардит, миокардит, эндокардит, инфаркты в почках, менингит
Цирковироз	Интерстициальная пневмония	Увеличение в несколько раз брыжеечных и поверхностных паховых лимфоузлов, красная сыпь, большие пёстрые почки
Актобациллёзная плевропневмония	Фибринозная плевропневмония	Воспаление лимфоузлов головы и средостения
Энзоотическая пневмония	Катаральная бронхопневмония и ателектаз	Воспаление лимфоузлов средостения



Рис. 1. Стрептококкоз. Серозно-геморрагическая пневмония

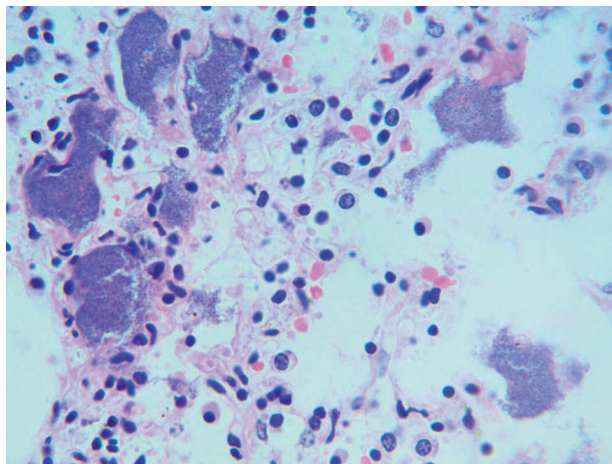


Рис. 2. Гистосрез лёгкого. Стрептококкоз. Интерстициальная пневмония и колонии бактерий. Увеличение 400. Окраска гематоксилином и эозином

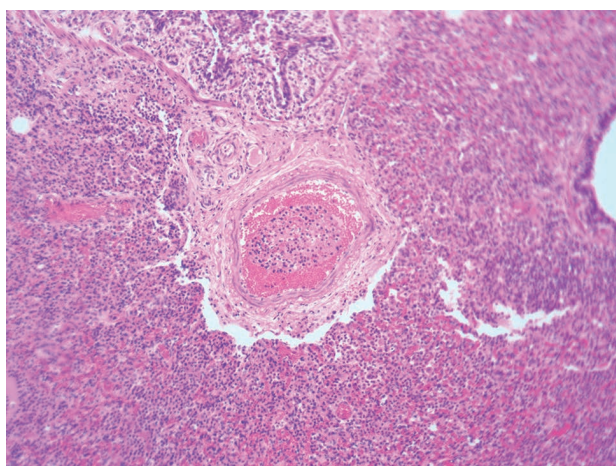


Рис. 3. Гистосрез лёгкого. Стрептококкоз. Серозно-геморрагическая пневмония, тромбоз. Увеличение 160. Окраска гематоксилином и эозином



Рис. 4. Цирковироз. Лёгкое. Пневмония и точечные кровоизлияния

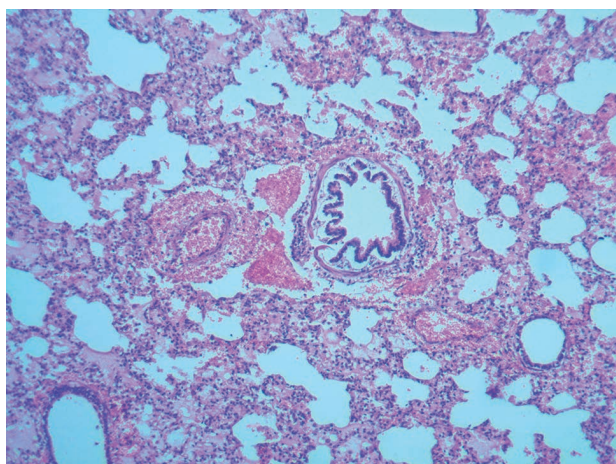


Рис. 5. Гистосрез лёгкого при цирковирозе. Интерстициальная пневмония, отёк и кровоизлияния. Увеличение 160. Окраска гематоксилином и эозином



