Актуальные вопросы ветеринарной биологии № 3 (55) сентябрь 2022

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

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, доктор философии
Концевая С. Ю.,
проф., докт. вет. наук
Кудряшов А. А.,
проф., докт. вет. наук
Кузьмин В. А.,
проф., докт. вет. наук
Лайшев К.А.
проф., докт. вет. наук, акад. РАН
Макаров В.В.
проф., докт. биол. наук
Панин А. Н.,
проф., докт. вет. наук
акад. РАН,
Прудников В. С.,
проф., докт. вет. наук
Равилов Р.Х.,
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
Суховей Д. А.

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

ОГЛАВЛЕНИЕ

ФИЗИОЛОГИЯ

Залюбовская Е.Ю., Мансурова М.С.
Оценка физиологического состояния молодняка яичных кур в условиях Амурской области 3

Семенов Б.С., Гусева В.А., Кузнецова Т.Ш., Назарова А.В.
Влияние тренинга на биохимические показатели крови у лошадей, участвующих в соревнованиях по дистанционным пробегам 8

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

Кошеметов Ж.К., Нурабаев С.Ш., Наханова Г.Д., Оразымбетова Н.К., Умуралиев Б.К., Кондибаева Ж.Б., Абдураимов Е.О., Закарья К.Д.
Причина болезни и падежа коз на территории Жамбылской области 15

Макаров В.В., Барсуков О.Ю., Барсуков Ю.И.
Бешенство: «Zero deaths by 30» 23

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

Андреянов О.Н.
Определение жизнеспособности онкосферы цестод в искусственном пищеварительном соке 32

Шафиев А.П.
Эпизоотологическая ситуация в мире по наиболее распространенным инвазионным болезням крупного рогатого скота, вызываемым эктопаразитами 37

ФАРМАКОЛОГИЯ

Бутенко А.В., Оробец В.А., Киреев И.В.
Изучение токсикологических параметров препарата на основе тинидазола и левамизола 42

Шаньшин Н.В., Лунёва А.А.
Иммунотропные препараты при специфической профилактике парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота 50

ВЕТЕРИНАРНАЯ ХИРУРГИЯ

Набожинская Н.А., Кузнецова Т.Ш., Семенов Б.С., Хоменко Р.М.
Предупреждение некроза хвоста у маисового полоза (*Pantherophis guttatus*) 56

РАЗВЕДЕНИЕ

Тлецерук И.Р., Коник Н.В., Улимбашев М.Б.
Продуктивные особенности молочного стада симментальской породы 60

ДИАГНОСТИКА

Доронин М.И., Михалишин Д.В., Гусева М.Н., Михалишин В.В., Жбанова Т.В., Пронин В.В.
Конструирование плазмиды P JET 1.2 SF GFP-146S FMDV для получения положительного контроля при опосредованном определении концентрации 146S компонента вируса ящура в сырье для инактивированных вакцин 68

Доронин М.И., Луговская Н.Н., Михалишин Д.В., Клюкина Н.Д., Оковытая Т.В., Гочмурадов Ы.М.
Определение титра антител против випуса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII с помощью жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА 75

ГИСТОЛОГИЯ

Бартенева Ю.Ю., Зеленевский Н.В., Прусаков А.В.
Особенности гистологической организации тканей печени коров черно-пестрой породы в зависимости от уровня молочной продуктивности 85

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ

Кудряшов А.А., Левтеров Д.Е., Балабанова В.И.
Патоморфология вирусной геморрагической болезни кроликов 88

ИНФОРМАЦИЯ 94

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 13.09.2022. Дата выхода: 19.09.2022. 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, 2022

Actual Questions of Veterinary Biology № 3 (55) September 2022

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

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
Laishev K.A.
Dr. Vet. Sci., Professor,
Member of RAS
Makarov V.V.
Dr. Biol. Sci., Professor
Panin A.N.,
Dr. Vet. Sci., Professor,
Member of RAS
Prudnikov V. S.,
Dr. Vet. Sci., Professor
Ravilov R.H.,
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

CONTENTS

PHYSIOLOGY

Zalyubovskaya E. Yu., Mansurova M.S.
Assessment of the physiological state of young egg hens in the Amur region 3

Semenov B.S., Guseva V.A., Kuznetsova T.Sh., Nazarova A.V.
The effect of training on biochemical blood parameters in horses participating in distance running competitions 8

EPIZOOTOLOGY

Koshemetov Zh.K., Nurabayev S.Sh., Nakhanova G.D., Orazymbetova N.K., Umuraliyev B.K., Kondibayeva Zh.B., Abduraimov Y. O., Zakarya K.D.
The cause of the disease and the death of goats in the territory of the Zhambyl region 15

Makarov V.V., Barsukov O.Yu., Barsukov Yu.I.
Rabies: "Zero deaths by 30" 23

PARASITOLOGY

Andreyanov O.N.
Determination of the viability of the oncosphere of cestodes in artificial digestive juice 32

Shafiev A.P.
The epizootological situation in the world on the most common invasive diseases of cattle caused by ectoparasites 37

PHARMACOLOGY

Butenko A.V., Orobets V.A., Kireev I.V.
Study of the toxicological parameters of the preparation based on tinidazole and levamisole 42

Shanshin N.V., Luneva A.A.
Immunotropic agents for specific prevention of parainfluenza-3, respiratory syncytial infection in cattle 50

VETERINARY SURGERY

Nabozhinskaya N.A., Kuznetsova T.Sh., Semenov B.S., Khomenko R.M.
Prevention of corn snake (*Pantherophis guttatus*) tail necrosis 56

BREEDING

Tletseruk I.R., Konik N.V., Ulimbashev M.B.
Productive features of the dairy herd of the simmental breed 60

DIAGNOSTICS

Doronin M.I., Mikhalishin D.V., Guseva M.N., Mikhalishin V.V., Zhbanova T.V., Pronin V.V.
Construction of the plasmid P JET 1.2 SF GFP-146S FMDV to obtain positive control for the indirect determination of the concentration of the 146S particles of the foot-and-mouth disease virus in the raw materials for inactivated vaccines 68

Doronin M.I., Lugovskaya N.N., Mikhalishin D.V., Klulina N.D., Okovitaya T.V., Gochmuradov I.M.
Determination of the titer of antibodies against the FMD virus strain a No.2269/ARRIAH/2015 genotype A/ASIA/G-VII using a liquid-phase blocking indirect variant of elisa 75

HISTOLOGY

Barteneva Yu.Yu., Zelenevskiy N.V., Prusakov A.V.
Features of the histological organization of liver tissue of black mottle cows depending on the level of milk productivity 85

PATHOLOGICAL ANATOMY

Kudryashov A.A., Levterov D.E., Balabanova V.I.
Pathomorphology of viral hemmorhagic disease of rabbits 88

INFORMATION 94

Publishing of Institute of Veterinary Biology
Address of the editoral office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumskaya st., 3-Б. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru
Signed for press on 13.09.2022. Issue date: 19.09.2022. 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, 2022

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-3-7
УДК 636.5.034
Ключевые слова: молодняк кур, прирост живой массы, показатели крови, морфологические и биохимические исследования.
Key words: young hens, live weight gain, blood counts, morphological and biochemical studies

Залюбовская Е. Ю., Мансурова М. С.

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МОЛОДНЯКА ЯИЧНЫХ КУР В УСЛОВИЯХ АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ

ASSESSMENT OF THE PHYSIOLOGICAL STATE OF YOUNG EGG HENS IN THE AMUR REGION

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт»
Адрес: 675005, Россия, г. Благовещенск, ул. Северная, 112
Federal State Budgetary Scientific Institution «Far East Zone Research Veterinary Institute»
Address: 675005, Russia, Blagoveshchensk, Severnaya St., 112

Залюбовская Елена Юрьевна, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела животноводства и птицеводства.
E-mail: dalznivilabbiohim@mail.ru
Zalyubovskaya Elena Yuryevna, PhD of Agriculture Science, Senior Researcher of the Department of Animal Husbandry and Poultry.
E-mail: dalznivilabbiohim@mail.ru
Мансурова Мария Салиховна, научный сотрудник отдела животноводства и птицеводства.
E-mail: dalznivilabbiohim@mail.ru
Mansurova Mariya Salikhovna, Researcher of the Department of Animal Husbandry and Poultry.
E-mail: dalznivilabbiohim@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты исследований динамики живой массы, морфобиохимического анализа крови молодняка кур кросса Декалб Уайт в возрасте 30, 60 и 90 дней. Установлено, что живая масса птицы превышала возрастную норму. Выявлено отклонение от нормы количества гемоглобина и эритроцитов в 30 и 60 дней. Величина цветового показателя во все возрастные периоды была снижена. Наблюдалось увеличение лейкоцитов, лимфоцитов в 30 и 90 дней и псевдоэозинофилов в 60 дней. Содержание базофилов и эозинофилов в 30, 60 и 90 дней было снижено. На протяжении всего опыта у молодняка наблюдалась гиперпротеинемия, сопровождающаяся увеличением альбуминов, в 90 дней. На фоне снижения количества α- и β-глобулинов в 30, 60, 90 дней происходило увеличение γ-глобулинов. Количество глюкозы в 30 и 60 дней было снижено, в 90 дней превышало норму. В 30 и 60 дней определено повышение холестерина, в 60 и 90 дней – триглицеридов. Во все возрастные периоды уровень активности АЛТ, щелочной фосфатазы, АСТ был увеличен. В 30 и 60 дней наблюдалось увеличение билирубина. В 30, 60, 90 дней отмечалось повышение количества креатинина и мочевой кислоты. На всем протяжении опыта фиксировали гиперкалиемию при снижении количества магния.

Summary. *The article presents the results of studies of the dynamics of live weight, morphobiochemical analysis of the blood of young chickens of the Dekalb White cross at the age of 30, 60 and 90 days. It was found that the live weight of the bird exceeded the age norm. There was a deviation from the norm in the amount of hemoglobin and erythrocytes at 30 and 60 days. The value of the color index in all age periods was reduced. There was an increase in leukocytes, lymphocytes at 30 and 90 days, and pseudoeosinophils at 60 days. The content of basophils and eosinophils at 30, 60 and 90 days was reduced. Throughout the experiment, hyperproteinemia was observed in young animals, accompanied by an increase in albumins at 90 days. Against the background of a decrease in the number of α- and β-globulins in 30, 60, 90 days, an increase in γ-globulins occurred. The amount of glucose in 30 and 60 days was reduced, in 90 days it exceeded the norm. At 30 and 60 days, an increase in cholesterol was determined, at 60 and 90 days – triglycerides. In all age periods, the activity level of ALT, alkaline phosphatase, and AST was increased. At 30 and 60 days, an increase in bilirubin was observed. At 30, 60, 90 days, there was an increase in the amount of creatinine and uric acid. Throughout the experiment, hyperkalemia was recorded with a decrease in the amount of magnesium.*

avvb_2022_03.indd 3 20.09.2022 12:19:16

Введение

На современном этапе промышленного птицеводства необходимым условием обеспечения высокой продуктивности и сохранности поголовья сельскохозяйственной птицы является оптимизация физиологического состояния организма [2, 5].

Одним из наиболее точных способов оценки физиологического состояния птицы является изучение динамики роста и развития, а также морфобиохимических показателей крови цыплят. Контроль роста и развития осуществляют по приросту живой массы молодняка. Снижение живой массы не допускается, так как это отрицательно влияет на будущую продуктивность яичных кур [4, 6].

О процессах, связанных с ростом и развитием, также позволяют судить и морфобиохимические показатели крови. При нормальном физиологическом состоянии организма свойства и состав крови у сельскохозяйственной птицы относительно постоянны. Однако высокая интенсивность обменных процессов в организме птиц обусловливает быструю реакцию на изменения факторов окружающей среды. В связи с этим морфобиохимические показатели крови кур отражают даже незначительные сдвиги в функционировании систем организма, связанных с продуктивностью птицы [1, 5].

Таким образом, изучение изменений в физиологическом состоянии птицы позволяет вовремя скорректировать условия выращивания ремонтного молодняка яичных пород.

Целью работы являлась оценка физиологического состояния молодняка кур яичного кросса Декалб Уайт в период выращивания птицы в условиях Амурской области.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проводились в условиях Белогорской птицефабрики Амурской области и в отделе животноводства и птицеводства ФГБНУ ДальЗНИВИ. Объектом исследования являлся клинически здоровый молодняк кур яичного кросса Декалб Уайт.

Для опыта была сформирована группа цыплят в возрасте 30 дней в количестве 45 голов. Условия кормления и содержания птицы были схожими.

В целях оценки физиологического состояния молодняка яичных кур в возрасте 30, 60 и 90 дней определена живая масса, осуществлено взятие крови для морфобиохимического анализа.

Взвешивание птицы осуществлялось при помощи весов РН – 10 Ц 13 У (Украина). На основании полученных данных живой массы молодняка кур были рассчитаны ее абсолютный и среднесуточный приросты. Оценка живой массы птицы производилась в соответствии с руководством по клеточному содержанию кросса Декалб Уайт.

Взятие крови у птицы осуществлялось из сердца. Морфобиохимический анализ крови молодняка проводился по общепринятым методикам.

При оценке полученных результатов морфобиохимического анализа крови руководствовались нормами крови с учетом возрастных периодов по Н. В. Садовникову (1995).

Цифровой материал исследований обрабатывали методами вариационной статистики (Н. А. Плохинский, 1969) на ПК с использованием пакета программ Microsoft Office и определением критерия достоверности.

Результаты исследований и обсуждение

Одними из основных показателей, характеризующих рост и развитие молодняка кур, являются величина и приросты его живой массы (табл. 1).

Таблица 1

Живая масса молодняка кур, (M±m), n=45

Возраст цыплят	Норма	Живая масса, г	Прирост, г	
			абсолютный	среднесуточный
30 дней	272	311,88±4,63	386,56	12,88
60 дней	615	698,44±8,83	330,12	11,0
90 дней	948	1028,56±11,73	716,68	11,98

avvb_2022_03.indd 4 20.09.2022 12:19:16

Таблица 2

Морфологические показатели крови молодняка кур, M±m, n=45

Показатели	Возраст, дней					
	норма	30	норма	60	норма	90
Эритроциты, 10^{12}/л	2,1	1,74±0,08	2,0	2,48±0,05	2,3	2,31±0,09
Гемоглобин, г/л	73,0–89,0	68,04±1,91	61,0–89,0	101,37±3,95	68,0–85,0	79,46±1,79
Цветовой показатель	1,6	1,07±0,05	1,7	1,09±0,05	1,5	1,09±0,05
Лейкоциты, 10^{9}/л	26,6	43,35±3,03	30,2	32,53±1,64	28,8	52,82±4,28
Лейкоцитарная формула						
Базофилы, %	3,70	0,82±0,21	3,50	1,11±0,53	3,50	0,97±0,48
Эозинофилы, %	3,00	0,17±0,06	2,6	0,53±0,10	2,60	0,68±0,15
Псевдоэозинофилы, %	28,0	27,40±2,35	18,90	23,37±2,55	18,90	18,11±1,29
Лимфоциты, %	62,0	71,80±2,23	72,50	74,20±2,76	72,50	80,0±1,37
Моноциты, %	3,30	0,00	2,50	0,00	2,50	0,00

Живая масса цыплят в исследуемые периоды была выше нормы, наибольшее увеличение установлено в возрасте 30 и 60 дней – на 14,6 % и 13,5 %. Среднесуточный прирост в 30, 60 и 90 дней значительно не отличался, находился на уровне 11,0–12,88 г. Абсолютный прирост в процессе роста птицы увеличивался и в 90 дней составлял 716,68 г.

Морфологические и биохимические показатели крови имеют важное значение в определении физиологического состояния сельскохозяйственной птицы (табл. 2, 3).

По содержанию гемоглобина в крови молодняка кур отмечались существенные различия. В возрасте 30 дней данный показатель находился ниже нормы на 23,56 %, в 60 дней – превышал ее значение на 13,89 %, в 90 дней не выходил за пределы физиологической нормы.

По аналогии с содержанием гемоглобина изменялось и количество эритроцитов в крови цыплят. В 30-дневном возрасте отмечалось снижение эритроцитов на 18,58 %, в 60 дней – увеличение на 24,0 %, в 90 дней – в пределах нормы.

Величина цветового показателя у молодняка кур во все возрастные периоды была ниже на 27,34–35,89 %, что указывает на анемию.

На протяжении всего опыта у молодняка наблюдался лимфоцитарный лейкоцитоз, более выраженный в 30 и 90-дневном возрасте. Увеличение лейкоцитов превысило норму на 62,96–83,40 %.

В подтверждение этого при анализе лейкоцитарной формулы в 30 и 90 дней выявлено повышенное содержание лимфоцитов на 10,34–15,80 %. При этом в 60-дневном возрасте установлено увеличение псевдоэозинофилов на 23,65 %. Содержание базофилов в 30, 60 и 90-дневном возрасте было ниже физиологической нормы на 77,84 %, 68,58 % и 72,29 %. Данная картина наблюдалась и по содержанию эозинофилов, снижение которых составило 94,34 %, 79,62 % и 73,85 %, соответственно.

Для оценки белкового обмена нами выполнено исследование общего белка в сыворотке крови, по результатам которого у молодняка кур всех возрастов наблюдалась гиперпротеинемия. Так, в 30 и 60-дневном возрасте количество общего белка повысилось на 13,67–19,07 %, в 90 дней – на 25,0 %.

При исследовании белковых фракций отмечалось увеличение альбуминов в 30 и 90 дней на 5,9–19,06 %. В 60 дней данная фракция имела тенденцию к снижению и была ниже физиологической нормы на 8,86 %. Как повышение, так и снижение содержания глобулинов свидетельствует о нарушении синтетической функции печени. Количество α-глобулинов на всем протяжении опыта было снижено: в 30 дней на 36,64 %, 60 дней – 21,38 %, 90 дней – 9,6 %. То же самое прослеживается и по содержанию β-глобулинов, которые были снижены на 20,96 %, 36,91 % и 41,66 %, соответственно. Необходимо

avvb_2022_03.indd 5 20.09.2022 12:19:16

Таблица 3

Биохимические показатели крови молодняка кур, M±m, n=45

Показатели	Возраст, дней					
	норма	30	норма	60	норма	90
Общий белок, г %	3,46	4,12±0,06	3,95	4,49±0,04	4,08	5,10±0,06
Альбумины, %	38,6	42,10±1,06	44,5	40,56±0,80	36,2	38,34±0,90
α-глобулины, %	23,8	15,08±0,92	24,0	18,87±0,78	22,5	20,34±0,60
β-глобулины, %	14,7	11,62±0,85	15,5	9,78±0,59	16,3	9,51±0,52
γ-глобулины, %	20,4	31,17±0,91	20,6	30,92±0,60	20,1	31,99±0,69
Глюкоза, ммоль/л	11,1	9,68±0,30	12,3	9,78±0,20	10,9	12,34±0,41
Холестерин,ммоль/л	2,8	3,38±0,12	2,6	2,91±0,07	2,5	2,62±0,08
Триглицериды, ммоль/л	0,2–1,0	1,10±0,04	0,2–1,0	1,15±0,06	0,2–1,0	1,20±0,30
Билирубин, мкмоль/л	2,7	8,09±0,38	2,9	7,04±0,60	3,8	7,51±0,50
Креатинин, мкмоль/л	25,0–40,0	53,32±1,88	35,0–50,0	75,94±1,29	35,0–50,0	70,49±1,48
Кальций, ммоль/л	1,90–2,30	2,30±0,04	2,50–3,10	2,58±0,04	2,50–3,10	2,62±0,04
Фосфор неорганический, ммоль/л	1,80–2,20	3,24±0,10	2,10–2,40	2,46±0,17	2,10–2,40	2,46±0,06
Калий, ммоль/л	4,10–6,40	7,62±0,11	4,10–6,40	7,78±0,13	4,10–6,40	6,70±0,27
Магний, ммоль/л	0,70–1,23	0,90±0,01	0,70–1,23	0,83±0,01	0,70–1,23	0,74±0,02
Щелочная фосфатаза, Е/Л	88,3	528,39±40,13	81,7	373,39±39,44	86,7	510,52±39,21
АСТ, Е/Л	45,0	143,98±4,12	25,0	152,77±2,92	58,0	132,80±4,13
АЛТ, Е/Л	1,2	6,44±0,19	2,2	7,2±0,18	1,5	9,95±1,48
Мочевая кислота, мкмоль/л	240,0–305,0	347,70±10,74	240,0–305,0	482,20±7,20	250,0–305,0	404,53±8,77

отметить, что на фоне снижения альфа- и бета-глобулинов происходило увеличение гамма-глобулинов: в начале опыта на 52,79 %, в середине – 50,09 % и в конце – 59,15 %. Мы связываем такое состояние птицы с тем, что в данные возрастные периоды происходит частая вакцинация, следствием которой является увеличение гуморального иммунитета и лимфоцитарный лейкоцитоз.

Важное значение в оценке физиологического состояния молодняка птицы имеет регулярное определение в крови цыплят уровня глюкозы, синтезируемой в печени, а также холестерина и триглицеридов для своевременной диагностики нарушений липидно-углеводного обмена. По данным наших исследований, у молодняка птицы в сыворотке крови выявлено снижение концентрации глюкозы (гипогликемия) в начале опыта на 12,8 % и в середине – 20,49 %. Однако в конце опыта количество глюкозы, напротив, превышало норму на 13,21 %. При этом у молодняка кур в возрасте 30 и 60 дней установлено повышение уровня холестерина на 11,91–20,71 %, а триглицеридов в 60 и 90 дней – на 15,0–20,0 % от нормы.

Исследование в сыворотке крови таких показателей, как аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), билирубин и щелочная фосфатаза позволяет оценить функциональное состояние печени в организме птицы.

Уровень активности АЛТ и щелочной фосфатазы у цыплят в 30 дней был увеличен в 4,5 и 5,0 раза, в 60 дней – в 2,5 и 3,5 раза, и в 90 дней – более чем в 5,5 и 4,88 раза, соответственно, что свидетельствует о поражении гепатоцитов.

Увеличение уровня активности АСТ у цыплят превышало физиологический показатель в возрасте 30 дней в 2,0 раза, в 60 дней – в 5,11 раза и в конце опыта (90 дней) – в 1,28 раза. Такие резкие изменения могут свидетельствовать о поражении сердечной мышцы и гепатоцитов. На фоне значительного повышения вышеуказанных показате-

avvb_2022_03.indd 6 20.09.2022 12:19:16

лей отмечается увеличение количества билирубина в возрасте 30 и 60 дней в 1,5–2 раза. В возрасте 90 дней его значение превышало норму на 97 %, что косвенно свидетельствует о нарушении оттока желчи (холестаз).

Для оценки функции почек молодняка кур было определено в сыворотке крови количество креатинина и мочевой кислоты. Полученные результаты исследований свидетельствовали о повышении данных показателей на протяжении всего опыта: в начале на 33,3 и 14,0 %, в середине – 51,8 и 58,1 % и в конце – 40,9 и 32,6 % соответственно. Исходя из результатов эксперимента, у цыплят выявлены функциональные нарушения работы почек в течение всего периода опыта.

Калий тесно взаимосвязан с таким элементом, как магний. На всем протяжении опыта мы фиксировали гиперкалиемию. Увеличение количества калия в сыворотке крови молодняка кур составляло 19,06–21,56 % при снижении магния на 26,83, 32,53 и 39,84 %.

При оценке минерального обмена нами не выявлено значительных отклонений от физиологической нормы, за исключением повышения неорганического фосфора на 47,27 % в возрасте 30 дней.

Заключение

Таким образом, на начальном этапе наших исследований физиологического состояния молодняка кур кросса Декалб Уайт полученные результаты свидетельствовали о превышении возрастной нормы живой массы на 8,4–14,6 %, нарушениях белкового, липидно-углеводного, минерального обменов веществ у птицы, указывая на существенную необходимость коррекции технологии кормления и содержания молодняка кур в период выращивания на птицефабрике в условиях Амурской области.

Список литературы

1. Котарев, В. И. Динамика показателей крови молодняка кур яичного направления на фоне применения комплексной пробиотической добавки / В. И. Котарев, Л. И. Денисенко, В. В. Шипилов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 1(53). С. 188–192.

2. Сенько А. В. Фитопробиотический стимулятор для повышения продуктивности и стрессоустойчивости сельскохозяйственной птицы / А. В. Сенько, И. А. Астрецов, М. В. Анискина // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: Материалы 76-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2020 год. Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина. 2021. С. 679–682.

3. Сиянова И. В. Монохроматическое освещение в птичнике / И. В. Сиянова // Вестник НГАУ. 2019. № 1(50). С. 161–170.

4. Сиянова И. В. Особенности полового созревания молодняка яичных кур при выращивании под монохроматическим и белым освещением / И. В. Сиянова, Т. В. Кручинкина // Вестник НГАУ. 2020. № 4(57). С. 144–150.

5. Etim N. A. N. Haematological Parameters and Factors Affecting Their Values / N. A. N. Etim [et al.] // Agricultural Science. 2014. Vol.2. №. 1. P. 37–47.

6. Nodu M. B. Evaluation of Azadirachta indica Leave Extract on Hematology and Biochemical Profiles, Organs Weight and Growth Parameters of Broiler Chickens / M. B. Nodu [et al.] // Journal of New Sciences. 2016. Vol. 32, article 5.

Подписной индекс журнала
«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»:
Агентство «Роспечать» – **33184**

Подписной индекс журнала
«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»
в каталоге «ПРЕССИНФОРМ» – **33184**

avvb_2022_03.indd 7 20.09.2022 12:19:16

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-8-14
УДК 577.1:612.1:636.1
Ключевые слова: лошади, дистанционные пробеги, тренинг, биохимические показатели крови
Keywords: horses, distance running, training, biochemical blood parameters

Семенов Б. С., Гусева В. А., Кузнецова Т. Ш., Назарова А. В.

ВЛИЯНИЕ ТРЕНИНГА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У ЛОШАДЕЙ, УЧАСТВУЮЩИХ В СОРЕВНОВАНИЯХ ПО ДИСТАНЦИОННЫМ ПРОБЕГАМ

THE EFFECT OF TRAINING ON BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS IN HORSES PARTICIPATING IN DISTANCE RUNNING COMPETITIONS

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины.
Адрес: 196084, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5.
Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine.
Address: 196084, Russian Federation, St. Petersburg, Chernigovskaya str., 5.

Семенов Борис Степанович, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры акушерства и оперативной хирургии
Semenov Boris Stepanovich, Doctor of Veterinary Science, Professor of the Department of Obstetrics and Operative Surgery
Гусева Вероника Андреевна, кандидат ветеринарных наук, ассистент кафедры акушерства и оперативной хирургии
Guseva Veronika Andreevna, PhD of Veterinary Science, Assistant of the Department of Obstetrics and Operative Surgery
Кузнецова Татьяна Шамильевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики и разведения животных
Kuznetsova Tatiana Shamilyevna, PhD of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Genetics and Animal Breeding
Назарова Анна Вениаминовна, ассистент кафедры акушерства и оперативной хирургии
Nazarova Anna Veniaminovna, Assistant of the Department of Obstetrics and Operative Surgery

Аннотация. Конные дистанционные пробеги – относительно молодой вид конного спорта для России. Лошади проходят огромные расстояния на выносливость. Для наиболее оптимальной подготовки животных и сохранения их здоровья необходимо учитывать все аспекты: от кормления и содержания до полноценного тренинга. Лошади на соревнованиях по конным дистанционным пробегам проходят от 40 до 160 км за 1 день. Такие нагрузки могут нанести колоссальный вред здоровью лошадей без правильной и тщательной подготовки. В статье представлена информация о влиянии физических нагрузок на показатели крови лошадей, участвующих в конном пробеге на дистанции 40 км. Также проводится сравнение между двумя группами лошадей, в которых одна группа готовилась в течение недели, а другая в течение двух недель перед соревнованиями. При этом показатели крови значительно отличались при разных подходах к тренингу лошадей.

Summary. *Equestrian distance running is a relatively young type of equestrian sport for Russia. Horses travel great distances for endurance. For the most optimal preparation of animals and preservation of their health, it is necessary to take into account all aspects: from feeding and maintenance to full-fledged training. Horses in equestrian distance running competitions run from 40 to 160 km in 1 day. Such loads can cause enormous harm to the health of horses without proper and thorough preparation. The article presents information on the effect of physical exertion on the blood parameters of horses participating in a horse race at a distance of 40 km. A comparison is also made between two groups of horses, in which one group was trained for a week and the other for two weeks before the competition. At the same time, blood counts differed significantly with different approaches to horse training.*

Введение

Конные дистанционные пробеги – относительно новый вид спорта для Ленинградской области и с каждым годом набирает всё большую популярность, проводятся как национальные, так и международные соревнования. Несмотря на то что алгоритмы всех действий при проведении соревнований четко описаны в ветеринарном регламенте [15], возникает много вопросов о наиболее оптимальных методах тренинга, кормления, профилактики и лечения травм. При участии в дистанционных пробегах лошади испытывают огромную нагрузку и проходят дистанции от 40 до 160 км

avvb_2022_03.indd 8 20.09.2022 12:19:16

за один день. Без тщательного научного изучения всех аспектов, начиная от содержания и до спортивного тренинга, сложно подготовить животных для прохождения таких длительных дистанций. Основной причиной хромоты лошадей, участвующих в соревнованиях по конным дистанционным пробегам, является мышечная боль, а не травмы [10]. Изменения уровня ферментов сыворотки крови, вырабатываемых в мышечной ткани, может являться предиктором развития мышечной боли и, как следствие, хромоты. Развитие мышечной усталости и боль могут быть очень опасными для здоровья лошади в случае продолжения работы. При мышечной усталости увеличивается риск получения травм вследствие того, что у лошади нарушается правильная поступь, а также способность противостоять естественным неблагоприятным изменениям грунта (скользкий, каменистый и т. д.). На ветеринарных инспекциях специалисты оценивают в том числе состояние мышц и качество аллюра. Однако пальпаторное определение напряженности и болезненности мышц достаточно субъективно, и необходимы маркеры, показывающие состояние мышц. С увеличением нагрузки могут изменяться и биохимические показатели крови. Определение показателей крови, которые позволят судить о тренированности лошади и ее готовности к дистанционному пробегу, является актуальным и заслуживает практического решения.

Цель исследования – определить влияние тренинга на показатели крови лошадей, участвующих в соревнованиях по конным дистанционным пробегам. Для достижения цели были поставлены следующие задачи – оценить влияние продолжительности тренинга на биохимические показатели сыворотки крови у лошадей, участвующих в соревнованиях по конным дистанционным пробегам на дистанции 40 км, до старта и после финиша.

Материалы и методы

Исследовали лошадей, участвующих в соревнованиях по конным дистанционным пробегам на дистанции 40 км, в возрасте 6–8 лет, арабской, терской, донской и буденновской пород. Были подобраны клинически здоровые животные. Лошадей разделили на две группы, по 10 голов в каждой. В первую группу вошли лошади, которых тренировали в течение двух недель до старта, а во вторую те, которых тренировали в течение одной недели до старта.

На соревнованиях все лошади проходили ветеринарный контроль до начала соревнований, на промежуточном этапе (через 20 км) и после прохождения всей дистанции. На ветеринарном контроле оценивали пульс, скорость наполнения капилляров, дегидратацию, болезненность мышц, перистальтику и качество движений согласно ветеринарному регламенту [15].

Все лошади, вне зависимости от длительности подготовки, проходили тренинг под всадником по следующей программе:

- понедельник – выходной, лошади находились в деннике и гуляли в леваде по 2 часа в день;
- вторник – 15 минут шаг, 10 минут рысь, 5 минут шаг, 10 минут рысь, 5 минут галоп, 20 минут шаг (всего 65 минут);
- среда – 30 минут рысь;
- четверг – 1 час шаг;
- пятница – 15 минут шаг, 10 минут рысь, 5 минут шаг, 10 минут рысь, 7 минут галоп, 3 минуты рысь, 20 минут шаг (всего 70 минут);
- суббота – 15 минут шаг, 10 минут рысь, 5 минут галоп, 5 минут рысь, 5 минут галоп, 3 минуты рысь, 3 минуты галоп, 3 минуты рысь, 20 минут шаг (всего 69 минут);
- воскресенье – манежная работа под всадником – 10 минут шаг, 10 минут рысь, 5 минут шаг, 10 минут рысь, 5 минут галоп, 20 минут шаг (всего 60 минут)

У включенных в исследование лошадей отбирали кровь до старта и повторно после прохождения ветеринарного контроля на окончательной ветеринарной инспекции. Взятие крови проводили из яремной вены. В сыворотке крови определяли концентрации КФК, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), мочевины, креатинина, общего билирубина, аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотранферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего белка, альбуминов, глобулинов, амилазы, гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ), холестерола, триглицеридов, глюкозы (биохимический анализатор Mindray, Китай)

Статистическую обработку полученных результатов выполняли в программе BioStat, AnalystSoft Inc., версия 7. Для статистического анализа был применен U критерий

avvb_2022_03.indd 9 20.09.2022 12:19:16

Таблица 1

Исходные данные включенных в исследование лошадей

Показатель	Группа 1	Группа 2
Количество животных	10	10
Пол животных	Кобылы 6 (60 %) Мерины 3 (30 %) Жеребец 1 (10 %)	Кобылы 5 (50 %) Мерины 3 (30 %) Жеребцы 2 (20 %)
Средний возраст, годы (95 % ДИ для возраста)	7,3 (6,1–8,5)	7,5 (6,0–8,3)

Манна-Уитни. В нашем исследовании приняли уровень значимости равным 95 % (p=0,05).

Результаты исследований

Данные о включенных в исследование лошадей представлены в таблице 1.

Как видно из данных таблицы, средний возраст лошадей составлял 7,3 и 7,5 года в первой и второй группах соответственно, следовательно, возраст лошадей был идентичный в обеих группах.

Распределение лошадей по породам представлено в таблице 2.

Как видно из данных таблицы 2, в обеих группах породный состав лошадей был схожим.

Результаты исследования проб крови лошадей обеих групп, взятых до старта и на финише после прохождения всей дистанции на окончательной ветеринарной инспекции, представлены в таблицах 3 и 4.

В таблицах указаны средние значения и 95 %-ные доверительные интервалы для значений показателей, полученных до забега и после финиша, а также значения P, полученные при сравнении показателей с использованием критерия Манна-Уитни.

Из данных таблицы 3 видно, что значения КФК, ЛДГ, мочевины, креатинина, общего билирубина, АСТ, АЛТ, ЩФ, общего белка, альбуминов и глобулинов у лошадей были статистически значимо выше после финиша по сравнению с данными до старта. При этом показатели КФК, ЛДГ, АСТ и ЩФ после финиша превышали референтные значения.

Согласно данным таблицы 4 значения КФК, ЛДГ, мочевины, креатинина, общего билирубина, АСТ, АЛТ, ЩФ, общего белка, альбуминов также были статистически значимо выше после финиша по сравнению с данными до старта. При этом показатели КФК, ЛДГ, АЛТ, АСТ, ЩФ и альбуминов после финиша превышали референтные значения.

Таким образом, лошади, которых тренировали в течение двух недель до прохождения дистанции, имели менее выраженные изменения в биохимических показателях сыворотки крови (таблица 3) по сравнению с лошадьми, которых тренировали в течение одной недели до соревнований (таблица 4).

Далее мы сравнили, на сколько изменились средние показатели концентрации ферментов в сыворотке крови, и сравнили величину этих изменений между группами в абсолютной и относительной величинах. Для этого мы нашли разность между значениями до забега и после финиша для каждого показателя в каждой группе. В таблице 5 полученные цифры внесе-

Таблица 2

Породы лошадей, включенных в исследование

Порода	Группа 1	Группа 2	Всего
Арабская	2	1	3
Терская	3	3	6
Донская	3	3	6
Буденовская	2	3	5
Всего	10	10	20

avvb_2022_03.indd 10 20.09.2022 12:19:16

Таблица 3

Биохимические показатели сыворотки крови лошадей, тренировавшихся в течение двух недель до соревнований

Показатели крови	До старта n=10	После финиша n=10	Референтный интервал	Р-значение
КФК, МЕ/л	266,9 (244,4–289,4)	389,3 (365,9–412,7)	34–333	0,0051*
ЛДГ, МЕ/л	297,8 (272,1–323,5)	403,2 (359,3–447,1)	102–341	0,0069*
Мочевина, ммоль/л	4,6 (4,0–5,2)	7,0 (6,3–7,6)	3,5–9	0,0051*
Креатинин, мкмоль/л	128,4 (115,9–140,9)	157,6 (150,0–165,2)	70–175	0,0051*
Общий билирубин, мкмколь/л	29,8 (24,0–35,5)	36,0 (31,4–40,6)	5–51	0,0051*
АСТ, МЕ/л	**299,3 (258,4–340,1)**	**386,7 (325,1–448,4)**	115–287	0,0051*
АЛТ, МЕ/л	11,7 (10,8–12,5)	18,9 (15,3–22,4)	3–25	0,0051*
ЩФ, МЕ/л	**434,9 (397,7–472,0)**	**556,2 (515,5–596,8)**	70–225	0,0051*
Общий белок, г/л	70,5 (68,4–72,6)	75,8 (73,6–78,1)	55–80	0,0051*
Альбумин, г/л	33,0 (31,3–34,8)	36,6 (35,6–37,6)	25–38	0,0051*
Глобулин, г/л	32,6 (29,9–35,3)	37,4 (35,1–39,7)	34–46	0,0077*
Амилаза, МЕ/л	42,7 (4,2–45,2)	43,5 (41,3–45,7)	45–190	0,3270
ГГТ, МЕ/л	12,2 (9,6–14,8)	12,3 (10,3–14,2)	2,7–22,4	0,8385
Холестерол, ммоль/л	2,3 (2,1–2,5)	2,5 (2,1–2,8)	1,8–3,7	0,1763
Триглицериды, ммоль/л	0,2 (0,2–0,3)	0,3 (0,2–0,3)	0,1–0,4	0,3433
Глюкоза, ммоль/л	4,1 (3,6–4,7)	4,4 (3,8–5,0)	3,5–7	0,2845

* – отличия статистически значимые (значение Р меньше принятого в нашем исследовании уровня значимости).

ны в столбец «Группа 1 (тренировки 2 недели)» и столбец «Группа 2 (тренировки 1 неделя)». Далее мы нашли разность между величиной изменения показателей в первой и второй группах. В таблице 5 полученные цифры внесены в столбец «Абсолютная разница». Затем мы рассчитали относительную разницу в процентах от изменения концентрации в группе 2. Для этого мы нашли отношение абсолютной разницы (значения в столбце «Абсолютная разница») к величине изменения у лошадей второй группы (значения в столбце «Группа 2 (тренировки 1 неделя)»). В таблице 5 полученные цифры внесены в столбец «Относительная разница».

В таблице 5 указаны ферменты, изменение концентрации которых составило более 30 %, а также Р-значения, полученные при сравнении изменений с использованием критерия Манна-Уитни.

Как мы видим, статистически значимо отличаются изменения КФК, ЛДГ и АСТ. В графическом виде изменения КФК и ЛДГ представлены на рисунках 1 и 2.

avvb_2022_03.indd 11 20.09.2022 12:19:16

Таблица 4

Биохимические показатели сыворотки крови лошадей, тренировавшихся в течение одной недели до соревнований

Показатели крови	До старта n=10	После финиша n=10	Референтный интервал	Р-значение
КФК, МЕ/л	375,6* (336,8-414,4)	1358,9* (1239,3-1532,6)	34–333	0,0051*
ЛДГ, МЕ/л	394,2* (363,1-425,3)	836,7* (758,1-915,3)	102–341	0,0051*
Мочевина, ммоль/л	4,6 (4,0-5,2)	6,9 (6,1-7,7)	3,5–9	0,0069*
Креатинин, мкмоль/л	134,3 (125,3-143,3)	158,4 (150,1-166,7)	70–175	0,0051*
Общий билирубин, мкмколь/л	20,2 (17,9-22,6)	27,1 (25,8-28,3)	5–51	0,0051*
АСТ, МЕ/л	**349,8* (299,3-400,4)**	**544,0* (465,4-622,5)**	115–287	0,0051*
АЛТ, МЕ/л	15,6 (13,6-17,5)	27,8* (24,3-31,3)	3–25	0,0051*
ЩФ, МЕ/л	**406,0* (344,5-467,5)**	**526,5* (466,5-586,4)**	70–225	0,0051*
Общий белок, г/л	67,6 (62,2-73,1)	75,3 (70,8-79,8)	55–80	0,0469*
Альбумин, г/л	37,1 (34,9-39,2)	45,6* (40,8-50,4)	25–38	0,0051*
Глобулин, г/л	34,3 (32,6-36,1)	35,9 (34,8-36,9)	34–46	0,0,1235
Амилаза, МЕ/л	52,9 (44,0-61,8)	54,3 (54,3-63,6)	45–190	0,9594
ГГТ, МЕ/л	13,9 (10,6-17,2)	13,8 (10,3-17,4)	2,7–22,4	0,7989
Холестерол, ммоль/л	3,0 (2,6-3,3)	2,8 (2,4-3,3)	1,8–3,7	0,8590
Триглицериды, ммоль/л	0,3 (0,2-0,3)	0,3 (0,2-0,4)	0,1–0,4	0,9594
Глюкоза, ммоль/л	4,8 (4,3-5,2)	5,0 (4,4-5,6)	3,5–7	0,4755

* – отличия статистически значимые (значение Р меньше принятого в нашем исследовании уровня значимости).

Таблица 5

Изменение концентрации ферментов в сыворотке крови по сравнению с уровнем до старта

Показатели крови	Группа 1 (тренировки 2 недели) n=10	Группа 2 (тренировки 1 неделя) n=10	Абсолютная разница	Относительная разница	Р-значение
КФК, МЕ/л	122,4	1010,3	887,9	88 %	0,0014*
ЛДГ, МЕ/л	105,4	442,5	337,1	76 %	0,0019*
АСТ, МЕ/л	87,5	194,1	106,7	55 %	0,0238*
АЛТ, МЕ/л	7,2	12,2	5,0	41 %	0,0641
Общий белок, г/л	5,3	7,7	2,4	31 %	0,3376
Альбумин, г/л	3,6	8,5	4,9	58 %	0,1775

* – отличия статистически значимые (значение Р меньше принятого в нашем исследовании уровня значимости).

avvb_2022_03.indd 12 20.09.2022 12:19:16

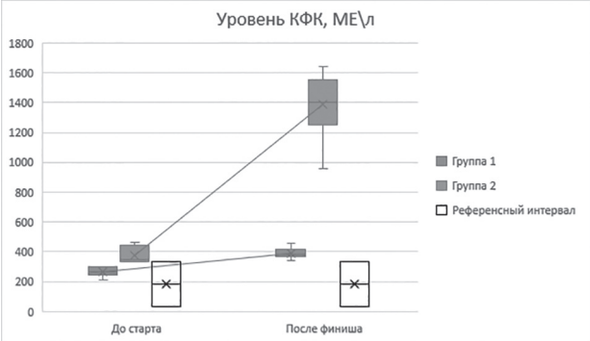


Рис. 1. Изменения концентрации КФК в сыворотке крови лошадей 1 и 2 групп.

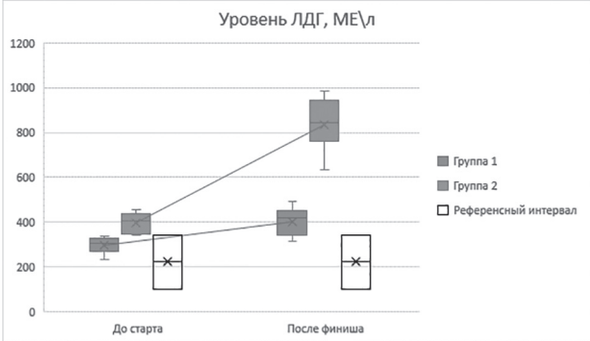


Рис. 2. Изменения концентрации ЛДГ в сыворотке крови лошадей 1 и 2 групп.

На диаграмме мы видим, что уровень КФК значительно выше у лошадей, тренировавшихся в течение 1 недели до соревнований.