Рис. 6. АПП. Фибринозная пневмония. Мраморность

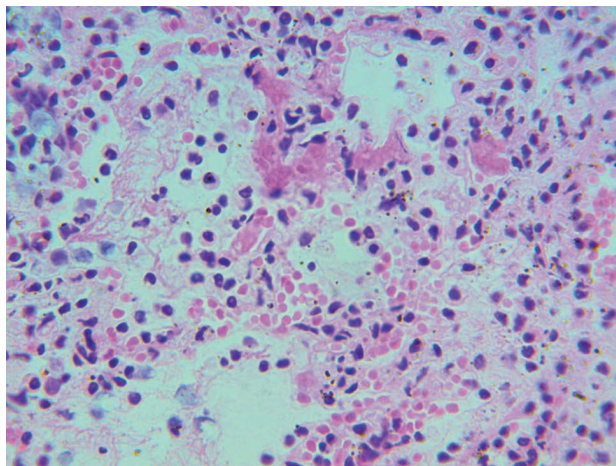


Рис. 7. Гистосрез лёгкого при АПП. Серозно-фибринозно-геморрагическая пневмония. Увеличение 140. Окраска гематоксилином и эозином

мутная, красная, водянистая жидкость. Точно определить вид воспаления лёгких по макроскопическим изменениям не представилось возможным.

Патогистологические изменения. В гистологических препаратах большинства образцов лёгких нашли патогистологические изменения, указывающие на наличие интерстициальной пневмонии: межальвеолярные соединительнотканые перегородки расширены за счёт кровоизлияний и эмиграции лимфоцитов и пролиферации макрофагов (рисунок 5).

#### *Актинобациллёзная плевроневмония*

Патологоанатомические изменения. По наличию типичной мраморности, расширению междольковых перегородок (рисунок 6), относительно сухой поверхности разреза воспалённого лёгкого была диагностирована фибринозная пневмония. Имел место и фибринозный плеврит.

Патогистологические изменения. В гистологических срезах лёгких альвеолы и межальвеолярные перегородки содержали серозный или серозно-геморрагический экссудат с тонкими волокнами фибрина и лейкоцитами (рисунок 7). При этом в клеточном компоненте экссудата преобладали лимфоциты и макрофаги.

#### *Энзоотическая пневмония*

Патологоанатомические изменения. У всех свиней установлена лобулярная катаральная бронхопневмония и ателектаз долек (рисунок 8).



Рис. 8. Энзоотическая пневмония. Очаговая лобулярная пневмония, переходящая в ателектаз

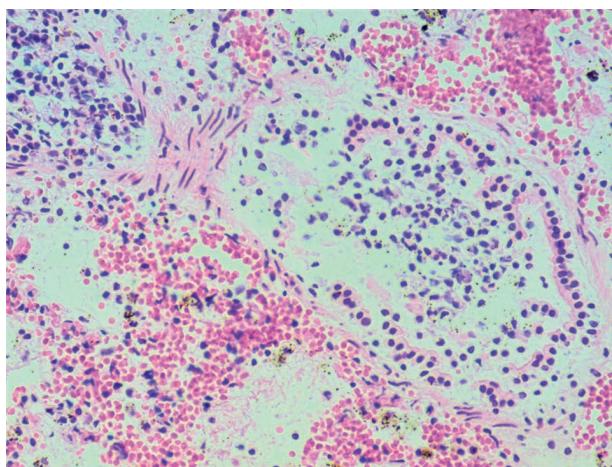


Рис. 9. Гистосрез лёгкого при энзоотической пневмонии. Начало закупорки бронха. Увеличение 400. Окраска гематоксилином и эозином