Также очевидно значительное повышение ЛДГ у лошадей, тренировавшихся в течение одной недели до соревнований, по сравнению с лошадьми, тренировавшимися в течение двух недель до соревнований.

Обсуждение результатов

КФК (креатинфосфокиназа) – фермент, катализирующий образование из АТФ и креатина высокоэнергетического соединения креатинфосфата, который расходуется организмом при увеличении физических нагрузок. Креатинкиназа содержится преимущественно в скелетной мускулатуре, миокарде, гладких мышцах и в головном мозге. ЛДГ (лактатдегидрогеназа) – цитоплазматический фермент, катализирующий окисление молочной кислоты в пируват. В наибольшем количестве ЛДГ содержится в скелетных мышцах, печени, почках [8].

В гуманной медицине установлено, что уровень саркоплазматических ферментов (КФК и ЛДГ) является важным для оценки подготовки спортсменов. При повышении уровня КФК и ЛДГ происходят выраженные изменения проницательной способности мембран миоцитов и происходит адаптация организма к физическим нагрузкам. Показано, что у людей хорошо тренированных при выраженной нагрузке КФК и ЛДГ растут незначительно, в то время как у нетренированных людей возрастают в разы [6]. А также мониторинг уровня КФК в крови позволяет корректировать нагрузки в зависимости от уровня подготовки спортсменов [1, 2]. Выявлена зависимость уровня КФК от наличия мышечных повреждений, а также спортсмены с мышечной слабостью имели более высокие показатели КФК, ЛДГ, АСТ и АЛТ. Эти ферменты являются маркером повреждения мышечной ткани [7].

Из полученных данных очевидно, что лошади, которые тренировались в течение двух недель, имели меньшие отклонения по биохимическим показателям сыворотки крови по сравнению с теми, которые тренировались одну неделю. А именно у лошадей первой группы значения КФК были 389,3 МЕ/л, а во второй группе – 1358,9 МЕ/л, показатели ЛДГ в первой группе 403, 2 МЕ/л, во второй – 836,7 МЕ/л, уровень АСТ составил 386,7 МЕ/л, а во второй группе 544 МЕ/л.

Согласно нашим данным, можно предположить, что тренировки в течение 1 недели до соревнований по конным дистанционным пробегам являются недостаточными.

При форсированном тренинге сила воздействия нагрузок на опорно-двигательный аппарат возрастает быстрее, чем увеличивается запас прочности тканей, как следствие, развивается потеря эластичности мышечной ткани. Как правило, к синдрому перенапряжения спортсменов приводит именно нарушение организации процесса тренировок. В гуманной медицине есть термин «усталостные» травмы, которые могут проявляться и у животных [1, 3].

Повышение уровня белков, креатинина, мочевины, билирубина после соревнований свидетельствует о небольшой дегидратации вследствие интенсивных физических нагрузок, такие изменения наблюдались в обеих группах

avvb_2022_03.indd 13 20.09.2022 12:19:16

обследованных животных. Во время соревнований на выносливость дегидратация наступает по причине большого потоотделения и недостатка поступления жидкости в организм. В мышцах постоянно идет процесс обмена белков, а в случае активной мышечной работы он угнетается и процессы катаболизма преобладают над синтезом, далее содержание белков в мышцах снижается, увеличивается количество веществ небелковой природы, а часть белков переходит в кровь и даже в мочу [9].

Несмотря на успешное прохождение дистанции всеми лошадьми, очевидно, что животные, которые проходили тренинг недостаточно, имели некоторую болезненность при пальпации мышц и скованность при движении рысью, следовательно, проведение тренинга в течение одной недели до соревнований на дистанцию 40 км недостаточно и может приводить к повреждению мышечной ткани и, вероятно, к травмам.

Выводы

Показатели КФК и ЛДГ в сыворотке крови могут служить маркерами тренированности лошадей, участвующих в конных дистанционных пробегах. Возможно, что увеличение значений КФК и ЛДГ в сыворотке в несколько раз является показателем недостаточной подготовки лошадей. Животные, которых тренировали в течение одной недели до соревнований, после прохождения дистанции 40 км имели значительно повышенные уровни КФК, ЛДГ и АСТ, что является признаком мышечной слабости и предрасполагающим фактором к получению травм. Лошади, которых тренировали в течение двух недель до соревнований, имели меньшие изменения показателей КФК, ЛДГ и АСТ. Следовательно, тренировки лошадей в течение двух недель перед соревнованиями являются более оптимальными.

Для оптимальной подготовки лошадей к соревнованиям на дистанцию 40 км необходимо проводить тренинг в течение двух недель до соревнования.

Список литературы

1. Ачкасов Е. Е. Повреждения сухожилий малоберцовых мышц у спортсменов (обзор литературы). / Е. Е. Ачкасов, А. П. Середа, А. Д. Репетюк // Травматология и ортопедия России, № 4, том 22, 2016. С. 146–152.

2. Бутова О. А. Адаптация к физическим нагрузкам: анаэробный метаболизм мышечной ткани. / О. А. Бутова, С. В. Маслов // Вестник нижегородского университета им Н.И. Лобачевского №1. 2011. С. 123–128.

3. Колесниченко В. А. Механогенез синдромов перенапряжения у спортсменов. / В. А. Колесниченко, А. И. Продан, А. А. Тяжелов // Травматология и ортопедия России. №1 (43). 2007. С. 37–45.

4. Макконахи Ф. Ф. Состав лошадиного пота: эффекты вливания адреналина, физических упражнений и тренировок / Ф. Ф. Макконахи, Д. Р. Ходжсон, Д. Л. Эванс, Р. Д. Роуз // Ветеринарный журнал для лошадей. 1995. Дополнение, № 20, стр. 158–164.

5. Муркамилов И. Т. Повреждение мышечной ткани при COVID-19. / И. Т. Муркамилов, К. А. Айтбаев, И. О. Кудайбергенова и др. // Архив внутренней медицины. № 2. 2021. С. 146–153.

6. Никулин Б. А. Биохимические маркеры утомления и восстановления / Б. А. Никулин // http://www.vera-lab.ru/files/File/info/050409_123893283849d89d6611e4c.pdf

7. Рыбина И. Л. Физиологические значения активности креатинфосфокиназы у высококвалифицированных спортсменов циклических видов спорта. / И. Л. Рыбина // Медико-биологические проблемы спорта. https://cyberleninka.ru/article/n/fiziologicheskie-znacheniya-aktivnosti-kreatinfosfokinazy-u-vysokokvalifitsirovannyh-sportsmenov-tsiklicheskih-vidov-sporta/viewer

8. Самсонова П. П. Влияние мышечных травм у спортсменов на активность креатинфосфокиназы. / П. П. Самсонова // Forcipe. Том 3. 2020. С. 131–133.

9. Селезнева И. С. Биохимические изменения при занятиях физкультурой и спортом: учебное пособие. / И. С. Селезнева, М. Н. Иванцова. Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2019. 147 с.

10. Семенов Б. С. Травматизм лошадей на соревнованиях по конным дистанционным пробегам. / Б. С. Семенов, В. А. Гусева, Т. Ш. Кузнецова // Международный вестник ветеринарии. № 1. 2018. С. 104–107.

11. Сноу Д. Х. Изменения в составе крови, пота, мочи и мышц во время длительных упражнений у лошади / Д. Х. Сноу, М. Г. Керр, М. А. Ниммо, Э. М. Эбботт // Ветеринарный отчет. 1982. Том 110, № 16, стр. 377–384.

12. Терентьев А. А. Биохимия мышечной ткани: учебное пособие. / А. А. Терентьев. М.: ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Минздрава России, 2019. 76 с.

13. Фламинио М. Д. Баланс жидкости и электролита у выносливых лошадей / М. Д. Фламинио, Б. Р. Раш // Жидкости и электролиты у спортивных лошадей. 1998. том 14, № 1, стр. 147–158.

14. Burlikowska K. Haematological and biochemical blood parameters in horses used for sport and recreation / K. Burlikowska, M. Boguslavska-Tryk, R. Szymeczko, A. Piotrwska // Journal of Central European Agriculture, 2015, 16(4), p. 370–382.

15. Ветеринарный регламент ФКСР по пробегам http://fks-lo.ru/docs/reglament_FEI_probegi.pdf.

avvb_2022_03.indd 14 20.09.2022 12:19:16

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-15-23
УДК 579.887.111
Ключевые слова: инфекционная плевропневмония коз, полимеразная цепная реакция, полимеразная цепная реакция в реальном времени, эпизоотия.
Key words: infectious caprine pleuropneumonia, polymerase chain reaction, real-time polymerase chain reaction, epizootic.

Кошеметов Ж. К., Нурабаев С. Ш., Наханова Г. Д., Оразымбетова Н. К., Умуралиев Б. К., Кондибаева Ж. Б., Абдураимов Е. О., Закарья К. Д.

ПРИЧИНА БОЛЕЗНИ И ПАДЕЖА КОЗ НА ТЕРРИТОРИИ ЖАМБЫЛСКОЙ ОБЛАСТИ

THE CAUSE OF THE DISEASE AND THE DEATH OF GOATS IN THE TERRITORY OF THE ZHAMBYL REGION

«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Министерства здравоохранения Республики Казахстан. Адрес: 080409, Республика Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б. Момышулы, 15
"Research Institute of Biological Safety Problems" of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan Address: 080409, 15, B. Momyshuly str., Gvardeyskiy, Korday District, Zhambyl Region, Republic of Kazakhstan

Кошеметов Жумагали Каукарбаевич, д. б. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных заболеваний. E-mail: koshemetov2008@mail.ru
Koshemetov Zhumagali Kaukarbayevich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Diagnosis of Infectious Diseases. E-mail: koshemetov2008@mail.ru
Нурабаев Сергазы Шуратбаевич, PhD, заведующий лабораторией диагностики инфекционных заболеваний. E-mail: sergazy-75@mail.ru
Nurabaev Sergazy Shuratbayevich, PhD, Head of the Laboratory of Diagnosis of Infectious Diseases. E-mail: sergazy-75@mail.ru
Наханова Гульнур Джолдасбековна, магистр биологии, научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных заболеваний. E-mail: gal.gulnur@mail.ru
Nakhanova Gulnur Dzholdasbekovna, Master of Biology, Researcher of Laboratory of Diagnosis of Infectious Diseases. E-mail: gal.gulnur@mail.ru
Оразымбетова Нуркуль Калдыбайкызы, магистр биологии, научный сотрудник Лаборатории диагностики инфекционных заболеваний. E-mail: niki_taraz1991@mail.ru
Orazymbetova Nurkul Kaldybaykyzy, Master of Biology, Researcher of Laboratory of Diagnosis of Infectious Diseases. E-mail: niki_taraz1991@mail.ru
Умуралиев Бакыт Кудайбергенович, младший научный сотрудник Лаборатории диагностики инфекционных заболеваний. E-mail: baha_umuraliev@mail.ru
Umuraliyev Bakyt Kudaibergenovich, Junior Researcher, of Laboratory of Diagnostis of Infectious Diseases. E-mail: baha_umuraliev@mail.ru
Кондибаева Жанат Буркитбаевна, PhD, ведущий научный сотрудник Лаборатории технологии культивирования микрорганизмов. E-mail: zhanat.kondybaeva@mail.ru
Kondibayeva Zhanat Burkitbaevna, PhD, Leading Researcher, Microorganism Cultivation Technology Laboratory. E-mail: zhanat.kondybaeva@mail.ru
Абдураимов Ергали Оринбасарович, главный научный сотрудник Лаборатории особо опасных инфекционных заболеваний. E-mail: abduraimov_72@mail.ru
Abduraimov Yergali Orinbasarovich, Chief Researcher of the Laboratory for Particularly Dangerous Infectious Diseases. E-mail: abduraimov_72@mail.ru
Закарья Кунсулу Дальтоновна, главный научный сотрудник Лаборатории особо опасных инфекционных заболеваний. E-mail: rkm_kz@mail.ru
Zakarya Kunsulu Daltonovna, Chief Researcher of the Laboratory for Particularly Dangerous Infectious Diseases. E-mail: rkm_kz@mail.ru

Аннотация. Инфекционная плевропневмония коз (ИППК) – чрезвычайно контагиозная микоплазменная болезнь коз, характеризующаяся лихорадкой, быстрым развитием экссудативно-некротической (крупозной) пневмонии и серозно-фибринозного плеврита. Возбудитель *Mycoplasma mycoides* var. *capri*. В естественных условиях ИППК болеют козы всех пород и возрастов. Козлята сравнительно устойчивее к плевропневмонии, заболевают в основном в возрасте от 5 до 8 мес. Источниками возбудителя инфекции являются больные и переболевшие животные, а

avvb_2022_03.indd 15 20.09.2022 12:19:16

также клинически здоровые овцы – бактерионосители. В статье представлены данные по установлению причины заболевания и падежа коз от неизвестных болезней на территории Жамбылской области Республики Казахстан. В результате были проведены клинические осмотры больных животных, были проведены патолого-анатомические вскрытия трупов павших животных и отобраны пробы паренхиматозных органов, а также крови и жидкости из грудной полости для лабораторного исследования. В лабораторных условиях отобранные биологические материалы исследованы молекулярными методами на выявление вируса чумы мелких жвачных животных (ЧМЖЖ), бактерии возбудителя *Pasteurella multocida* и микоплазмы ИППК. В результате в исследованных 13 пробах биологического материала с двумя праймерами в 8 и 9 соответственно пробах был выявлен возбудитель ИППК.

Summary. *Infectious caprine pleuropneumonia (ICPP) is an extremely contagious mycoplasmal disease of goats, characterized by fever, rapid development of exudative-necrotic (croupous) pneumonia and serous-fibrinous pleurisy. The causative agent is Mycoplasma mycoides var. capri. Under natural conditions, goats of all breeds and ages are affected with ICPP. Kids are comparatively more resistant to pleuropneumonia, they are affected mainly at the age of 5 to 8 months. Sources of the causative agent of infection are sick and recovered animals, as well as clinically healthy sheep – bacteria carriers. The article presents data on establishing the cause of the disease and the death of goats from unknown diseases in the Zhambyl region, the Republic of Kazakhstan. As a result, clinical examinations of sick animals, pathological and anatomical autopsies of the corpses of dead animals were carried out, and samples of parenchymal organs, as well as blood and fluid from the chest cavity, were taken for laboratory research. Under laboratory conditions, the selected biological materials were examined by molecular methods for the detection of the peste des petits ruminants (PPR), the bacterium of the pathogen Pasteurella multocida and mycoplasma ICPP. As a result, in the studied 13 samples of biological material with two primers in 8th and 9-th samples, respectively, the causative agent of ICPP was identified.*

Введение

ИППК – чрезвычайно контагиозная микоплазменная болезнь коз, характеризующаяся лихорадкой, быстрым развитием экссудативно-некротической (крупозной) пневмонии и серозно-фибринозного плеврита [3, 4, 6, 8, 15].

ИППК издавна известна в арабских странах. Впервые описана в Алжире в 1873 г. В России эту болезнь наблюдали В. Я. Бенкевич (1895) и В. Н. Матвеев (1896). Выделенные в дальнейшем из различного патологического материала возбудители отнесены к самостоятельному виду [3, 4, 6, 8, 15].

Возбудитель *Mycoplasma mycoides var. capri* по морфологическим и культуральным свойствам сходен с возбудителем контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота, но по антигенной структуре отличается от него (в РСК регистрируют неполную перекрестную реакцию). Морфологически имеет форму кокков, палочек, нитей. Окрашивается неравномерно [3, 4, 6, 8, 15].

Культивировать возбудитель плевропневмонии удается с трудом. Его выращивают на специальных обогащенных питательных средах в течение 4–10 сут, в мышах и развивающихся куриных эмбрионах. Посевы делают из сердца, легких, экссудата грудной полости и др. [3, 4, 6, 8, 15].

В естественных условиях ИППК болеют козы всех пород и возрастов. Козлята несколько устойчивее к плевропневмонии, заболевают в основном в возрасте 5–8 мес. Экспериментально удается воспроизвести болезнь у овец, хотя спонтанно они не заболевают. Крупный рогатый скот, буйволы, кролики, морские свинки и белые мыши устойчивы к заражению.

Источниками возбудителя инфекции служат больные и переболевшие животные, а также клинически здоровые овцы-бактерионосители. Резервуаром возбудителя могут быть дикие козы, косули и другие дикие парнокопытные. Возбудитель выделяется из легких с носовым истечением и при кашле. В естественных условиях животные обычно заражаются аэрогенным путем при совместном содержании и тесном контакте с больными. В эксперименте болезнь с высоким постоянством воспроизводят у здоровых коз при подкожном, интратрахеальном и интраназальном заражении патологическим материалом (экссудат грудной полости, суспензия пораженных легких) и свежевыделенными культурами.

В эпизоотическом очаге заболевает почти все поголовье коз. Летальность достигает 90–100 % [3, 4, 6, 8, 15].

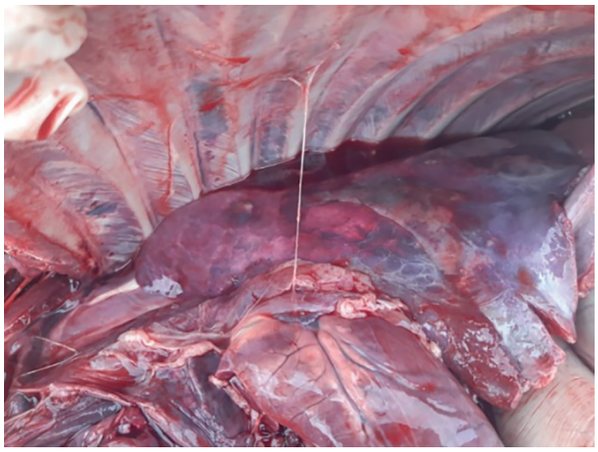
В течение длительного времени во многих странах мира, в том числе и в Казахстане, была широко распространена ИППК, которая наносила огромный экономический ущерб козоводству [5, 12, 13].

avvb_2022_03.indd 16 20.09.2022 12:19:16

а

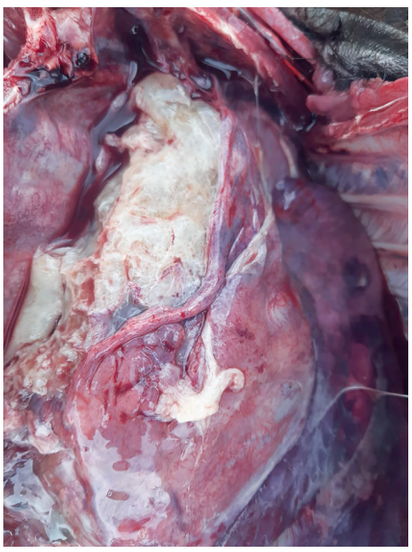
б

Рис.1. Клинические картины больных и павших коз.



а

б



в

г

Рис. 2. Изменение в грудной полости павших животных.

avvb_2022_03.indd 17 20.09.2022 12:19:16

а

б

Рис. 3. Изменение в печени и в сердце.

По данным Всемирной организации здравоохранения животных многие страны до сих пор являются неблагополучными по ИППК.

Контагиозная плевропневмония коз имеет важное экономическое и социальное значение для многих стран Африки и Азии из-за массового падежа животных, расходов, связанных с карантинными мероприятиями и ограничением международной торговли [14, 20, 21, 25].

В настоящее время ИППК получила широкое распространение в азиатских странах и наносит огромный экономический ущерб, оказывая большое влияние на численность поголовья коз и на уровень жизни населения [24, 26].

На территории нынешнего СНГ контагиозная плевропневмония коз была зарегистрирована в 1885 году в Казахстане [7], в 1935 году на Урале [16] и Узбекистане [10] и в 1936 году – в Дагестане [18].

Последние годы распространение ИППК среди диких винторогих и домашних коз на территории Республики Таджикистан участилось. Республика Казахстан близко расположена к Республике Таджикистан, и в связи с этим возникает опасность распространения в данном регионе ИППК. Кроме того на территории Республики Таджикистан и других азиатских стран данная болезнь регистрировалась в прошлом столетии.

Например, по сообщениям С. А. Мурватуллоева [16], в Таджикистане контагиозную плевропневмонию коз начали изучать в 30-е годы прошлого столетия под местным названием «Вабои буз» или «Мааки буз», поэтому ИППК для Таджикистана не является экзотической болезнью.

О распространении ИППК в Таджикистане впервые сообщили И. Е. Сокольский и П. В. Сипоновский в 1946 году [16].

В изучение болезни в Таджикистане значительный вклад внесли Е. Н. Павловский, Б. В. Лотоцкий, З. В. Попова, И. Е. Сокольский, Е. Е. Фалеева, С. А. Покровский и др. [9, 18, 19].

По данным Б. В. Лотоцкого [9], в 1939–1942 гг. эпизоотией КППК был охвачен 31 район Таджикистана.

С тех времен вплоть до середины восьмидесятых годов прошлого века, болезнь с разной степенью эпизоотологической экстенсивности и интенсивности, периодически регистрировали в подворьях и козоводческих хозяйствах республики [17].

Затем, благодаря массовым вакцинациям и строгим мерам борьбы, до середины 2009 года ИППК на территории Таджикистана не наблюдалась.

На протяжении более 28 лет Таджикистан был страной, свободной от ИППК.

После распада Советского Союза социально-экономические, хозяйственные и политические условия Таджикистана резко изменились. Вместо крупных специализированных козоводческих хозяйств образовались множества мелких смешанного характера дехканских хозяйств. Резко увеличилось количество коз в

avvb_2022_03.indd 18 20.09.2022 12:19:17

частном пользовании у населения Таджикистана [1].

Сформировались новые торгово-экономические связи Таджикистана с Афганистаном, Индией, Ираном, Пакистаном, Турцией и другими странами. Увеличилась неофициальная миграция животных с соседними странами, особенно с Афганистаном и Пакистаном.

Эти факторы способствовали вспышкам экзотичных для Таджикистана болезней, в т. ч. чумы мелких жвачных животных, а также возврату контагиозной плевропневмонии коз [11].

ИППК широко распространена на территории Республики Таджикистан и на протяжении последних лет наносит огромный экономический ущерб козоводству, а также является наиболее неблагоприятным обстоятельном в развитии козоводства Таджикистана [2, 5, 11].

В мировой литературе обобщен ряд объективных и субъективных факторов, способствующих распространению возбудителя болезни на большие расстояния [19, 22, 23].

В последнее годы в южных регионах Республики Казахстан были выявлены случаи заболевания и падежа среди коз и овец от болезни неизвестной этиологии. Одна из таких эпизоотий среди коз выявлена в частном дворе в сельском округе Отар Кордайского района Жамбылской области.

Целью исследования было выявление причины заболеваний и падежа коз на территории Жамбылской области.

Материалы и методы

Трупы павших коз. Биологические материалы в количестве 13 проб, отобранных от павших коз. Наборы полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики ИППК, ЧМЖЖ, ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) для выявления возбудителя *Pasteurella multocida.*

Из биологических материалов были приготовлены 20 % суспензий на стерильном физиологическом растворе.

Постановку молекулярных методов проводили согласно инструкции.

Результаты исследований

В первую очередь обследованы свежие трупы павших коз в очаге эпизотий, далее проведено патолого-анатомические вскрытие с последующем отбором биоматериала для лабораторного исследования.

При осмотре выявлены угнетенное состояние больных животных, вялое передвижение, потеря аппетита, кашель сухой и громкий, у некоторых влажный, замечены слизисто-гнойные истечения из носа.

При патолого-анатомическом вскрытии трупов павших коз выявлено, что пораженные участки легких увеличены (а), междольковые перегородки утолщены и отечны (б). Пораженные участки в стадии красной, серой, желтой гепатизации; на разрезе плотные, ломкие, зернисто-мраморного рисунка (в). Легочная плевра местами сращена с реберной и покрыта толстым слоем фибрина (г) (рис. 2).

Печень несколько увеличена, дряблой консистенции (а). Сердечная мышца дряблая (б) (рис. 3).

Для лабораторного исследования были отобраны 13 проб биологического материала от павших коз.

С целью исключения бактериальных, вирусных и микоплазменных возбудителей биоматериалы исследованы с помощью ПЦР и ПЦР в реальном времени для выявления нуклеиновых кислот возбудителей ЧМЖЖ, ИППК и *Pasteurella multocida.*

Результаты исследований 13 проб биологических материалов на наличие возбудителей ИППК и ЧМЖЖ представлены ниже.

Для постановки были использованы праймеры rpoB (PG3) (359 п.о.) и rpoB (LC105) (319 п.о.) для ИППК, а для ЧМЖЖ PPVR 3-RF (270 п.о.). Для ЧМЖЖ использован набор Qiagen OneStep PCR Kit.

ПЦР смесь для ЧМЖЖ: общий объем – 25 мкл.

5x Buffer	5 мкл
Dntp	1 мкл
PPRV 3-R	1 мкл
PPRV 3-F	1 мкл
Nuclease-free Water	14 мкл
Enzyme	1 мкл
RNA	2 мкл

avvb_2022_03.indd 19 20.09.2022 12:19:17

температурно-временные режимы:

пре-денатурация: 94 °С	– 3 мин.
денатурация: 94 °С	– 30 сек.
отжиг: 60 °С	– 30 сек.
элонгация: 72 °С	– 30 сек.
пост-репликация: 72 °С	– 5 мин.
4 °С	– ∞

В результате исследований в пробах биологических материалов, отобранных от павших животных с помощью ПЦР не были выявлены РНК вируса ЧМЖЖ.

Далее пробы были исследованы на наличие возбудителя ИППК. Для этого использованы набор Invitrogen и два праймера rpoB (PG3) (359 п.о.) и rpoB (LC105) (319 п.о.).

Для обоих праймеров использованы одинаковые параметры температурно-временного режима.

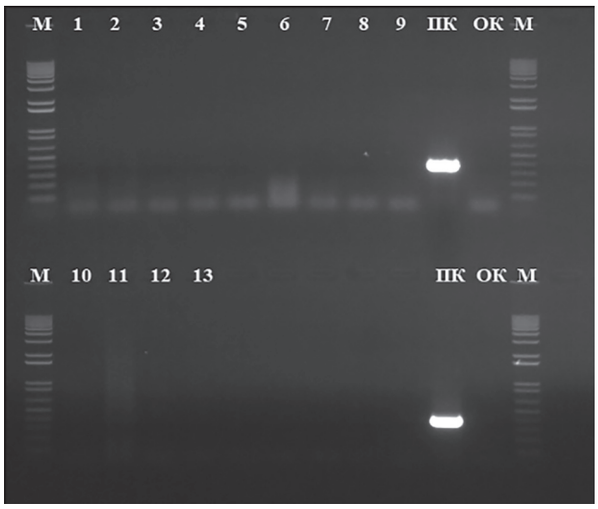


Рис. 4. Результаты ПЦР для выявления возбудителя вируса ЧМЖЖ в исследуемых пробах.

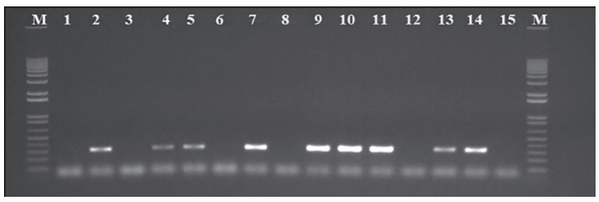


Рис. 5. Результаты ПЦР для выявления возбудителя ИППК в исследуемых пробах rpoB (PG3) (359 п.о.).

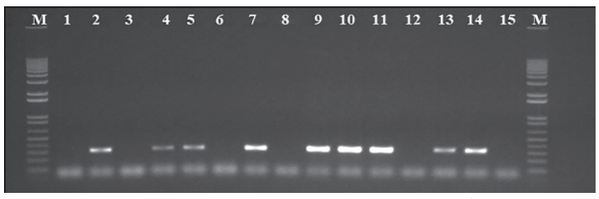


Рис. 6. Результаты ПЦР для выявления возбудителя ИППК в исследуемых пробах rpoB (LC105) (319 п.о.).

Температурно-временной режим:

пре-денатурация: 94 °С	– 2 мин.
денатурация: 94 °С	– 20 сек.
отжиг: 55 °С	– 20 сек.
элонгация: 72 °С	– 30 сек.
пост-репликация: 72 °С	– 5 мин.
4 °С	– ∞

праймер rpoB (PG3) (359 п.о.)

ПЦР смесь: общий объем –	25 мкл
10Xbuffer	17 мкл
dNTP	0,5 мкл
rpoB (PG3) -F	1 мкл
rpoB (PG3) -R	1 мкл
Nuclease-free Water	15 мкл
TaqDNA polymerase	0,5 мкл
DNA	2 мкл

В результате исследований с использованием праймера rpoB (PG3) (359 п.о.) в ПЦР из 13 проб на 8-ми пробах были получены положительные результаты на ИППК, № проб 2, 4, 5, 7, 9, 10, 11 и 13.

праймер rpoB (LC105) (319 п.о.)

ПЦР смесь: общий объем –	25 мкл
10Xbuffer	17 мкл
dNTP	0,5 мкл
rpoB (LC105) -F	1,5 мкл
rpoB (LC105) -R	1,5 мкл
Nuclease-free Water	14 мкл
TaqDNA polymerase	0,5 мкл
DNA	2 мкл

Результаты ПЦР rpoB (LC105) (319 п.о.) показывают, что в 9-ти пробах доказано наличие возбудителя ИППК, № проб 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11.

Биологические материалы также были исследованы ПЦР в реальном времени для выявления возбудителя *Pasteurella multocida.* Для постановки ПЦР-РВ использованы следующие параметры.

ПЦР смесь: общий объем – 20 мкл

10хбуфер ($MgCl_2$)	2 мкл
dNTP	0,5 мкл
Праймер PF	0,5 мкл
Праймер PR	0,5 мкл
Проба 23	0,5 мкл
TaqDNA polymerase	0,5 мкл
Вода бидистилированная	13,5 мкл
ДНК	2 мкл

avvb_2022_03.indd 20 20.09.2022 12:19:17

Температурно-временной режим:

95 °С – 2 мин.

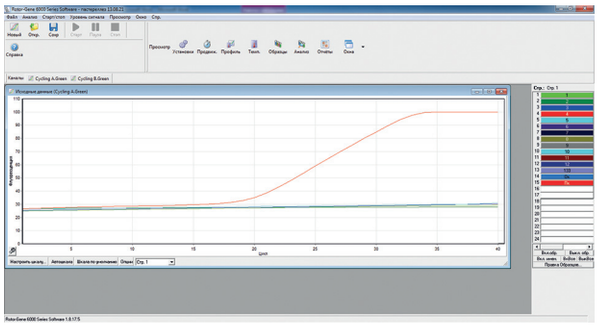
95 °С – 5 сек.

55 °С – 5 сек.

детекция на канале green

72 °С – 5 сек.

Результаты РТ-ПЦР показывают отсутствие наличие возбудителя Pasteurella multocida в исследованных 13-ти пробах. Составлена сводная таблица проведенных исследований биологических проб, отобранных от павших животных.



Возбудитель ИППК в основном был выявлен в паренхиматозных органах (легкие, сердце, межлегочные лимфатические узлы) и грудной жидкости, в единичных случаях в печени, почке.

Заключение

В последние годы на территории Республики Казахстан участились случаи ранее забытых болезней животных, таких как нодулярный дерматит крупного рогатого скота, ИППК и др. Данная эпизоотическая ситуация связана скорее всего с бесконтрольным передвижением домашних и диких животных внутри страны и в близлежащих территориях азиатских стран, таких как Республика Таджикистан, Республика Узбекистан и Кыргызская Республика. В связи с этим растущее число очагов эпизоотий опасных и особо опасных болезней животных требует пристального внимания со стороны ветеринарных служб республики в целом. Очередной очаг эпизоотий выявлен на территории Жамбылской области в мае 2022 года. Были выявлены заболевания и падеж среди коз от неизвестной болезни. В ходе клинического осмотра, патологоанатомического вскрытия и лабораторного

Таблица 1

Сводные данные лабораторного исследования на наличие в исследуемых пробах возбудителей ЧМЖЖ, ИППК и *Pasteurella multocida*

№ п/п	Наименования биологических материалов в виде 20 % суспензий	ЧМЖЖ (PPVR 3-RF)	Пастереллез (P4R)	ИППК rpoB (PG3)	ИППК rpoB (LC105)
1	Предлопаточные лимфатические узлы	-	-	-	-
2	Межлегочные лимфатические узлы	-	-	+	+
3	Почки	-	-	-	+
4	Селезенка	-	-	+	+
5	Сердце	-	-	+	+
6	Печень	-	-	-	+
7	Легкие №1	-	-	+	+
8	Грудная жидкость №2	-	-	-	-
9	Экстракт легких (белые)	-	-	+	+
10	Грудная жидкость №1	-	-	+	+
11	Легкие №2	-	-	+	+
12	Кровь (сердца №1)	-	-	-	-
13	Кровь (сердца №2)	-	-	+	-
14	Негатив	-	-	-	-
15	Позитив	+	+	+	+

avvb_2022_03.indd 21 20.09.2022 12:19:17

исследования установлено, что причиной заболевания и падежа среди коз является возбудитель инфекционной плевропневмонии коз. Это еще раз доказывает, что ранее забытые инфекции появляются снова и снова, последняя регистрация данной болезни среди коз на территории Республики Казахстан зафиксирована в 1885 году.

Список литературы

1. Амирбеков М. Эпизоотическая ситуация по инфекционной плевропневмонии коз в Таджикистане / М. Амирбеков, М. Аноятбеков, Д. Вахобов, О. Зиёев // Международная научно-практическая конференция, посвященная 80-летию заслуженного ученого, профессора В. Л. Зайцева «Актуальные проблемы биологии, биотехнологии, экологии и биобезопасности». Казахстан, п. Гвардейский, 2015. С. 35–41.

2. Амирбеков М. Распространение контагиозной плевропневмонии коз в Таджикистане / М. Амирбеков, М. Аноятбеков, Д. Вахобов // Научно-практический журнал «Ветеринария», Душанбе. 2010. № 10–12 (29). С. 22–24.

3. Бакулов И. А. Эпизоотология с микробиологией. / И. А. Бакулов. М.: Агропромиздат, 1987. 415 с.

4. Бессарабов Б. Ф. Инфекционные болезни животных. / Б. Ф. Бессарабов, Е. С. Воронин и др. [Под ред. А. А. Сидорчука]. М.: Колос, 2007. 671 с.

5. Вахобов Д. С. Серологический скрининг инфекционной плевропневмонии коз в Таджикистане. / Д. С. Вахобов, С. А. Мурватуллоев, Н. А. Ахмадов // Сборник статей Международного научно-практического семинара, посвященного 90-летию академика Р. Г. Мустакимова «Обеспечение национальной системы биологической безопасности, практик, концепция, программы», Душанбе: ТАСХН, 2014. С. 48–50.

6. Гавриш В. Г. Справочник ветеринарного врача / В. Г. Гавриш. 4 изд. Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. 576 с.

7. Дербеденев И. С. Инфекционная плевропневмонии коз в Казахстане. / И. С. Дербеденев // Сов. ветеринария. 1939. № 2. С. 6–7.

8. Кузнецов А. Ф. Справочник ветеринарного врача. / А. Ф. Кузнецов. М.: Лань, 2002. 896 с.

9. Лотоцкий Б. В. Значение пола, возраста и породности коз в заболевании ими инфекционной плевропневмонией. / Б. В. Лотоцкий // Труды института зоологии и паразитологии, 1946. выпуск 22. С. 29–33.

10. Лукашенко Ф. Д. Вакцины при инфекционной плевропневмонии коз: Автореферат дисс. … канд. вет. наук / Ф. Д. Лукашенко. Ташкент: Узб. науч.-исслед. ветеринар. ин-т М-ва сельского хозяйства Узб. ССР, 1953. 16 с.

11. Муминов А. Усулхои ташхиси касалии плевропневмонияи сироятии бузхо дар институти илмию тадкикоти ва назоратии ветеринарии ш. Истам-були Туркия / А. Муминов, Д. Вахобов // Журнал «Ветеринария», Душанбе. 2011. № 4–6 (31). С. 25–28.

12. Мурватуллоев С. А. Инфекционная плевропневмония коз в экосистеме Памира. / С. А. Мурватуллоев, М. А. Аноятбеков, М. А. Амирбеков и др. // Доклады ТАСХН, 2013. №1. С. 45–49.

13. Мурватуллоев С. А. Распространение инфекционной плевропневмонии коз в Таджикистане. / С. А. Мурватуллоев, М. Амирбеков, М. Аноятбеков, Д. Вахобов // Научно-практический журнал «Ветеринария», Душанбе, 2010. № 10–12 (29). С. 22–24.

14. Мурватуллоев С. А. Плевропневмонияи сироятиибузхо дар Точикистон. / С. А. Мурватуллоев, М. Амирбеков, М. Аноятбеков и др. // Научно-практический журнал «Ветеринария», Душанбе, 2010. № 7–9. С. 18–22.

15. Пискунов А. В. Проблема контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота. / А. В. Пискунов, А. В. Кононов, А. В. Мищенко // Ветеринария сегодня. 2016;(3):27-36.

16. Покровский С. А. Заражаемость животных инфекционной плевропневмонии (ИПП) коз / С. А. Покровский // Труды Инст. Зоол. Паразит., 1946. Т. 22. С. 18–29.

17. Сипоновский П. В. Патологоанатомическая картина инфекционной плевропневмонии (ИПП) коз. / П. В. Сипоновский, Б. В. Лотоцкий // Сборн. работ Института зоологии и паразитологии ТФАН СССР и Таджик. НИВИС, Труды ТФАН, 2001. Т. 22.

18. Фалеева Е. Е. Опыт применения реакции связывания комплемента при инфекционной плевропневмонии коз. / Е. Е. Фалеева // Труды инст. Зоол. и паразит, 1946. выпуск 22. С. 24–26.

19. Amirbekov M. Contagious caprine pleuropneumonia detected for the first time in Tajikistan. EMPRES transboundary / M. Amirbekov, S. Murvatulloev, G. Ferrari. // Animal Diseases Bulletin, 2010, No. 35. P. 20–22.

20. Awan M. A. Isolation and identification of Mycoplasmas from pneumonic lungs of goats. / M. A. Awan // J. App. Em, 2004. P. 45–50.

21. Bonnet F. DNA relatedness between field isolates of Mycoplasma F38 group, the agent of contagious caprine pleuropneumonia, and strains of Mycoplasma capricolum. / F. Bonnet // Int. Journal of Systematic Bacteriology, 1993. No. 43. P. 597–602.

22. Bradbury J. M. Phosphate activity. / J. M. Bradbury // Methods in Mycoplasmology, Vol. 1, Razin S. & Tully J.G., eds. Academic Press, New York, USA. 1983. P. 363–366.

23. Brogdon K. A. Isolation and identification of mycoplasmas from the nasal cavity of sheep. / K. A. Brogdon // American Journal of Veterinary Research, 1988. No. 49. P. 1669–1675.

24. Leach R. H. Proposal for designation of F38-type caprine mycoplasmas as Mycoplasma capricolum subsp. capripneumoniae subsp. nov. and consequent obligatory relegation of strains currently classified as *M. capricolum* (Tully, Garile, Edward, Theodore & Erno, 1974) to an additional new subspecies, *M. capricolum subsp. capricolum subsp. nov.* / R. H. Leach // Int. J. Syst. Bacteriol, 1993. No. 43m P. 603–605.

avvb_2022_03.indd 22 20.09.2022 12:19:17

25. Loria G. R. In vitro susceptibilities of field isolates of Mycoplasma agalactiae to oxytetracycline, tylosine, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. / G. R. Loria // Research in Veterinary sciences, 2003. No. 75. P. 3–7.

26. Olsson B. Analysis of caprine mycoplasmas and mycoplasma infections in goats using two-dimensional electrophoresis and immunoblotting / B. Olsson // Electrophoresis. 1990, No. 11. P. 861–869.

Благодарности. Работа выполнена в рамках НТП «Биологическая безопасность Республики Казахстан: оценка угроз, научно-технические основы их предупреждения и ликвидации» на 2021–2023 годы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-23-31
УДК: 616-022.1 : 619
Ключевые слова: бешенство животных, гидрофобия человека, Zero by 30
Key words: animal rabies, human hydrophobia, Zero by 30.

[1]Макаров В. В., [2]Барсуков О. Ю., [3]Барсуков Ю. И.

БЕШЕНСТВО: «ZERO DEATHS BY 30[1]»

(Информационно-аналитический обзор)

RABIES: "ZERO DEATHS BY 30"

[1]ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»,
Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
FSAOI VO "Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University)",
Address: 6 Miklukho-Maklaya str., 117198, Moscow, Russian Federation
[2]Областная ветеринарно-санитарная станция
Адрес: 140009, Московская область, г. Люберцы, ул. Инициативная, д. 46
Regional Veterinary and Sanitary Station,
Address: 46 Initiativnaya str., 140009, Moscow region, Lyubertsy
[3]ФГБУ «Центр ветеринарии»
Адрес: 129344, г. Москва, ул. Летчика Бабушкина, д. 20
FSBI "Center of Veterinary»
Address: 20, Lyothcika Babushkina str., 129344, Moscow

Макаров Владимир Владимирович, доктор биологических наук, профессор,
e-mail: vvm-39@mail.ru
Makarov Vladimir Vladimirovich, Doctor of Biological Sciences, Professor,
e-mail: vvm-39@mail.ru
Барсуков О. Ю., ветеринарный врач, начальник противоэпизоотического отдела Областной ветеринарно-санитарной станции
Barsukov O. Yu., Veterinarian, Head of the Anti-Epizootic Department
Барсуков Ю. И., кандидат ветеринарных наук, директор
Barsukov Yu. I., PhD of Veterinary Science, Director

Аннотация. Настоящее информационно-аналитическое сообщение посвящается беспрецедентному гуманитарному проекту сотрудничества United Against Rabies, направленному на ликвидацию во всем мире смертности людей от гидрофобии, опосредованной бешенством собак. В этом контексте обсуждаются общие проблемы искоренения инфекционной заболеваемости и эколого-эпидемиологические особенности современной рабической инфекции.

Summary. *This informational and analytical report is dedicated to the unprecedented humanitarian cooperation project of United Against Rabies directed at eliminating worldwide deaths from hydrophobia mediated by dog rabies. In this context the global problems of eradicating infectious morbidity and the ecological epidemiological features of modern rabies infection are discussed.*

[1] «Нет смертности к 30 году» – девиз глобального стратегического плана искоренения к 2030 году смертности людей от гидрофобии, опосредованной собачьим бешенством.

avvb_2022_03.indd 23 20.09.2022 12:19:17

В естественной истории бешенства наступил очередной этап развития. В 2015 году четыре авторитетнейших международных учреждения – МЭБ, ФАО, ВОЗ и GARA[1] объединились в сотрудничество United Against Rabies (UAR) с целью достичь искоренения во всем мире к 2030 году смертности людей от гидрофобии, опосредованной собачьим бешенством. Глобальный стратегический план, получивший наименование “Zero by 30”, разработан UAR в рамках концепции «Единое здоровье» и опубликован в 2018 году (рисунок 1) [16, 17, 20].

Это беспрецедентное в настоящее время мероприятие относится к разряду выдающихся гуманитарных решений, позволивших ранее именно объединенными усилиями стереть с лица Земли оспу человека и чуму крупного рогатого скота, ликвидировать отдельные эмерджентные эпизоотии и эпидемии, искоренить ящур и лисье бешенство на громадных пространствах в континентальных масштабах. Возникает вопрос – почему именно бешенство и именно сейчас становится объектом такого внимания международного сообщества?

Как известно, рабическая инфекция животных и человека фатальна. Хотя вирус бешенства (RABV, род *Lissaviruses*, все представители которого являются нейротропными) не обладает цитодеструктивными свойствами, происходящие в процессе инфекции необратимые функциональные поражения ЦНС обусловливают самый высокий уровень летальности, в связи с чем бешенство – одно из наиболее злокачественных среди прочих инфекционных заболеваний. Ежегодно в мире его фатальными жертвами становятся более 1 млн животных и десятки тысяч людей, миллионы людей подвержены контактам с источниками инфекции. Каждые 7–9 минут погибает один человек, а каждые сутки около 200, при этом четыре из десяти – дети. Сформировался своеобразный феномен «эпидемии собачьих укусов». Во всем мире после травмирующих контактов с потенциально зараженными бешенством животными ежегодно от 9 до 12 млн человек подвергаются постэкспозиционным профилактическим антирабическим обработкам (в том числе в РФ 250–450 тысяч) с затратами свыше 2 млрд $. Общий ежегодный ущерб от собачьего бешенства составляет около 9 млрд $, а социальное бремя оценивается в 3,7 млн «лет потерянной здоровой жизни»[2] [15, 16, 17, 18].