Патогистологические изменения. Многие бронхи были в состоянии частичной или полной закупорки белковым и клеточным экссудатом, другие – в состоянии зарастания, что сочеталось с участками ателектаза, находившимися рядом с изменёнными бронхами (рисунок 9). Результаты гистологического исследования уточняют макроскопический диагноз. Для энзоотической пневмонии, протекающей в форме лобулярной катаральной бронхопневмонии, свойственны катаральное воспаление бронхов и прилегающих альвеол с наличием в их просветах белкового вещества, десквамированных клеток эпителия и лейкоцитов, и лейкоцитарный перибронхит. К этому же типична частичная или полная закупорка бронхов белковым и клеточным экссудатом, а также зарастание бронхов, что

сочетается с участками ателектаза, находящимися рядом с изменёнными бронхами.

## Заключение

Таким образом, в результате патологоанатомического исследования и исследования ПЦР у 26 павших и подвергнутых убою свиней в возрасте 100–160 дней из свиноводческих ферм промышленного типа были диагностированы: стрептококкоз у 8 голов, цирковироз у 6 голов, АПП у 4 головы и энзоотическая пневмония у 8 голов. У всех животных была установлена пневмония. Исходя из результатов патологоанатомического исследования, стрептококкоз и цирковироз явно отличались от актинобациллёзной плевропневмонии и энзоотической пневмонии наличием патологоанатомических изменений во многих органах. При актинобациллёзной плевропневмонии и энзоотической пневмонии локализация патологоанатомических изменений ограничена лёгкими и регионарными лимфоузлами, что не позволяет спутать эти две болезни со стрептококкозом и цирковирозом.

Стрептококкоз и цирковироз характеризуются септическими изменениями, делающими эти болезни сходными между собой. Однако перикардит и эндокардит, как дифференцирующие признаки, свойственны стрептококкозу, но не цирковирозу.

Отличать АПП от энзоотической пневмонии следует по виду патологоанатомических изменений в лёгких: лобарной фибринозной плевропневмонии при АПП и лобулярной катаральной пневмонии с ателектазом долек при энзоотической пневмонии. Подобных патологоанатомических изменений в лёгких нет ни при стрептококкозе, ни при цирковирозе.

## Список литературы

1. Дилекова О. В. Патологоанатомическое вскрытие как один из ведущих методов диагностики / О. В. Дилекова, В. А. Мещеряков, В. В. Михайленко, В. М. Шпыгова // Вестник АПК Ставрополя. 2019. № 1 (33). С. 35–38.
2. Дроздова Л. И. Патологическая анатомия – перспективы развития науки о материальном субстрате болезни / Л. И. Дроздова // Вестник АПК Ставрополя. 2017. № (4). С. 27–29.
3. Жаров А. В. Вскрытие и патологоанатомическая диагностика болезней сельскохозяйственных животных / А. В. Жаров, И. В. Иванов, А. А. Кунаков, Н. А. Налетов, А. П. Стрельников. Под ред. В. П. Шишкова, А. В. Жарова, Н. А. Налетова. М.: Колос, 1982. С. 12.
4. Жаров А. В. Патологическая анатомия животных / А. В. Жаров. Изд. 2-е, перераб. и доп. СПб.: Лань, 2013. 608 с.
5. Петрова О. Г. Патоморфологические признаки при цирковиральной инфекции свиней / О. Г. Петрова, И. М. Донник, А. Г. Исаева, Ю. Г. Крысенко // Аграрный вестник Урала. 2013. № 12 (118). С. 35–41.
6. Balabanova V. Structure and Statistics of Mortality in Pig Feeding Groups on Industrial Type Farms in 2009–2019 / V. Balabanova, A. Kudriashov // Proceedings of the 1st International Symposium Innovations in Life Sciences (ISILS 2019). Atlantic Press, Advances in Biological Sciences Research. 2019. V. 7. P. 16–18. Doi.org/10.2991/isils-19.2019.4
7. Brauer C. Experimental Actinobacillus pleuropneumoniae challenge in swine: Comparison of computed tomographic and radiographic findings during disease/ C. Brauer, I. Hennig-Pauka, D. Hoeltig, F. Buettner, M. Beyerbach, H. Gasse, G. Gerlach, K. Waldmann // BMC Vet. Res. 2012. V.8. C. 47.
8. Constable P. D. Diseases of the Respiratory System. // Veterinary Medicine, 11th Edition / Editors P. D. Constable, K. W. Hinchcliff, S. H. Done, W. Grünberg. Elsevier Saunders, 2017. P. 845–1090.
9. Gottschalk, M. Streptococcus. In Diseases of Swine / B. E. Straw, J. J. Zimmerman, S. D'Allaire and D. J. Taylor, eds. Blackwell Publishing, Ames, IA, USA. 2012. P. 841–855.
10. Marks, F. S. Porcine circovirus 2 (PCV2) increases the expression of endothelial adhesion/junction molecules / F. S. Marks, L. L. Almeida, D. Driemeier, C. Canal, D. E. Barcellos, J. A. Guimarães, J. Reck // Braz. J. Microbiol., 2016. V. 47(4). С. 870–875. doi: 10.1016/j.bjm.2016.07.001.