Бешенство до сих пор остается широко распространенной глобальной угрозой, регистрируется в двух третях стран мира, половина населения Земли проживает в эндемичных районах. Африка и Южная Азия – территории с самым высоким риском смертности человека, на которые приходится 95 % данных мировой статистики. 85 % смертности регистрируется в сельской местности с низким уровнем ветеринарного и медико-санитарного просвещения и обслуживания. Здесь классическое собачье бешенство контролируется в наименьшей степени, и до 99 % гидрофобии человека обусловлены именно контактами с бешеными собаками, которые, как и в иных условиях, в данном процессе особенно активно выполняют роль «эпидемического моста» в пределах рабической паразитарной системы [15, 16, 17, 18].

К бешенству чувствительны млекопитающие всех видов [6], что обусловлено общностью ворот инфекции – двигательных концевых пластинок нейромышечного соединения в любом месте на поверхности тела животного и никотинового ацетилхолинового рецептора передачи нервных импульсов в постсинаптической части периферических нейронов. Это один из важнейших рецепторов в организме, наиболее консервативный, сохранившийся в поздних геологических периодах у млекопитающих всего видового диапазона, что обеспечивает

[1] Международное Эпизоотическое Бюро, Продовольственная и Сельскохозяйственная Организация ООН, Всемирная Организация Здравоохранения и Мировой Альянс по Борьбе с Бешенством.

[2] Это один из индексов измерения влияния заболеваемости на восприимчивую популяцию, выражаемый общим количеством потерянных лет потенциальной здоровой или продуктивной жизни (Years of Potential Life Lost, YPLL), которые были бы прожиты, если бы животное или человек не умерли преждевременно из-за болезни. Широко применяется в эпидемиологии для сравнительной характеристики неблагополучия обстановки.

avvb_2022_03.indd 24 20.09.2022 12:19:17

их универсальную чувствительность к рабической инфекции.

Однако далеко не все млекопитающие a priori способны к паразито-хозяинным отношениям и формированию устойчивой саморегулируемой рабической паразитарной системы. Лиссавирусы являются нейротропными агентами, заражение при естественном бешенстве в рамках паразитарных систем разных типов, согласно закону соответствия путей цепной передачи инфекции локализации инфекционного процесса в организме, осуществляется трансдермальной инъекцией для интраневрального достижения вируссодержащего материала (слюны бешеного животного путем укуса типа «из нерва в нерв»). В эпизоотическом смысле способ сравнительно малоэффективен, что определяется целым рядом специфических факторов, таких как непродолжительность патологической и клинической агрессии бешеного животного – источника инфекции, его анатомическими возможностями для осуществления трансдермального заражения, экскрецией и концентрацией вируса только в слюне, «эффективным» укусом как физическим действием, и т. п. По данным эпизоотологических наблюдений, в ситуации по бешенству в центре РФ шансы заражения при контакте с инфицированным животным составляли 1:4 [3]. Поэтому гостальная роль в паразитарной системе по определению может быть выполнена только классическими хищниками (далеко не всеми представителями отряда *Carnivora*, а только облигатными мезохищниками). Прямой вектор проникновения, генерализации инфекции в анатомически закрытой нервной системе организма забарьерного типа с иммунной привилегией и выход вируса для передачи по эпизоотической цепи служит основной стратегией сохранения и циркуляции лиссавирусов. При таком патогенезе в принципе неосуществима этиотропная серотерапия в клинических случаях и только профилактика, т. е. всестороннее предупреждение инфекции, становится единственно возможным выходом.

В контексте глобальной эпидемиологической угрозы бешенство занимает особое положение. В современной истории, за счет

Рис. 1. «Zero by 30» [20].

Рис. 2. «Zero by 30»: основополагающие предпосылки [20].

avvb_2022_03.indd 25 20.09.2022 12:19:17

всеобщего прогресса общественного, экономического и иного развития, в мире уже не происходит естественного распространения повальных эпизоотических и эпидемических инфекций от возникновения до самоограничения, за исключением эмерджентных явлений текущей «эры пандемий», в основе которых лежат субъективные, противоестественные результаты человеческого вмешательства в природный порядок вещей и иные антропогенные факторы (АЧС, КОВИД-19). Все прецеденты, от случаев/вспышек до эпизоотий/эпидемий, ограничиваются во времени, рано или поздно берутся под контроль и ликвидируются (известные эпизоотии ящура, блютанга, гиперспорадии сибирской язвы) [1]. Уникальность рабической инфекции в обеих формах – бешенства животных и гидрофобии человека – в стационарной гиперэндемичности этой смертельной фатальности на планетарном уровне, не поддающейся тривиальным стратегии и тактике управления заболеваемостью. Причины в данном случае разнообразны от полиморфизма паразитарной системы до отнесения бешенства к категории пренебрегаемых болезней[1] [3, 8].

Очевидно, что ликвидация одной из двух составляющих этого зооантропоноза – гидрофобии человека – означает прежде всего тотальный контроль бешенства собак как критического резервуара и источника. Почти полуторавековой опыт борьбы с бешенством, начало которому было положено гением Луи Пастера, в настоящее время воплощен в научную разработку и внедрение в противоэпизоотическую практику совершенных средств и методов диагностики, активной и пассивной

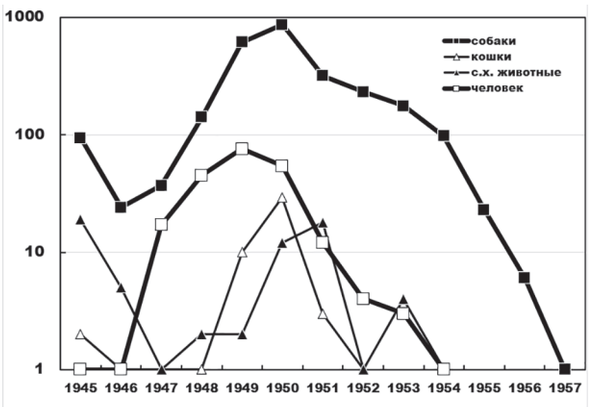


Рис. 3. Графическая корреляция искоренения индигенного бешенства собак и гидрофобии человека в Японии: экспоненциальный рост инцидентности, пиковая фаза, принятие законов о профилактике бешенства (1950) и усилении контроля заболеваемости домашних животных (1951), снижение заболеваемости до полного благополучия. По вертикальной оси инцидентность в логарифмическом выражении [13, 14].

Рис. 4. “«Zero by 30”»: концептуальный стратегический план [19]. * ПЭП – постэкспозиционная профилактика.

[1] Пренебрегаемые болезни (neglected diseases) – категория ВОЗ, включающая несколько десятков инфекций и инвазий, которые обусловливают серьезную заболеваемость более чем миллиарда человек во всем мире, поражая самое бедное население преимущественно Африки и Южной Азии. Данное название категории противопоставляется нозологическому профилю экономически развитой части мира [8].

avvb_2022_03.indd 26 20.09.2022 12:19:18

специфической профилактики, организации и осуществления противоэпизоотических мероприятий, ветеринарно-эпидемиологического и экологического мониторинга и анализа функционирования неоднородной рабической паразитарной системы. Выдающееся достижение ветеринарной эпидемиологии – оральная вакцинация лисиц и тотальное искоренение эмерджентного природно-очагового бешенства в Западной Европе на рубеже XX–XXI вв. является впечатляющим свидетельством готовности науки и практики к дальнейшему решению критических проблем здравоохранения животных и человека (рисунок 2) [3, 20].

Европейская и отечественная ветеринария имеет исторический опыт успешной борьбы с бешенством собак. В 1930-х гг. собачье бешенство в городах Западной Европы было одномоментно искоренено изданием жесткого закона об ответственности за содержание домашних животных с полной ликвидацией бездомных собак. В СССР напряженная ситуация была после Великой Отечественной войны, когда возникло более 2 тысяч случаев бешенства, а от мощной эпизоотии Москву и область спас массовый отстрел главных источников инфекции – бродячих собак. Эти меры оказались настолько эффективны, что на протяжении тридцати лет о бешенстве почти не вспоминали, инфекция вернулась лишь в 1970-х гг. Заслуживает внимания показательный опыт достижения благополучия с ликвидацией бешенства собак в послевоенной Японии, когда полностью разрушенная страна при развитии угрожающей эпидемической обстановки нашла возможность раз и навсегда искоренить инфекцию (рисунок 3) [3, 13, 14]. Общественное осознание таких успехов обусловило заметный переход от истребительной тактики к массовой вакцинации собак в качестве проверенной стратегии управления.

В 2011–2014 гг. отечественная ветеринария получила возможность убедиться в эффективности современной практики контроля природно-очагового экотипа инфекции на примере искоренения бешенства в Калининградской области совместными мероприятиями в рамках международной программы, осуществляемой на восточных границах ЕС [5].

В принципе искоренение какой-либо заболеваемости в любой форме ее проявления, исходя из теории саморегуляции паразитарных систем В. Д. Белякова (1983), это серьезное вмешательство в природу. Каждая инфекционная болезнь – элемент экосистем, сформированных в геологических периодах неопределенной давности, сохраняющихся и успешно функционирующих в естественном порядке вещей с вполне определенными целями. Исключение какого-либо компонента из такого эволюционно отлаженного механизма не остается без последствий и чрезвычайно сложно по определению.

Постановка подобных вопросов в эпизоотологии основывается на определенных требованиях общего порядка. Для этого существуют вполне логичные критерии эрадикации – эпизоотологические, экологические, биологические, микробиологические, социальные и т. п. характеристики инфекций и возбудителей, которые определяют возможности их радикального искоренения в определенных территориальных и временных масштабах. К эпизоотологической составляющей относятся видовая восприимчивость животных-хозяев, топо- и типологическая структура инфекционной паразитарной системы (нозоареал, экотип, моно- или полигостальность), особенности эпизоотического процесса (резервуары, амплификаторы, источники, в том числе в дикой природе, пути и темпы передачи и распространения), степень контагиозности, вероятность и значение скрытого течения, возможности и качество приобретенного иммунитета, иммунологический консерватизм или плюралитет возбудителя, его генетическая изменчивость или консервативность, внеорганизменная устойчивость и сохраняемость. Социоэкономические критерии предполагают прежде всего уровень социальной, экономической, гуманитарной и т.п. значимости инфекции, масштабы и характер нозоареала, наличие методов и средств контроля, активной специфической профилактики (вакцин), реальную стоимость и оценку программ эрадикации методом «анализа ущерб/прибыль» [4].

avvb_2022_03.indd 27 20.09.2022 12:19:18

Особую значимость представляет вероятность экологических перемещений инфекции между природными и антропургическими условиями (диким и домашним миром) – процессов, получивших в эпидемиологии названия спилловер и спиллбек[1]. Для бешенства это наиболее важно, учитывая абсолютную чувствительность всех млекопитающих. Демонстративным примером феномена является спилловер КОВИДа-19 в направлении «рукокрылые → неустановленный пока амплификатор → человек» с развитием текущей пандемии и проявляющийся сейчас достаточно массово спиллбек инфекции «человек → плотоядные различных видов, дикие копытные» с установленными возможностью горизонтальной передачи и генетической изменчивостью вируса как признаками адаптации к новым паразитарным системам [9, 10]. Образно говоря, «встречая отпор, возбудитель SARS-CoV-2 ищет пути к отступлению».

Ни в коей мере не умаляя выдающейся роли исполнителей ликвидации на Земле чумы КРС в лице Уолтера Плоурайта [4], несомненно, что успех был достигнут, поскольку инфекция отвечала необходимым требованиям. Хотя к экспериментальному и естественному заражению чувствительны домашние и дикие жвачные и свиньи многих видов, только КРС являлся уникальным хозяином в паразитарной системе и обеспечивал ее неопределенно продолжительное существование. Многочисленное население КРС и высокая популяционная плотность обусловливали эффективную контагиозность, непрерывность эпизоотического процесса и многовековую циркуляцию вируса в специфических регионах юга Азии и Африки, несмотря на его лабильность вне организма, сравнительно малоэффективный в природе воздушно-капельный механизм передачи, острое течение, неизбежную летальность. Именно отсутствие викариирующих резервуарных видов в дикой природе, генетически консервативные антигенность, вирулентность, неспособность перехода к продолжительному и скрытому течению инфекции позволили искоренить чуму КРС путем создания тотальной невосприимчивости хозяина применением высокоиммуногенной живой вакцины. Принципиально те же обстоятельства были основой искоренения оспы человека [4].

Бешенство в этом смысле не соответствует в достаточной мере критериям эрадикации и не может являться кандидатом на глобальное искоренение. Рабическая инфекция отвечает лишь некоторым требованиям – RABV консервативен в антигенном отношении, существуют надежные вакцины, определенный опыт, эпизоотологическое понимание использования средств и методов диагностики и профилактики (см. рисунок 2). Однако непреодолимым препятствием глобального контроля и искоренения является ее экологический полиморфизм.

Биоэкологические элементы существования лиссавирусов, где в пределах рода наиболее значимый во всех отношениях и изученный RABV занимает место прототипного представителя, организованы в каноническую паразитарную систему «вирус + хозяин» замкнутого, двучленного простого типа с соответствующими типо- и топологическими характеристиками. В целом лиссавирусная паразитарная система представлена комбинациями природно-очагового, городского экотипов или их сочетаний («+/-», «-/+», «+/+»). Существующие варианты системы – это стереотипные структуры паразитохозяинных взаимоотношений, в частности:

RABV + рыжие лисицы (*Vulpes vulpes*, red fox) – природно-очаговое бешенство диких и домашних животных, случаи гидрофобии человека в Европе (сейчас, главным образом, в восточной части континента), спорадическая инцидентность бешенства песцов («арктических лисиц»);

RABV + дикие плотоядные (серые лисицы *Urocyon cinereoargenteus*, еноты, скунсы) – природно-очаговое бешенство диких

[1] Спилловер (spillover) – выход природно-очаговой инфекции из биотопов на популяции домашних животных или человека, буквально «переливание через край». Спиллбек (spillback) – возврат инфекции из домашних условий в природные очаги, буквально «слив обратно». В экоэпидемиологии два взаимно противоположных вектора распространения инфекций «туда и обратно».

avvb_2022_03.indd 28 20.09.2022 12:19:18

и домашних животных в Северной Америке;

RABV + домашние плотоядные (главным образом, безнадзорные собаки-парии) – классическое бешенство домашних животных и десятки тысяч случаев гидрофобии людей ежегодно в Южной Азии (главным образом, в регионе Индокитая, Турции), многочисленные инциденты в Африке;

RABV + рукокрылые (в основном вампиры-гематофаги и насекомоядные) – природно-очаговое паралитическое бешенство животных в Северной и Южной Америке;

RABV, африканские лиссавирусы Лагос и Дювенхейдж, EBLV-1 и 2, ABLV[1] и др. + рукокрылые (насекомо- и фруктоядные) – единичные случаи летального заболевания человека и животных в Америке, Африке, Европе, Австралии, соответственно.

Сложившиеся стереотипы паразитарной системы лиссавирусов характеризуются выраженной оригинальностью и топологической самостоятельностью. В свою очередь они группируются в два паразитосистемных архетипа – (i) наземную природно-очаговую и классическую инфекцию с RABV и (ii) воздушно-наземную природно-очаговую инфекцию с лиссавирусами рукокрылых, включая RABV. Принципиально важно, что рукокрылые – летучие мыши-кожаны и летучие лисицы-крыланы – являются первичным или единственным паразитосистемным хозяином и природно-очаговым резервуаром всех лиссавирусов [2].

Не просто чувствительность к RABV всех млекопитающих, а его чрезвычайную паразитосистемную вариабельность и полигостальность характеризует выдающийся естественно-исторический пример ускользания от тотального контроля путем полной ликвидации бездомных собак, осуществленной на территории предвоенной Западной Европы. Спиллбек городского, собачьего, классического остро протекающего бешенства («уличный» вирус Пастера) – в его радикальном экологическом перемещении в природные условия в 1930 гг. с резким снижением вирулентности, сменой резервуарного хозяина и формированием природно-очагового лисьего хронического экотипа, преобладающего сейчас в Восточной Европе и в целом на территории РФ[2] [3].

К этому следует добавить целый ряд важных фактов относительно экоэпидемиологии бешенства последних лет, в частности, значительное увеличение числа лиссавирусов за счет обнаруженных среди рукокрылых новых представителей рода и очевидность дальнейшего открытия новых видов и хозяев, установление нетривиальных резервуаров в дикой природе на территориях, ранее свободных от бешенства (Китай), возобновление интереса к оральной антирабической вакцинации свободно содержащихся собак, целесообразность доконтактной, предупредительной вакцинации населения отдаленных районов с высоким риском заражения от собак и летучих мышей (эндемичные зоны Азии и др.), распространение летучих мышей-вампиров и рост инцидентности опосредованного ими бешенства (Южная Америка). В их числе особое значение приобретает обоснованное предположение о возможном расширении адаптационных способностей RABV; об этом свидетельствуют установленные географически дискретные случаи заражения человека от насекомоядных летучих мышей (РФ, США, Китай и др.), шакала, скунса, енота, енотовидной собаки, волка, мангуста, хорькового барсука и даже примата [11].

Исходя из вышеизложенного относительно экологической характеристики рабической инфекции, ее глобальное искоренение по аналогии с чумой КРС нереально. Речь может идти только о локальном контроле на уровне городского или природно-очагового экотипов в пределах конкретных неблагополучных зон (административных субъектов). Упомянутые выше примеры эффектно осуществленных кампаний по искоренению собачьего бешенства в до- и послевоенных условиях и современной ОВЛ по искорене-

[1] European Bat Lyssavirus 1 и 2, Australian Bat Lyssavirus, соответственно.

[2] Этому уникальному экологическому явлению и его концептуальному объяснению посвящена специальная авторская монография «Бешенство: естественная история на рубеже столетий» [3].

avvb_2022_03.indd 29 20.09.2022 12:19:18

нию инфекции лисьего экотипа в Западной Европе с отработкой там надежных противоэпизоотических стандартов весьма поучительны.

Достойно лишь сожаления, что на этом фоне более двух десятков лет не наблюдается никаких сколь-нибудь заметных перспектив улучшения обстановки в РФ с градуально смещенным из Европы на восток бешенством с лисицей как единственным резервуарным хозяином, где инфекция становится поистине пренебрегаемой, несмотря на полторы тысячи публикаций, диссертаций, патентов и т. п. в eLIBRARY[1] [7]. Особое беспокойство вызывает укоренившийся паттерн текущей обстановки с противоестественным для природно-очаговой инфекции преобладанием регистрируемой тупиковой заболеваемости среди домашних животных. Небезосновательно предположить, что в отсутствии бешенства городского экотипа в Западной Европе и европейской части РФ инцидентность в домашних условиях служит индикатором активности природно-очаговых циклов. В европейском нозоареале до массового применения ОВЛ уровень строго регистрируемой инцидентности превышал 5–8 тысяч, достигая чрезвычайных значений (до 24 тысяч и более в 1980 гг.), со стабильно сохраняющимся средневзвешенным соотношением среди диких и домашних животных 4 к 1; исходя из эпизоотологической логики и статистики, это может считаться стандартным для бешенства лисьего экотипа. В РФ в последнее время аналогичное соотношение от 0,25 до 0,66 к 1 свидетельствует об очевидно заниженном уровне реальной активности природного цикла по меньшей мере в 6–16 раз, т. е. зарегистрированную ежегодно инцидентность нужно рассматривать с учетом это коэффициента (например, декларированное число случаев бешенства диких животных в отдельных областях европейской части страны в 2018–2021 гг. от 10 до 25 может составлять от 60 до 400 реально инфицированных) [3, 7].

Вопрос о гидрофобии человека, опосредованной бешеными собаками, обсуждается с начала века с формулированием концепции «Единое здоровье» и исходя из ее принципов [15, 16, 17, 18]. Если успешная кампания по ОВЛ в Западной Европе была обоснована прежде всего экономическими причинами, то побудительным мотивом для проекта UAR “Zero by 30” явились уже обстоятельства гуманитарного порядка. В окончательном виде концептуальный стратегический план предполагает общепринятые в таких случаях цели и мероприятия – тотальную вакцинацию собак, тем самым ликвидацию инфекции городского экотипа («эпидемического моста») и смертности человека, контроль бешенства рукокрылых и дальнейшее поддержание благополучия, практически осуществляемые в три последовательные фазы национальными силами и средствами стран, вовлеченных в его реализацию (рисунок 4) [19].

Масштабы стратегического плана характеризуют следующие показатели [11, 12, 15, 17, 18, 19]:

популяция собак в мире насчитывает более полумиллиарда особей (170 млн в индустриальных странах Северного полушария и 410 млн в эндемичных странах Африки, Южной Азии, Евразии и Ближнего Востока);

для предотвращения цепной передачи бешенства собачьего экотипа с острым течением необходимо обеспечить невосприимчивость 70 % популяции (с учетом клинических особенностей острого течения инфекции при соотношении «одна больная собака-источник на две-три иммунных» вероятность передачи сводится к нулю), в то время как в эндемичных странах охват вакцинацией составляет 20 %;

в фазе старта необходимо около 260 млн доз вакцины в год и далее для последовательной вакцинации свыше 400 млн ежегодно, при том, что максимальная производственная мощность крупных мировых производителей к началу кампании составляла 150 млн, т. е. требуется существенное увеличение объемов производства.

[1] Шестой закон Паркинсона: прогресс науки обратно пропорционален числу выходящих журналов.

avvb_2022_03.indd 30 20.09.2022 12:19:18

Прогнозируется, что в идеале смертность людей, опосредованная бешенством собак, в ходе осуществления программы с ее начала будет ликвидирована в Латинской Америке в течение пяти лет, в Азии – десятилетия, в Африке к 2030 году. Оценочным критерием успеха для отдельных стран послужит благополучие в течение двух лет, признанное ВОЗ. Первой в мире, добившейся этой цели в рамках плана “Zero by 30”, стала в 2019 г. Мексика. Искоренив бешенство человека, передающееся собаками, Мексика показала миру, что ликвидация инфекционных болезней для благополучия следующих поколений достижима и является правильным путем. Сравнительно скромные инвестиции, направленные на ветеринарное здравоохранение в программы вакцинации собак, приведут к значительному гуманитарному эффекту в отношении бремени бешенства в человеческом обществе [16, 17, 18, 19, 20].

Список литературы

1. Макаров В. В. Очерки истории борьбы с инфекционными болезнями. Ч 2. Новейшая история. / В. В. Макаров, В. А. Грубый. Владимир: ФГБУ ВНИИЗЖ, 2014. 256 с.

2. Макаров В. В. Новые особо опасные инфекции, ассоциированные с рукокрылыми. / В. В. Макаров, Д. А. Лозовой. Владимир: РУДН, ВНИИЗЖ; 2016. – 160 с.

3. Макаров В. В. Бешенство: естественная история на рубеже столетий. / В. В. Макаров, А. М. Гулюкин, М. И. Гулюкин. М.: ЗооВетКнига, 2015, 121 с.

4. Макаров В. В. Глобальное искоренение чумы крупного рогатого скота – выдающаяся победа мировой ветеринарии / В. В. Макаров, О. И. Сухарев, А. А. Коломыцев и др. // Ветеринария, 2011, № 9, С. 9–13.

5. Как в Янтарном крае победили бешенство. // https://rg.ru/2015/06/16/reg-szfo/beshenstvo.html

6. Сидоров Г. Н. Изменение роли млекопитающих в заражении людей бешенством в России за исторически обозримый период в 16-21 веках. / Г. Н. Сидоров, Е. М. Полещук, Д. Г. Сидорова // Зоологический журнал, 2019, том 98, № 4, С. 437–452.

7. Информация об эпизоотической ситуации в Российской Федерации по состоянию на 23 января 2022 г. // Сайт ФГБУ «Центр ветеринарии» https://центрветеринарии.рф/epizooticheskaya-obstanovka/2106-informatsiya-ob-epizooticheskoj-situatsii-v-rossijskoj-federatsii

8. Amoako Y. A. Rabies is still a fatal but neglected disease: a case report. / Y. A. Amoako, P. El-Duah, A. A. Sylverken et al.// J Med Case Reports 15, 575 (2021). https://doi.org/10.1186/s13256-021-03164-y

9. Islam, A. Transmission dynamics and susceptibility patterns of SARS-CoV-2 in domestic, farmed and wild animals: Sustainable One Health surveillance for conservation and public health to prevent future epidemics and pandemics. / A. Islam, J. Ferdous, S. Islam et al. // Transboundary and Emerging Diseases, 2021. P. 1–21. https://doi.org/10.1111/tbed.14356

10. Kuchipudi, S. V. Multiple spillovers from humans and onward transmission of SARS-CoV-2 in white-tailed deer. / S. V. Kuchipudi, M. Surendran-Nair, R. M. Ruden et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(6), [e2121644119]. https://doi.org/10.1073/pnas.2121644119

11. Rohde R. Update on lyssaviruses and rabies: will past progress play as prologue in the near term towards future elimination? / R. Rohde, C. Rupprecht // Faculty Reviews 2020 9:(9) https://doi.org/10.12703/b/9-9

12. Rupprecht C. Lyssaviruses and rabies: current conundrums, concerns, contradictions and controversies / C. Rupprecht, I. Kuzmin, F. Meslin // [version 1; referees: 2 approved] F1000Research 2017, 6(F1000 Faculty Rev) :184 (doi: 10.12688/f1000research.10416.1)

13. Takahashi-Omoe H. Regulatory Systems for Prevention and Control of Rabies, Japan. / H. Takahashi-Omoe, K. Omoe, N. Okabe // Emerg Infect Dis. 2008;14(9):1368–1374. https://doi.org/10.3201/eid1409.070845

14. Takayama N. Rabies: a preventable but incurable disease. / N. Takayama // J Infect Chemother (2008) 14:8–14 DOI 10.1007/s10156-007-0573-0

15. Taylor E. Rabies in the Middle East, Eastern Europe, Central Asia and North Africa: Building evidence and delivering a regional approach to rabies elimination. / E. Taylor, V. Vilas Del Rio, T. Scott et al. // J. Infection and Public Health. V. 14, Is. 6, June 2021, P. 787-–794.

16. WHO second Expert Report. WHO fact sheet 99. Rabies: rationale for investing in the global elimination of dog-mediated rabies.

17. World Health Organization: Expert consultation on rabies. Second report. WHO Technical Report Series; no. 982. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2013; 7.

18. World Health Organization: Global elimination of dog-mediated human rabies. Report of the Global Conference, 10–11 December 2015. World Health Organization and World Animal Health Organization, 2016. WHO_HTM_NTD_NZD_ 2016.02.

19. WHO Rabies Modelling Consortium Zero human deaths from dog-mediated rabies by 2030: perspectives from quantitative and mathematical modelling. Version 2. Gates Open Res. 2019; 3: 1564. Published online 2020 Mar 4. doi: 10.12688/gatesopenres.13074.2

20. ZERO BY 30 The Global Strategic Plan to end human deaths from dog-mediated rabies by 2030, Geneva, 2018.

avvb_2022_03.indd 31 20.09.2022 12:19:18

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-32-36
УДК 576.895.121
Ключевые слова: биологическая проба, жизнеспособность, онкосфера, механическое воздействие, ферменты, цестода
Key words: biological sample, viability, oncosphere, mechanical action, enzymes, cestode

Андреянов О. Н.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОНКОСФЕРЫ ЦЕСТОД В ИСКУССТВЕННОМ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОМ СОКЕ

DETERMINATION OF THE VIABILITY OF THE ONCOSPHERE OF CESTODES IN ARTIFICIAL DIGESTIVE JUICE

ВНИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук»
Адрес: 117218, Российская Федерация, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28
All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV"
Address: 117218, Russian Federation, Moscow, B. Cheremushkinskaya Str., 28

Андреянов Олег Николаевич, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: 1980oleg@mail.ru
Andreyanov Oleg Nikolaevich, Doctor of Veterinary Sciences, Leading Researcher, e-mail: 1980oleg@mail.ru

Аннотация. Цель настоящей работы заключалась в определении биологических свойств яиц цестод с использованием модификационного метода переваривания в искусственном пищеварительном соке. Определение жизнеспособности яиц цестод проводили на примере заячьего цепня *Taenia pisiformis*. Цестоды выделены из кишечника 4-х обыкновенных лисиц (*Vulpes vulpes*), полученных при отстреле в процессе спортивной охоты на территории Рязанской области в 2018 г. При гельминтологическом исследовании выделено 17 взрослых гельминта и 54 зрелых членика с наличием полноценных яиц. Для имитации процесса пищеварения кишечный сок с члениками цестод помещали на магнитную мешалку с подогревом. Искусственный кишечный сок готовили смешением 1,5 г панкреатина, 1,5 г соды пищевой, 21 мл желчи жвачных животных, 21 мл трипсина и 75 мл дистиллированной воды. Полученную смесь ставили на магнитную мешалку, включали подогрев до 44±1 °С, устанавливали режим вращения магнита до 50 об./мин и выдерживали 5…10 минут. Наработка гельминтного антигена проводилась на лабораторных кроликах (♂, весом 2 500 г). Доза заражения животных цепнем составила 5 000 яиц или онкосфер. Качество инвазионного материала цестоды *T. pisiformis* предложенным способом оказалось выше по сравнению с другими прототипами. Жизнеспособность и активизация яиц цепня составили 95 и 65 %.

Summary. *The purpose of this work was to determine the biological properties of the cestoda eggs using the modification method of digestion in artificial digestive juice. The viability of cestoda eggs was determined using the example of the Taenia pisiformis. Cestodes are isolated from the intestines of 4 ordinary foxes (Vulpes vulpes) obtained during shooting during sports hunting in the Ryazan region in 2018. The helminthological examination revealed 17 adult helminths and 54 mature segments with the presence of full-fledged eggs. To simulate the digestion process, intestinal juice with cestoda segments was placed on a heated magnetic stirrer. Artificial intestinal juice was prepared by mixing 1.5 g of pancreatin, 1.5 g of baking soda, 21 ml of ruminant bile, 21 ml of trypsin and 75 ml of distilled water. The resulting mixture was placed on a magnetic stirrer, heated to 44±1 °C, the magnet was set to 50 rpm. and withstood 5...10 minutes. Helminth antigen development was performed on laboratory rabbits (♂, weighting 2 500 g). The dose of infection of animals with the was 5 000 eggs or oncospheres cestodes. The quality of the invasion material of the T. pisiformis cestoda by the proposed method turned out to be higher compared to other prototypes. The viability and activation of the chain eggs were 95 and 65 %.*

Введение

Современные программы борьбы с зоонозными цестодозами (гидатидозами внутренних органов) животных и человека в значительной мере снизили уровень инвазии в России и в большинстве стран СНГ, но были менее эффективны в Казахстане и в среднеазиатских республиках [3; 8]. Тем не менее, в большинстве этих стран тениидные инвазии (эхинококкозы, цистицеркозы, ценурозы) гиперэндемичны у овец, крупного рогатого скота, коз и других диких жвачных животных.

В настоящее время на рынках появляются средства профилактики данной группы гельминтозов за счет иммунизации чувстви-

avvb_2022_03.indd 32 20.09.2022 12:19:18

тельного поголовья онкосферальными антигенами (вакцинами) [2; 7]. Защитные биопрепараты готовят на основе яиц (онкосфер) паразитарных ленточных червей. Поэтому для оценки полноценности биологического материала цестод требуются достоверные способы и методы определения качественного биологического материала. Ранее, жизнеспособность и инвазионность яиц тениид определяли по внешнему виду, окрашиванием витальными красками, культивированием в оптимальных условиях и постановкой биологической пробы, т. е. скармливанием лабораторным животным [7; 9]. Современные подходы диагностики, биотехнологии требуют методик с участием ферментных систем [6; 10].

Внешний вид и морфологические структуры (при микроскопии) яиц тениидного типа не дает достоверной информации по наличию жизнеспособных, мертвых и/или погибающих зародышей. Биопроба на лабораторных животных показывает результат определения биологических свойств возбудителя тений (жизнеспособность и инвазионность) через несколько месяцев, но не показывает процент полноценности яиц гельминта во введенной (зараженной) культуре. Из доступной литературы известно, что растворы красок (метиленовой сини, генцианвиолета, нейтральрота) быстро и хорошо окрашивают мертвые ткани цепней и не окрашивают жизнеспособные. Процент полноценного материала при этом способе сомнителен. Наиболее перспективным способом определения жизнеспособности онкосфер цепней считается метод воздействия искусственных пищеварительных соков хозяина на зародыш цепней [6].

Цель настоящей работы заключалась в определении биологических свойств яиц цестод с использованием модификационного метода переваривания в искусственном пищеварительном соке. Представленным способом можно получить полноценный онкосферальный антиген для диагностики распространенных тениид и вакцинальной профилактики поголовья сельскохозяйственных животных от паразитарных гидатидных болезней.

Материалы и методы

Определение биологических свойств яиц цестод проводили на примере заячьего цепня *Taenia pisiformis*. Цестоды выделены из тонкого кишечника 4-х обыкновенных лисиц (*Vulpes vulpes*), полученных при отстреле в процессе спортивной охоты на территории Рязанской области в 2018 г. При гельминтологическом исследовании выделено 17 взрослых гельминта и 54 зрелых членика с наличием полноценных яиц. Активацию яиц цестоды проводили по собственной методологии и известным способам Н. Е. Косминкова [7] и А. К. Журавца [6], взятых в качестве контроля (табл. 2). Профессор Н. Е. Косминков использовал в качестве активации 2 пищеварительных сока (желудочный и, затем, кишечный) с дополнительным введением в рецептуру кишечного сока липазы – фермента, переваривающего жиры. А. К. Журавец определял жизнеспособность онкосфер цестод за счет повышения температуры окружающей среды пищеварительных соков от 47 до 178 °С, контролируя температуру внутри активирующего раствора. Представленный нами метод одностадийный, в опыте используется только один кишечный (дуаденальный) сок. Для имитации процесса пищеварения ферментирующий сок с члениками цестод помещали на магнитную мешалку с подогревом.

<u>Приготовление искусственного пищеварительного сока</u>

Искусственный кишечный сок (ИКС) готовили по прописи (табл. 1): к 1,5 г панкреатина, 1,5 г соды пищевой, 21 мл свежеполученной (размороженной, концентрированной) желчи жвачных животных, 21 мл трипсина ЭДТА добавляли до 100 мл дистиллированной воды [6]. Полученную смесь ставили на магнитную мешалку, включали подогрев до 40±1 °С, устанавливали режим вращения магнита до 50 об./мин и выдерживали 25 минут. Далее, ИКС фильтровали через фильтровальную бумагу на протяжении 10 … 15 минут. ИКС после данной процедуры становится прозрачным с зеленоватым оттенком. В химический стакан объемом 500 мл с помощью пипетки помещали 5 … 6 мл отфильтрованного ИКС. На дно стакана

avvb_2022_03.indd 33 20.09.2022 12:19:18

Таблица 1

Компоненты пищеварительного сока

№ п/п	Состав ферментной среды	Объем	Производство
1	Панкреатин с протеолитической активностью 25000 ЕД, порошок	1,5 г	ABBA РУС, АО, Россия
2	Сода пищевая 500 г	1,5 г	Башкирская содовая компания, Россия
3	Трипсин-ЭДТА, раствор 0,25 % с солями Хенкса	21 мл	Производитель Merck и «Компания Хеликон», Германия
4	Желчь крупного рогатого скота, концентрированная, стерильная	21 мл	Компания «Фермент», Ярославль, Россия
5	Дистиллированная вода ГОСТ 6709-72	55 мл	«Крафт», Россия

анатомическим пинцетом клали магнит размером 2,5 см. Полиэтиленовой пипеткой вносили исследуемые членики с яйцами возбудителя цестодоза.

Подготовка магнитной мешалки к работе и проведение процесса переваривания

Химический стакан (объем 500 мл) с искусственным соком (объемом 150–200 мл), члениками с яйцами и магнитом устанавливали на поверхность прибора, выбирали параметры (44±1 °С и 50 об./мин.) и включали рабочий режим. В процессе работы магнитной мешалки членики цестоды группируются в одном месте химического стакана. Членики в процессе переваривания, через 5 … 10 минут, растворяются, а яйца цепня выпадают в осадок. После выдержанной экспозиции пробу онкосфер извлекали полиэтиленовой пипеткой из ИКС, помещали на предметное (часовое) стекло и микроскопировали при увеличении х40, х100. Под микроскопом изучали морфологические и биологические свойства онкосфер цепня и проводили анализ.

Проведение анализа

Не вышедшие из оболочек яиц зародыши (хранившиеся членики цестод на протяжении 6 мес. и более) или вышедшие, но при этом имеющие гигантские размеры, считались погибшими. Вышедшие личинки с характерной морфологией овального зародыша и наличием 3-х пар зародышевых крючьев, расположенных параллельно или под углом 45°, являлись жизнеспособными [1; 10; 11]. Активизированные онкосферы цепня проявляли амебовидные движения. Учет результата анализа проводят по формуле [1]:

$$A=\frac{Ж}{О}\times 100\% \qquad [1],$$

где: А – биологически активные яйца цестоды;

Ж – число жизнеспособных онкосфер;

О – общее количество инвазионного материала, взятого для анализа (яиц);

Из проведенного материала определяли среднюю величину показателя активности (жизнеспособности) цестод.

Постановка биологической пробы

Далее проведены исследования по наработке гельминтного личиночного антигена на лабораторных кроликах породы советская шиншилла (♂, весом 2 500 г). В каждой группе было использовано по 3 … 5 животных. Доза заражения животных цепнем составила 5 000 яиц или онкосфер. Суспензию инвазионного материала, объемом 1,5 мл, вводили животным перорально с помощью инсулинового шприца с оливой на конце. Перед введением биологического материала кроликов фиксировали в универсальном фиксаторе для мелких животных. Легкой премедикации у животных добивались незначительным введением Золетила 100 внутримышечно. В контроле №1 (табл. 3) выделение инвазионного материала проводили на предметном стекле препарированием членика с помощью скальпеля и энтомологической иглы, яйца в этом случае не активировали. Срок паразитирования животных личинками цестод составил 12 месяцев. После продолжительного опытного периода грызунов усыпляли

avvb_2022_03.indd 34 20.09.2022 12:19:18

Таблица 1

Физиологические показатели яиц *Taenia pisiformis*

Способ определения жизнеспособности онкосфер цестод	Всего в пробе яиц	Жизнеспособных, %	Активированных, %
Предложенный способ	60 000	95	65
по Косминкову		10	0
по Журавцу		90	50

и оценивали инвазионность биологического материала.

Этические аспекты

Данное экспериментальное исследование проводилось в соответствии с руководящими принципами охраны здоровья испытуемых животных, которые были одобрены комитетом по работе с лабораторными животными и охране окружающей среды (Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. No.123 ETS. Страсбург, 18/03/1986) [9].

Результаты исследований

По результатам проведенных исследований выявлено, что жизнеспособность и активация яиц предложенными способами Н. Е. Косминкова, А. К. Журавца составила 10 и 0 %, 90 и 50 %, соответственно. Способ одноэтапного инкубирования яиц цепня в пищеварительном соке показал жизнеспособность и активацию на 95 и 65 %.

Через один год после постановки опыта лабораторных грызунов подвергли эвтаназии. Чувствительность животных при активировании предложенным нами способом (опыт № 1) составила 100 %. Четверо животных (80 %) из пяти имели фертильные цисты от 15 до 54 штук. Внутри каждой гидатиды (пузыря) регистрировали жизнеспособную и подвижную личинку цепня. Одно животное оказалось со стерильными цистами (8 штук), без личинок. При активации онкосфер по Н. Е. Косминкову (опыт № 2) чувствительность животных составила 20 %. Из 5 животных инвазировалось только одно. Цисты цепня (в количестве 13 экз.) оказались фертильными. При исследовании способа А. К. Журавца (опыт № 3) чувствительность животных составила 60 % (заразилось 3 из 5 кроликов). Фертильные цисты регистрировались в количестве 18, 32 и 35 штук. В контроле № 1 заразилось одно животное (20 %). 28 цист оказались с наличием жизнеспособных зародышей. В контроле № 2 паразитарных цист цепня у кроликов не обнаружено.

Обсуждение

Зародыш (онкосфера), находящийся в яйце цестоды, на своей поверхности локализует участки рецепторов с железами проникновения двух типов [3; 5, 6, 10, 11]. Для выживания паразита (ленточного червя) и формирования личиночной его стадии в хозяине, при попадании пищеварительных соков на рецепторы онкосфер цестод, железы проникновения активно и продолжительно синтезируют собственные ферменты для лизиса яйцевых оболочек, слоев кишечной стенки и эндотелия кровеносных сосудов [3; 5; 6]. Успешная реализация инвазионного процесса определяется местом в кишечнике (в двенадцатиперстной кишке) хозяина, наличием активных биологических соединений (ферментов), химических реакций и температурным фактором. Основными органами хозяина, влияющими на литические процессы между паразитом и тканями макроорганизма, являются печень и поджелудочная железа. Эти же органы обеспечивают температуру выше физиологической нормы на 1 … 2 °С [4]. Поэтому для усовершенствования методики определения жизнеспособности и активации яиц гельминтов, в частности яиц и онкосфер цестод, следует манипулировать химическими и физическими факторами одновременно. При отсутствии любого важного компонента или фактора можно получить негативный результат.

avvb_2022_03.indd 35 20.09.2022 12:19:18

Таблица 3

Результаты биологической пробы инвазионного материала от цепня *Taenia pisiformis* на кроликах породы советская шиншилла

Группа животных	Кол-во, голов	Доза инвазирования животных, экз.	Чувствительность, %	Состояние гидатид	
				стерильные	фертильные
1. Опыт № 1 (собственный метод)	5	5 000 онксфер	100	+	++++
2. Опыт № 2 (по Косминкову)	5		20	-	+
3. Опыт № 3 (по Журавцу)	5		60	-	+++
4. Контроль № 1	5	5 000 яиц	20	-	+
5. Контроль № 2	3	-	0	-	-

Заключение

Таким образом, качество инвазионного материала цестоды *T. pisiformis* для наработки антигена в предложенном способе оказалось несколько выше по сравнению с прототипами. Показатели биологических свойств, таких как жизнеспособность и активизация онкосфер пизиформного (кроличьего) цепня, составили 95 и 65 %. Чувствительность лабораторных животных к возбудителю цестодоза, при постановке биологической пробы, оказалась 100 %, зрелые (фертильные) паразитарные гидатиды регистрировали у 80 % грызунов.

Список литературы

1. Астафьев Б. А. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине / Б. А. Астафьев, Л. С. Яроцкий, М. Н. Лебедева. М.: Наука, 1989. 278 с.

2. Бережко В. К. Технология получения онкосферального экскреторно-секреторного антигена *Taenia multiceps* на основе клеточной инженерии. / В. К. Бережко, Н. Е. Косминков, А. А. Тхакахова, К. А. Хайдаров. М., 2015.19 с.

3. Бессонов А. С. Цистный эхинококкоз и гидатидоз / А. С. Бессонов. М., 2007. 672 с.

4. Голиков А. Н. Физиология сельскохозяйственных животных / А. Н. Голиков, Н. У. Базанова, З. Б. Кожебеков. М.: Агропромиздат, 1991. 432 с.

5. Давыдов В. Г. Морфогенез желез проникновения у *Triaenophorus nodulosus* (*Cestoda: Pseudophyllidea*) / В. Г. Давыдов, Ж. В. Корнева // Паразитология. 1997. № 3 (3). С. 231–240.

6. Журавец А. К. Цистный эхинококкоз – гидатидная болезнь животных и человека. / А. К. Журавец. Новочеркасск: Северо-Кавказский зональный НИВИ, ЮРГТУ, 2004. 507 с.