Быстрое оформление подписки на журнал  
«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»  
ONLINE:

<http://avvb.ru/subscription>

## КРАТКАЯ ИНФОРМАЦИЯ О ЖУРНАЛЕ фундаментальных и прикладных исследований «Актуальные вопросы ветеринарной биологии»

**1. Полная информация о журнале и архив номеров:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vp\\_main.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vp_main.htm)

**2. Правила для авторов, подготовка материалов, оформление статьи, сопроводительное письмо:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_avtor.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_avtor.htm) (полная версия).

Важным условием для принятия материалов в журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» является их соответствие правилам журнала (см. полную версию). При наличии значительных отклонений от правил, направленные материалы рассматриваться не будут.

Материалы следует присылать по электронной почте: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru). Электронный вариант статьи рассматривается как оригинал. **Сопроводительное письмо:** К материалам статьи необходимо приложить сопроводительное письмо на имя главного редактора журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» Чуваева И. В. Скачайте письмо, заполните его, распечатайте, подпишите у авторов и у руководителя организации/учреждения, поставьте круглую печать организации, отсканируйте письмо и вместе со статьей пришлите в редакцию.

**Шаблон письма:** <http://invetbio.spb.ru/journal/SoprovoPis.doc>

Задать вопрос о статусе статьи и пр. можно по электронной почте: [virclin@mail.ru](mailto:virclin@mail.ru)

### **3. Авторские права:**

Авторы должны гарантировать, что поданные в журнал материалы не были ранее опубликованы. Авторы должны быть согласны с автоматическим переходом их авторских прав к журналу «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» в момент принятия статьи к печати. С этого момента весь приведенный в статье материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением могут являться:

- предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме;
- использование материалов статьи как части лекции или обзора;
- использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации, книги или монографии.

### **4. Оплата за публикацию статей:**

При соблюдении настоящих правил, рецензирование статьи и ее публикация является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях:

1. за публикацию цветных иллюстраций;
2. за большое количество иллюстративного материала (свыше 5-ти иллюстраций);
3. за размещение рекламной информации;
4. за повторную подачу материала в редакцию, в случае если статья (по результатам рецензирования) была отправлена автору на доработку;
5. за пользование платными услугами редакции.

**Платные услуги, их стоимость и условия оплаты:**

[http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_platusluga.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_platusluga.htm)

### **5. Рецензирование статей:**

Все материалы, поступающие в редакцию, для публикации в журнале, проходят рецензирование. Рецензирование осуществляется ведущими профильными специалистами (докторами и кандидатами наук).

**6. Подписка и приобретение журнала или отдельных статей, в том числе электронных версий:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_podpiska.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_podpiska.htm)

**7. Информация для рекламодателей:** [http://invetbio.spb.ru/journal/vb\\_reklam.htm](http://invetbio.spb.ru/journal/vb_reklam.htm)