7. Косминков Н. Е. Вакцина для профилактики лярвальных тениидозов сельскохозяйственных животных (ценуроза овец). / Н. Е. Косминков, В. Г. Назаров, Е. И. Комаров, Н. И. Серяков, Е. Ф. Морозова. Авторское свидетельство № 123721 СССР; 1986. Бюлл. № 22.

8. Успенский А. В. Паразитарные зоонозы / А. В. Успенский, В. В. Горохов. М.: Россельхозакадемия, ВИГИС, 2012. 336 с.

9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. ETS No.123. Strasbourg, 18/03/1986.

10. Moazeni M. In vitro viability test for the eggs of *Echinococcus granulosus*: a rapid method / M. Moazeni, E. Rakhshandehroo // Parasitology Research. 2011. № 110 (2). pp. 925–930.

11. Wang I. C. A comparative study on egg hatching methods and oncosphere viability determination for *Taenia solium* eggs / I. C. Wang, Y. X. Ma, C. H. Kuo, P. C. Fan // International Journal for Parasitology. 1997. Nov.; 27(11). pp. 1311–1314.

Подписной индекс журнала
«Актуальные вопросы ветеринарной биологии»
в каталоге «ПРЕССИНФОРМ» – **33184**

avvb_2022_03.indd 36 20.09.2022 12:19:18

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3- 37-41
УДК 616.995.4/.7:636.2(100)(048.8)
Ключевые слова: эктопаразиты, крупный рогатый скот, распространение
Key words: ectoparasites, cattle, worldwide distribution

Шафиев А. П.

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ В МИРЕ ПО НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ИНВАЗИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ВЫЗЫВАЕМЫМ ЭКТОПАРАЗИТАМИ

(Обзор литературы)

THE EPIZOOTOLOGICAL SITUATION IN THE WORLD ON THE MOST COMMON INVASIVE DISEASES OF CATTLE CAUSED BY ECTOPARASITES

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
Адрес: 196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5
Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine,
Address: 196084, St. Petersburg, Chernigovskaya str., 5

Шафиев Алексей Павлович, кандидат ветеринарных наук, ассистент кафедры патологической физиологии,
e-mail a.shafiev@spbguvm.ru
Shafiev Aleksei Pavlovich, PhD of Veterinary Science, Assistant of the Department of Pathological Physiology,
e-mail a.shafiev@spbguvm.ru

Аннотация. Целью нашего исследования было изучить и обобщить современные российские и зарубежные источники литературы по эпизоотологической ситуации в мире по наиболее распространенным инвазионным болезням крупного рогатого скота, вызываемым эктопаразитами – хориоптоз, бовиколез, гематопиноз и линогнатоз. В результате исследований было установлено, что инвазионные болезни крупного рогатого скота, вызываемые эктопаразитами, регистрируются во всем мире круглогодично во всех климатических зонах. Данные болезни есть во всех регионах России, странах Европы, Азии, Африки, Южной и Северной Америки, Новой Зеландии.

Summary. *The aim of our study was to study and summarize modern Russian and foreign sources of literature on the epizootological situation in the world on the most common invasive diseases of cattle caused by ectoparasites-chorioptosis, bovicolosis, hematopinosis and linognatosis. As a result of research, it was found that invasive diseases of cattle caused by ectoparasites are registered all over the world year-round in all climatic zones. These diseases are present in all regions of Russia, Europe, Asia, Africa, South and North America, New Zealand.*

Одними из самых распространенных болезней крупного рогатого скота, вызываемых эктопаразитами, являются хориоптоз, бовиколез, а также сифункулятозы, а именно линогнатоз и гематопиноз. Актуальность данной темы важна в связи с тем, что данные заболевания сопровождаются как снижением молочной, мясной и кожевенной продуктивности животных, так и снижением общей резистентности, возникновением и распространением инфекционных болезней [1, 2, 6, 8].

Хориоптоз крупного рогатого скота – остро или хронически протекающая болезнь, которое вызывается клещами-кожеедами рода *Chorioptes* семейства *Psoroptidae*. Возбудителем болезни крупного рогатого скота является *C. bovis*. Болезнь характеризуется воспалением кожи, зудом и экземой в местах поражения, а также выпадением волос и истощением животных [1, 3].

Сифункулятозы – группа болезней, которые вызываются вшами отряда *Siphunculata*. К сифункулятозам крупного рогатого скота относятся линогнатоз, возбудителем которого является *Linognathus vituli*, а также гематопиноз, возбудителем которого является *Haematopinus eurysternus*. Эти болезни проявляются большим беспокойством, обусловленным сильным зудом. При массовом паразитировании вши могут быть причиной дерматитов и выпадения волоса [6, 13].

Бовиколез крупного рогатого скота – инвазионная болезнь, которая вызывается власоедами *Bovicola bovis* и проявляется зудом и расчесами [2, 6, 13].

avvb_2022_03.indd 37 20.09.2022 12:19:18

Данные болезни широко распространены в России, в странах Северной и Южной Америки, а также в странах Европы и Азии.

В Уральском федеральном округе хориоптоз широко распространен. Восприимчивы в основном животные начиная с 6-месячного возраста, но наиболее часто болеют в возрасте от 1,5 до 5 лет. Отмечено, что хориоптоз является сезонной болезнью, при этом наибольшая экстенсивность инвазии отмечается в феврале и марте. При этом интенсивность инвазии варьирует. [1].

В Московской области были проведены исследования на базе одного из животноводческих хозяйств и нескольких частных подворий Московской области, по результатам которых было выявлено широкое распространение заболеваемости бовиколезом. Исследования позволили сделать вывод, что экстенсивность инвазии примерно одинаковая как в хозяйстве, так и в частном секторе. Что касается интенсивности инвазии, то она одинаково невысокая в обоих случаях [2].

В хозяйствах Северного Зауралья болезни крупного рогатого скота, вызываемые эктопаразитами, также широко распространены. При этом авторы отмечают высокую экстенсивность инвазии вшами отряда *Siphunculata*. При этом установлено, что линогнатоз отмечается как болезнь молодняка, а гематопиноз – инвазия животных любого возраста. Болезни регистрируются круглый год, но наибольший пик заболеваемости сифункулятозами авторы наблюдали в январе. Наряду с вшами высока экстенсивность инвазии в хозяйствах Северного Зауралья и власоедами *Bovicola bovis*, к которым восприимчивы животные всех возрастов круглогодично с наибольшим пиком заболеваемости в декабре [6].

В республиках Украина, Беларусь и Казахстан хориоптоз остается актуальной инвазионной болезнью, которая широко распространена во всех регионах страны и регистрируется круглогодично [3, 8].

В Ленинградской области хориоптоз особенно широко распространен в центральных и западных районах, а в восточных районах болезнь не была диагностирована. При этом автором было установлено, что болезнь проявляется круглогодично с наибольшими периодами обострения в ноябре-декабре и в марте-мае. При этом экстенсивность инвазии не превышала 24,3 %. Болезнь чаще всего регистрировалась у дойных коров старше 2 лет. Наряду с хориоптозом в хозяйствах Ленинградской области повсеместно регистрируется бовиколез. Экстенсивность инвазии не превышает 33 %. Болезнь регистрируется круглогодично с обострением в марте-апреле. Болеют животные всех возрастов, но клиническая форма встречалась только у животных старше 1,5 лет. Установлено, что в хозяйствах Ленинградской области часто регистрировалась смешанная инвазия хориоптоз-бовиколез. Экстенсивность инвазии в хозяйствах Ленинградской области сифункулятозами, а именно гематопинозом и линогнатозом, составляет от 4,2 до 17,8 % [3, 4, 7].

В хозяйствах Калининградской, Псковской, Новгородской, Калужской, Тверской, Саратовской, Архангельской, Астраханской и Мурманской областях также круглогодично регистрируются хориоптоз, бовиколез и сифункулятозы с экстенсивностью инвазии от 3,5 до 19 % [3, 4, 7].

В Египте возбудитель хориоптоза поражает как домашних, так и диких жвачных животных. Исследователи приводят данные об экстенсивности инвазии 73,9 % среди египетских буйволов, выращенных в городе Александрия. При этом авторы отмечают, что наиболее часто болезнь встречается среди поголовья в возрасте 6–9 лет. Также ими установлено, что зуд и травма при хориоптозе в области голени сочетаются со стафилококковым дерматитом, что подтверждает данные о возникновении вторичных инфекционных болезней при снижении резистентности и нарушении целостности кожного покрова как внешнего барьера организма [9]. Другими исследователями было установлено, что хориоптоз в основном распространен в Египте в районе дельты Нила. Наиболее восприимчивы оказались буйволы в возрасте от трех месяцев до семи лет. Экстенсивность инвазии составляет до 16,35 % [11].

В Германии в Южной Баварии моноинвазии хориоптозом были зарегистрированы у 52,4 % крупного рогатого скота, в то время

avvb_2022_03.indd 38 20.09.2022 12:19:18

как 47,6 % крупного рогатого скота имели смешанные инвазии: хориоптоз, бовиколез, гематопиноз и линогнатоз [24].

В Тунисе в районе Набель было исследовано 39 животноводческих ферм, где регистрировались круглогодично бовиколез, линогнатоз и гематопиноз с экстенсивностью инвазии на фермах в 20,5 %. При этом авторами установлено, что наиболее часто болезни регистрировались у телят до 8-месячного возраста, чем у взрослых животных [12]. Другие авторы проводили исследования в пяти населенных пунктах Джендубинского района Туниса. Уровень зараженности эктопаразитами оценивался в 12,7 %. Были диагностированы гематопиноз и бовиколез [17].

В Пакистане, в районе Тоба Тек Сингх (Пенджаб) при определении эпизоотологии эктопаразитарной фауны, инвазирующей домашнюю популяцию крупного рогатого скота, было установлено, что экстенсивность инвазии составляет 21,27 %. При этом наиболее часто авторы диагностировали гематопиноз, линогнатоз и хориоптоз. Наибольший пик инвазий вшами наблюдали в зимнее время, тогда как клещами – круглогодично. Была также установлена породная восприимчивость крупного рогатого скота, а именно фризский крупный рогатый скот по сравнению с джерсийским, помесным и сахивальским [18].

В Иране в Тебризе было отмечено, что при заражении голштинского крупного рогатого скота *C. bovis*, наиболее яркие клинические признаки отмечались у телок и дойных коров до 5 лет [22].

Исследователями в Израиле было подмечено, что уровень зараженности хориоптозом у крупного рогатого скота выше у старых животных. При этом авторы обращают внимание, что сезонности появления данного заболевания не установлено [26].

На Филиппинах, в Бохоле, при изучении их эктопаразитного биоразнообразия у молочных буйволов и крупного рогатого скота установлено доминирование гематопиноза [25].

В Мексике у водяного буйвола (азиатский вид крупного рогатого скота для производства молока и мяса) авторы диагностировали гематопиноз, а также обнаружили присутствие возбудителя анаплазмоза в эктопаразитах, доказав естественное заражение анаплазмозом сосущими вшами [16].

В Великобритании эктопаразиты встречаются на скоте почти повсеместно. По данным литературы, наибольшую проблему представляют хориоптоз и бовиколез [17].

В Новой Зеландии в теплых и влажных районах преобладают хориоптоз, бовиколеез, а также вши. Что же касается сухих и теплых районов, то эктопаразитов всех типов там намного меньше [15].

В Алжире, на наличие эктопаразитов исследовали пять провинций Северо-восточного Алжира. Диагностировали преимущественно вшей, а именно гематопиноз и линогнатоз. В зависимости от районов у крупного рогатого скота экстенсивность инвазии вшами составила 63 % и 27 % обследованных из районов исследования Сук-Ахрас и Гельма соответственно [21].

В Швейцарии в районе Фрайбург были проведены исследования, по результатам которых установлено круглогодично протекающее заболевание хориоптоз, экстенсивность инвазии которым составляет 31,0 % [19].

В Хорватии в настоящее время широко распространены линогнатоз и гематопиноз [20].

В Австралии, где распространены повсеместно кровососущие паразиты, диагностируют как бовиколез, так и в большом количестве линогнатоз. При этом провели исследования и установили, что вши-возбудители линогнатоза не только паразитируют на крупном рогатом скоте, но и являются переносчиком тейлериоза [14].

В Бразилии круглогодично регистрируют хориоптоз с экстенсивностью инвазии, составляющей в разные годы до 37,5 % [10].

В Таиланде вши крупного рогатого скота являются постоянными кровососущими паразитами. Кроме паразитирования, по данным авторов, при проведении исследований в трех провинциях было установлено, что вши-возбудители гематопиноза являются переносчиками таких инфекционных болезней, как бартонеллез и риккетсиоз [23].

Изученные и обобщенные литературные данные говорят о том, что мероприятия

avvb_2022_03.indd 39 20.09.2022 12:19:18

против инвазионных болезней, вызываемых эктопаразитами, необходимо не только регулярно проводить, но и совершенствовать. По-видимому, основной проблемой в лечении животных, больных вышеуказанными инвазионными болезнями, является формирование устойчивости эктопаразитов к широко использующимся акарицидным препаратам. Поэтому актуальным остается более детальное изучение механизмов формирования резистентности клещей к акарицидам, а также разработка более совершенных средств для борьбы с данными инвазионными болезнями.

Список литературы

1. Абрамов А. В. Анализ причин высокой заболеваемости хориоптозом крупного рогатого скота в ООО «Агрофирма Черданская» / А. В. Абрамов // Молодежь и наука. 2017. № 6. С. 11.

2. Акбаев Р. М. Бовиколез крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Московской области / Р. М. Акбаев, Н. В. Пуговкина // Российский ветеринарный журнал. 2017. № 1. С. 10–13.

3. Гаврилова Н. А. Возрастная динамика и клиническая картина при хориоптозе крупного рогатого скота в хозяйствах Ленинградской области / Н. А. Гаврилова // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. 1998. Т. 34. С. 113–114.

4. Гаврилова Н. А. Хориоптоз и демодекоз животных в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации: эпизоотология, диагностика, меры борьбы : автореф. дис. … д-ра вет. наук : 03.02.11 / Н. А. Гаврилова. СПб.: Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. Санкт-Петербург, 2017. 41 с.

5. Лопатникова С. А. Хориоптоз крупного рогатого скота в условиях Нечерноземья и испытание сравнительной эффективности препаративных форм акарицидов: автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.02.11 / С. А. Лопатникова. М.: Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. Москва, 2014. 19 с.

6. Столбова О. А. Насекомые и клещи – паразиты крупного рогатого скота в северном Зауралье / О. А. Столбова, Л. А. Глазунова, А. А. Никонов [и др.] // Фундаментальные исследования. 2014. № 11. С. 2650–2655.

7. Токарев, А. Н. Инвазионные болезни крупного рогатого скота в Северо-Западном регионе России и меры борьбы с ними: автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.02.11, 06.02.03 / А. Н. Токарев. СПб.: Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. Санкт-Петербург, 2016. 43 с.

8. Ятусевич А. И. Терапия и профилактика чесоточных болезней животных, защита их от эктопаразитов: методические рекомендации / А. И. Ятусевич, И. А. Ятусевич, С. И. Стасюкевич [и др.]. Витебск: Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины, 2016. 40 с.

9. Abd-Elrahman A. H. The role of Chorioptic mange infestation in aggravating the infection rates of Staphylococcal dermatitis and Edematous skin disease in Egyptian buffaloes / A. H. Abd-Elrahman, M. Tanekhy // Life Science Journal-Acta Zhengzhou University Overseas Edition. 2012. Vol. 9, iss. 1. P. 133–141.

10. Botelho Vieira M. I. Re-emergence of Chorioptes bovis (Acari: Psoroptidae) in cattle in the state of Rio Grande do Sul, Brazil / M. I. Botelho Vieira; T. Bordin; B. D. Agnol [et al.] // Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria. 2014. Vol. 23, iss. 4, № 10–12. P. 530–533.

11. El-Khodery S. A. Risk factors of infestation by Psoroptes spp. mites in buffalo (Bubalus bubalis) at smallholder farms in the Nile Delta region, Egypt / S. A. El-Khodery; S. A. Osman; M. Ishii; M. N. Al-Gaabary // Tropical Animal Health And Production. 2010. Vol. 42, iss. 2, № 2. P. 275–281.

12. Gharbi M. Cross-sectional study of cattle lice infestation in the region of Nabeul in north-east Tunisia / M. Gharbi, H. Ben Abdallah, Y. Mbarek [et al.] // Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties. 2013. Vol. 32, iss. 3, № 12. P. 879–883.

13. Gharbi M. Infestation rate of lice on donkeys in Northeast Tunisia / M. Gharbi, S. Hamzaoui, A. Hafsi [et al.] // Veterinary Parasitology – Regional Studies And Reports. 2020. Vol. 19, № 1, article 100368.

14. Hammer J. F. Mechanical transfer of Theileria orientalis: possible roles of biting arthropods, colostrum and husbandry practices in disease transmission / J. F. Hammer, C. Jenkins, D. Bogema, D. Emery // Parasites & Vectors. 2016. Vol. 9, № 1. P. 1–9.

15. Heath A. C. G. Climate change and its potential for altering the phenology and ecology of some common and widespread arthropod parasites in New Zealand / A. C. G.Heath // New Zealand Veterinary Journal. 2021. Vol. 69, iss. 1, № 1. P. 5–19.

16. Hernandez-Velasco A. First record of natural infection with Anaplasma marginalein sucking lice infesting the water buffalo (Bubalus bubalis) in Mexico / A. Hernandez-Velasco, S. Sanchez-Montes, D. Romero-Salas [et al.] // Parasitology Research. 2020. Vol. 119, iss. 11, № 11. P. 3853–3856.

17. Foster A. Cattle ectoparasites in Great Britain / A. Foster, S. Mitchell, R. Wall // Cattle Practice: congress of the British-Cattle-Veterinary-Association (BCVA). 2015. Vol. 23, pt. 2, № 10. P. 280–287.

18. Iqbal A. Epizootiology of Ectoparasitic Fauna Infesting Selected Domestic Cattle Population of Punjab, Pakistan / A. Iqbal, M. S. Sajid, M. N. Khan, G. Muhammad // International Journal Of Agriculture And Biology. 2014. Vol. 16, iss. 2. P. 443–446.

19. Kollbrunner M. Epidemiological aspects of Chorioptes-mange in dairy cows in Switzerland: A field study / M. Kollbrunner, A. Luginbuehl, K. Pfister //

avvb_2022_03.indd 40 20.09.2022 12:19:18

Sweizer Archiv Fur Tierheilkunde. 2010. Vol. 152, iss. 5, № 5. P. 231–236.

20. Krcmar S. The blood sucking lice (Phthiraptera: Anoplura) of Croatia: review and new data / S. Krcmar, T. Trilar // Turkish Journal Of Zoology. 2017. Vol. 41, iss. 2. P. 329–334.

21. Meguini M. N. Inventory of lice of mammals and farmyard chicken in North-eastern Algeria / M. N. Meguini, S. Righi, F. Zeroual [et al.] // Veterinary World. 2018. Vol. 11, iss. 3, № 3. P. 386–396.

22. Nematollahi A. An outbreask of Chorioptes bovis mange on a dairy farm in Tabriz, Iran / A. Nematollahi, G. A. Moghaddam, H. Golezardi H. // Iranian Journal of Veterinary Research. 2007. Vol. 8, iss. 4. P. 351–354.

23. Promrangsee C. The Prevalence of Bartonella Bacteria in Cattle Lice Collected from Three Provinces of Thailand / C. Promrangsee; P. Khositharattanakool, P. Somwang [et al.] // Insects. 2019. Vol. 10, iss. 6, № 6. P. 1–11.

24. Rehbein S. Bovine chorioptic mange: localisation of skin lesions and damage to the leather / S. Rehbein, M. Visser, R. Rauh, B. Trommer // Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift. 2017. Vol. 130, iss. 11–12, № 11–12. P. 501–510.

25. Ybanez A. P. First molecular detection of Mycoplasma wenyonii and the ectoparasite biodiversity in dairy water buffalo and cattle in Bohol, Philippines / A. P. Ybanez, R. H. D. Ybanez, R. K. M. Armonia [et al.] // Parasitology International. 2019. Vol. 70, № 6. P. 77–81.

26. Yeruham I. Chorioptic mange (Acarina: Psoroptidae) in domestic and wild ruminants in Israel / I. Yeruham, S. Rosen, A. Hadani // Experimental and applied acarology. 1999. Vol. 23, iss. 11, № 11. P. 861–869.Abd-Elrahman, Amir Hamed The role of Chorioptic mange infestation in aggravating the infection rates of Staphylococcal dermatitis and Edematous skin disease in Egyptian buffaloes /Abd-Elrahman, Amir Hamed; Tanekhy, Mahmoud // Life Science Journal-Acta Zhengzhou University Overseas Edition. 2012. Vol. 9, iss. 1. P. 133–141.

КАК ОФОРМИТЬ ПОДПИСКУ НА ЖУРНАЛ?

А. Через подписной каталог

Индекс в каталоге «Газеты. Журналы» Агентства «Роспечать» – **33184**

Б. Через редакцию журнала

Банковские реквизиты для оплаты подписки
по безналичному расчету для юридических лиц:

ЧОУДПО «Институт Ветеринарной Биологии»
ИНН 7802196720 КПП 781301001
Р/с 40703810400000000022 в АО «Горбанк», г. Санкт-Петербург
К/с 30101810200000000814 БИК 044030814

В поле «Назначение платежа» указать:
«Предоплата за подписку на журнал «Актуальные вопросы ветеринарной биологии» на 2022 г. согласно инф. письму б/н от 03.09.18 г. НДС не облагается. Адрес подписки: ...»

Стоимость редакционной подписки на 2022 год:
2400 рублей.

Адрес редакции: Санкт-Петербург, ул. Ораниенбаумская, 3-Б.
Т./ф. (812) 232-55-92, т. 927-55-92.
E-mail: virclin@mail.ru; www.invetbio.spb.ru

avvb_2022_03.indd 41 20.09.2022 12:19:18

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-42-49
УДК: 619:615.076.9:615.283:615.015.33
Ключевые слова: тинидазол, левамизола гидрохлорид, острая токсичность, субхроническая токсичность, раздражающее действие.
Key words: tinidazole, levamisole hydrochloride, acute toxicity, subchronic toxicity, irritant effect.

Бутенко А. В., Оробец В. А., Киреев И. В.

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ТИНИДАЗОЛА И ЛЕВАМИЗОЛА

STUDY OF THE TOXICOLOGICAL PARAMETERS OF THE PREPARATION BASED ON TINIDAZOLE AND LEVAMISOLE

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»
Адрес: 355017, Российская Федерация, г. Ставрополь, Зоотехнический пер., 12
Stavropol State Agrarian University
Address: 355017, Russian Federation, Stavropol, 12 Zootechnicheskiy Ln

Бутенко Александр Вячеславович, аспирант кафедры терапии и фармакологии, e-mail: fvm-fvm@yandex.ru
Butenko Aleksandr Vyacheslavovich, Post-Graduate Student of the Department of Therapy and Pharmacology, e-mail: fvm-fvm@yandex.ru
Оробец Владимир Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой терапии и фармакологии, e-mail: orobets@yandex.ru
Orobets Vladimir Aleksandrovich, Doctor of Veterinarian Science, Professor, Chef of the Department of Therapy and Pharmacology, e-mail: orobets@yandex.ru
Киреев Иван Валентинович, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры терапии и фармакологии, e-mail: kireev-iv@mail.ru
Kireev Ivan Valentinovich, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Therapy and Pharmacology, e-mail: kireev-iv@mail.ru

Аннотация. В результате проведенных исследований установлено, что предлагаемый препарат на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида по среднесмертельной пероральной дозе в соответствии с ГОСТ 12.1.007–76 относится к четвертому классу опасности (вещества малоопасные) и не обладает выраженной субхронической токсичностью и раздражающим действием. Многократное применение действующего вещества в течение 14 дней не вызывает достоверных изменений в клиническом состоянии, гематологическом и биохимическом профиле лабораторных животных. Полученные данные позволяют перейти к проведению клинического этапа тестирования разработанного препарата на целевых животных для определения его эффективности и безопасности. Изучение фармакотоксикологических параметров препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида проводили на базе лаборатории доклинических исследований факультета ветеринарной медицины Ставропольского государственного аграрного университета. Эксперименты на животных проводили согласно правилам, принятым Директивой 2010/63/eu Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года, по охране животных, используемых в научных целях. Определение острой токсичности, хронической токсичности, раздражающего действия препарата проводили согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012).

Summary. *Intestinal parasitic diseases cause not only anxiety to the animal but also gastrointestinal disorders, which create suitable conditions for the secondary microflora propagation. This leads to indigestion, diarrhea, vomiting, water deprivation with possible lethal consequences. The article presents the research results of test drugs with different active ingredient proportions. The research subject were dogs infested in a natural way with Giardia lamblia, Entamoeba histolytica and Toxocara canis. It was found that different combinations of ornidazole and levamisole hydrochloride showed high therapeutic efficacy. The most appropriate treatment for dogs infested with intestinal parasites is the following component proportion: ornidazole – 67,7 %, levamisole hydrochloride – 8,0 %, microcrystalline cellulose – 2,8 %, magnesium stearate – 0,4 %, with the rest of distilled water.*

Введение

Кишечные простейшие являются возбудителями желудочно-кишечных заболеваний у людей и животных во всем мире [2]. Инвазия человека происходит при прямом контакте или употреблении инфицированной пищи и воды. Дети и люди с ослабленным иммунитетом более восприимчивы к заболеваниям, вызванным кишечными простейшими [4]. Протозойные заболевания – это заболевания, вызванные группой одноклеточных организмов, которые паразитируют в кишечном тракте человека и

avvb_2022_03.indd 42 20.09.2022 12:19:19

Таблица 1

Схема внутрижелудочного введения препарата для определения острой токсичности

Название группы	Количество животных	Дозировка препарата, мг/кг
Опытная группа №1	10	1575
*Контрольная группа №1	10	1575
Опытная группа №2	10	2100
*Контрольная группа №2	10	2100
Опытная группа №3	10	2625
*Контрольная группа №3	10	2625
Опытная группа №4	10	3150
*Контрольная группа №4	10	3150
Опытная группа №5	10	3675
*Контрольная группа №5	10	3675
Опытная группа №6	10	4200
*Контрольная группа №6	10	4200
Опытная группа №7	10	4725
*Контрольная группа №7	10	4725
Опытная группа №8	10	5250
*Контрольная группа №8	10	5250
Опытная группа №9	10	5775
*Контрольная группа №9	10	5775
Опытная группа №10	10	6300
*Контрольная группа №10	10	6300

* Белые крысы контрольных групп получали равный объем физиологического раствора

животных [1]. Инвазия происходит при проглатывании человеком или животным цист кишечных простейших, которые находятся на предметах окружающей среды [8]. Инвазия кишечными простейшими имеет место по всему миру и особенно распространена в тропиках и субтропиках, где ежегодно регистрируются миллионы случаев диареи [7].

Метронидазол является стандартным противопротозойным и противомикробным препаратом для лечения животных, больных кишечными протозойными заболеваниями. Противопротозойное действие метронидазола может быть недостаточным для элиминации цист *Giardia lamblia* и *Entamoeba histolytica*. Устойчивость кишечных простейших к метронидазолу привела к разработке альтернативных лекарств [3].

По сравнению с метронидазолом, тинидазол может быть более эффективным для лечения животных, больных кишечными протозойными заболеваниями. Комбинированная терапия на основе тинидазола может быть более эффективной для повышения эффективности против кишечных протозойных заболеваний по сравнению с метронидазолом [3].

Тинидазол – это пероральный противомикробный препарат широкого спектра

Таблица 2

Схема внутрижелудочного введения препарата для определения субхронической пероральной токсичности

Название группы	Количество животных	Показатель от LD_{50}	Дозировка, мг/кг
Контрольная группа	10	-	-
Опытная группа №1	10	1/10	504,0
Опытная группа №2	10	1/20	252,0
Опытная группа №3	10	1/30	168,0

avvb_2022_03.indd 43 20.09.2022 12:19:19

Таблица 3

Результаты определения массы тела лабораторных животных (n=10), г

Название группы	Хср±Δ					
	Исходная	1 сутки	3 сутки	7 сутки	9 сутки	14 сутки
Опытная группа № 1	181,4±5,19	183,0±5,09	185,9±4,98	191,8±5,22	194,7±5,27	202,3±5,09
Контрольная группа № 1	183,3±4,98	184,9±4,89	188,0±4,91	194,0±4,93	197,0±4,74	204,6±4,99
Опытная группа № 2	179,6±6,53	181,2±6,63	184,2±6,62	190,6±6,88	193,6±7,04	201,0±7,21
Контрольная группа № 2	182,4±4,88	183,8±4,82	186,6±4,81	192,4±4,93	195,4±4,87	202,7±5,07
Опытная группа № 3	183,9±4,69	185,3±4,62	188,0±4,79	194,3±4,69	197,2±4,62	204,8±4,65
Контрольная группа № 3	187,3±7,16	189,0±7,23	192,0±7,34	197,8±7,55	200,8±7,49	208,4±7,34
Опытная группа № 4	184,0±5,76	185,5±5,59	188,5±5,59	194,2±5,55	197,1±5,47	204,9±5,27
Контрольная группа № 4	180,6±3,41	182,2±3,37	185,5±3,24	191,9±3,42	195,0±3,65	202,6±3,66
Опытная группа № 5	182,8±4,45	184,0±4,44	186,5±4,49	191,6±4,67	194,1±4,84	200,2±4,76
Контрольная группа № 5	181,7±5,57	183,1±5,49	185,8±5,55	191,3±5,82	194,5±5,75	202,0±5,76
Опытная группа № 6	182,2±6,15	183,4±6,15	186,0±6,06	191,1±6,09	193,6±5,91	199,8±6,01
Контрольная группа № 6	184,5±5,0	185,9±4,98	188,9±5,0	195,5±4,82	198,5±4,8	206,2±4,89
Опытная группа № 7	179,7±5,47	180,9±5,43	183,5±5,45	188,6±5,21	191,0±5,19	197,3±5,09
Контрольная группа № 7	181,7±4,66	183,3±4,63	186,2±4,73	192,2±4,92	195,6±4,95	203,0±5,09
Опытная группа № 8	180,6±5,08	181,8±5,03	184,2±5,07	188,8±5,06	191,1±5,06	196,9±4,96
Контрольная группа № 8	183,5±6,67	184,8±6,68	187,8±6,53	193,6±6,48	196,4±6,42	203,9±6,51
Опытная группа № 9	183,4±2,2	184,6±2,15	186,6±2,15	191,0±2,25	193,4±2,25	198,6±2,45
Контрольная группа № 9	184,0±6,43	185,5±6,51	188,6±6,58	194,6±6,42	197,5±6,43	205,3±6,43
Опытная группа № 10	-	-	-	-	-	-
Контрольная группа № 10	-	-	-	-	-	-

* $p \leq 0,05$ – разница статистически достоверна в сравнении с показателями контрольной группы

avvb_2022_03.indd 44 20.09.2022 12:19:19

действия, используемый для лечения бактериальных, протозойных и паразитарных заболеваний. Тинидазол представляет собой 5-нитроимидазола с антипротозойными свойствами. Механизм действия полностью не изучен. Предполагается, что тинидазол метаболизируется с образованием нитрит-анионов и метронидазола. Токсичность тинидазола достигается за счет истощения сульфгидрильных групп и разрывов нитей ДНК с множественными попаданиями, имеющими аддитивный эффект и приводящими к гибели клеток.

Левамизола гидрохлорид – антигельминтное средство широкого спектра для лечения паразитарных, вирусных и бактериальных инфекций. Левамизол представляет собой 6-фенил-2,3,5,6-тетрагидроимидазо[2,1-b][1,3] тиазол с S-конфигурацией (рисунок 2). Левамизола гидрохлорид используется (обычно в виде моногидрохлоридной соли) для лечения паразитарных инфекций у свиней, овец и крупного рогатого скота, а ранее использовался у людей в качестве адъюванта к химиотерапии для лечения различных видов рака (из-за его иммуномодулирующего действия) [3].

Материалы и методы исследований

Для оценки острой токсичности препарата сформировали опытные и контрольные группы белых крыс линии Wistar массой тела 180±5,96 грамм. Схема внутрижелудочного введения препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида контрольным и опытным группам белых крыс отображена в таблице 1.

Для исследования острой токсичности препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида готовили суспензию с использованием эмульгатора «Полисорбат 80». Приготовленную суспензию в разных дозировках вводили посредством внутрижелудочного зонда опытным животным и равный объем физиологического раствора контрольной группе белых крыс.

Для оценки субхронической пероральной токсичности препарата н сформировали опытные и контрольную группы белых крыс линии Wistar массой тела 188,1±5,85 грамм. Препарат вводили посредством внутрижелудочного зонда в течение 14 суток (таблица 2).

Гематологические исследования крови лабораторных животных выполняли при

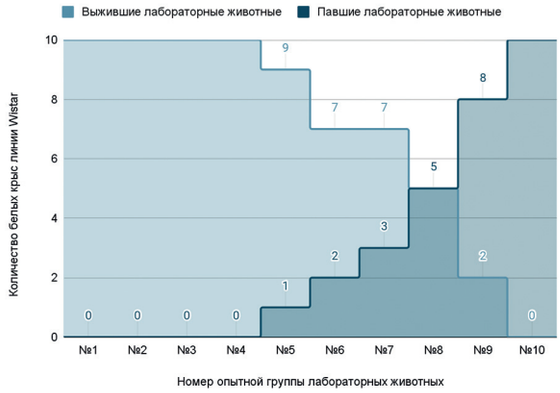


Рис. 1. Количество выживших и павших лабораторных животных при введении препарата.

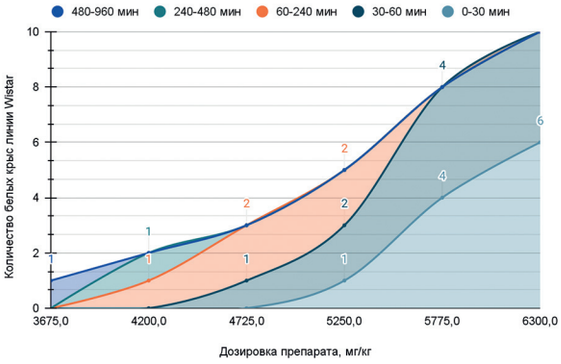


Рис. 2. Количество павших животных в зависимости от времени и дозировки препарата.

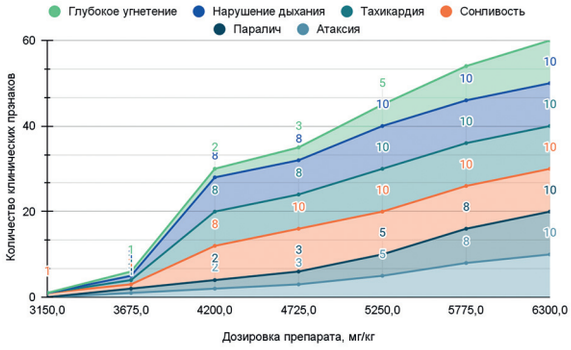


Рис. 3. Сочетание клинических признаков лабораторных животных.

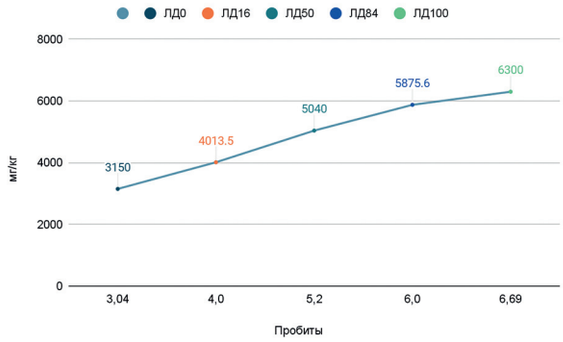


Рис. 4. Графическое отображение острой токсичности препарата.

avvb_2022_03.indd 45 20.09.2022 12:19:19

помощи автоматического гематологического анализатора PCE-90Vet (США). Биохимические исследования сыворотки крови лабораторных животных выполняли при помощи автоматического биохимического анализатора ACCENT-200 (Польша).

Для исследования раздражающего действия препарата, после его конъюнктивальной аппликации лабораторным кроликам, использовали флюоресцеиновый тест: применяли раствор флюоресцеина, который наносили на поверхность роговицы лабораторных животных при помощи шприца. Флюоресцеиновый тест позволяет определить повреждения участков роговицы по окрашиванию в зеленый цвет.

Рис. 5. Состояние конъюнктивы лабораторного кролика после инстилляции препарата: а) через 15 минут, б) через 120 минут, в) через 240 минут, г) через 480 минут.

Результаты и обсуждение

При изучении острой токсичности препарата установлено, что в контрольных № 1 – 10 и опытных № 1 – 4 группах не отмечено гибели лабораторных животных, а в опытных группах № 5 – 10 зарегистрировано 29 случаев гибели белых крыс (рисунок 1). При введении препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида в дозе 3675 мг/кг зафиксирована гибель одной крысы, что составляет 10 % опытной группы № 5. При введении препарата в дозе 5250 мг/кг зарегистрировано 5 павших животных или 50 % опытной группы № 8, а при введении 6300 мг/кг – 10 павших лабораторных животных, т. е. все животные опытной группы № 10.

При наблюдении за клиническим состоянием и поведением лабораторных животных на фоне внутрижелудочного введения препарата установлено, что период до проявления признаков отравления составил от 10 минут до 16 часов. Зависимость времени наступления летального исхода от дозировки действующего вещества препарата (рисунок 2).

Гибель лабораторных животных зарегистрирована после внутрижелудочного введения препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида в следующих дозировках: 3675 мг/кг в период от 480 до 960 минут, 4200 мг/кг в период от 60 до 480 минут,

Таблица 4

Расчет LD 50 действующих веществ тинидазола и левамизола гидрохлорида методом Миллера и Тейнтера

Название группы	Дозировка, мг/кг	Количество животных		Гибель, %	Соответствующие пробиты
		Выживших	Павших		
Опытная группа № 1	1575	10	0	0	3,04
Опытная группа № 2	2100	10	0	0	3,04
Опытная группа № 3	2625	10	0	0	3,04
Опытная группа № 4	3150	10	0	0	3,04
Опытная группа № 5	3675	9	1	10	3,72
Опытная группа № 6	4200	8	2	20	4,16
Опытная группа № 7	4725	7	3	30	4,48
Опытная группа № 8	5250	5	5	50	5,00
Опытная группа № 9	5775	2	8	80	5,84
Опытная группа № 10	6300	0	10	100	6,69

avvb_2022_03.indd 46 20.09.2022 12:19:19

Таблица 5

Параметры острой токсичности препарата при внутрижелудочном введении, мг/кг

Вид животного	Параметры токсичности					SLD_{50}
	МПД	LD_{16}	LD_{50}	LD_{84}	LD_{100}	
Белые крысы линии Wistar	3150,0 мг/кг	4013,5 мг/кг	5040,0 мг/кг	5875,6 мг/кг	6300,0 мг/кг	±31,0 мг/кг

Таблица 6

Результаты определения массы тела животных при определении субхронической пероральной токсичности (n=10), г

Название группы	Хср±Δ			
	Исходная	3 сутки	7 сутки	14 сутки
Контрольная группа	190,6±4,83	195,1±4,9	201,1±4,67	211,6±4,82
Опытная группа № 1	189,5±5,28	194,0±5,25	200,2±5,34	210,5±5,61
Опытная группа № 2	193,9±3,74	198,3±3,71	204,5±3,97	214,8±3,91
Опытная группа № 3	190,5±4,6	195,1±4,6	203,9±4,71	211,5±5,07

* $p \leq 0,05$ – разница статистически достоверна в сравнении с показателями контрольной группы.

Таблица 7

Влияние препарата на гематологические показатели крови лабораторных животных, (n=10)

Показатель	Название группы лабораторных животных			
	Контрольная группа	Опытная группа № 1	Опытная группа № 2	Опытная группа № 3
WBC, 10^9/l	6,44±0,27	6,44±0,29	6,55±0,35	6,51±0,26
LYM, 10^9/l	4,52±0,24	4,52±0,29	4,58±0,28	4,51±0,3
MON, 10^9/l	0,61±0,08	0,65±0,09	0,65±0,09	0,58±0,07
GRA, 10^9/l	2,06±0,43	2,11±0,32	2,27±0,32	2,18±0,46
LYM, %	61,86±6,58	58,11±4,9	58,35±6,71	63,57±5,79
MON, %	9,02±0,51	9,16±0,5	8,98±0,65	8,99±0,59
GRA, %	2,99±0,49	2,6±0,4	3,1±0,58	3,14±0,69
RBC, 10^12/l	4,74±0,56	4,87±0,6	4,85±0,54	4,68±0,39
HGB, g/l	159,15±6,38	158,63±7,01	158,39±5,51	158,88±5,42
HCT, l/l	0,39±0,06	0,37±0,05	0,41±0,07	0,41±0,05
MCV, fl	88,32±6,22	87,51±4,91	89,83±5,52	90,43±4,33
MCH, pg	30,65±2,02	29,98±2,13	30,63±2,53	31,56±1,61
MCHC, gl	330,31±8,3	332,48±10,65	332,02±11,97	330,81±12,7
RDW, %	12,4±0,93	12,05±1,75	11,85±1,36	11,8±1,18
RDW-SD, fl	29,86±2,5	29,31±2,16	31,26±2,62	31,67±2,15
PLT, 10^9/l	225,78±31,76	223,39±38,16	214,13±39,2	219,07±38,87
MPV, fl	7,81±0,59	8,21±0,54	7,76±0,56	7,9±0,42

* $p \leq 0,05$ – разница статистически достоверна в сравнении с показателями контрольной группы.

avvb_2022_03.indd 47 20.09.2022 12:19:19

Таблица 8

Влияние препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида на биологические показатели крови у белых крыс

Показатель	Название группы животных			
	Контрольная группа	Опытная группа № 1	Опытная группа № 2	Опытная группа № 3
Общий белок, г/л	79,15±0,43	79,12±0,55	78,83±0,49	78,94±0,52
Альбумин, г/л	39,93±2,12	39,94±2,19	40,18±2,67	40,48±3,17
Мочевина, моль/л	5,03±0,2	5,13±0,21	5,12±0,27	4,89±0,21
Креатинин, мкмоль/л	54,96±2,45	53,38±2,65	54,19±2,94	56,5±1,82
Глюкоза, моль/л	7,61±0,8	7,41±0,85	7,86±0,58	7,53±0,88
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Билирубин общий, мкмоль/л	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0	0,5±0,0
AST, U/L	22,12±4,08	28,57±3,48	27,87±3,1	23,1±3,99
ALT, U/L	88,52±13,44	95,45±3,72	92,12±3,18	92,15±4,23
Щелочная фосфатаза, U/L	179,47±14,85	177,3±16,33	164,94±12,27	179,65±13,0
ГГТ, U/L	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Креатинкиназа, U/L	7175,5±1029,5	7295,8±1050,0	6782,3±959,5	6987,4±1004,2

* $p \leq 0,05$ – разница статистически достоверна в сравнении с показателями контрольной группы.

4725 мг/кг в период от 30 до 240 минут, 5250 мг/кг в период от 10 до 240 минут, 5775 мг/кг в период от 10 до 60 минут и 6300 мг/кг в период от 10 до 60 минут.

В контрольных № 1 – 10 и опытных группах № 1 – 4 не зарегистрировано нарушения поведенческих реакций лабораторных животных, видимых признаков интоксикации не отмечено.

В опытных группах № 5 – 10 отмечено нарушение поведенческих реакций животных, которое проявлялось нарушением поедания корма и потребления воды, отсутствием реакций на внешний раздражитель. Острое отравление лабораторных животных сопровождалось следующими клиническими признаки: атаксия, паралич, угнетение, тахикардия, учащенное дыхание, которое становилось поверхностным, прерывистым. Смерть наступала в состоянии глубокого угнетения (рисунок 3).

Контроль массы тела лабораторных животных опытных и контрольных групп проводили до введения, на первые, третьи, седьмые, девятые и четырнадцатые сутки. Поскольку в опытной группе № 10 погибли все лабораторные животные, и гибель наступила в период от 10 до 60 минут, данную группу в расчетах массы тела не учитывали (таблица 3).

При регистрации массы тела белых крыс опытных и контрольных групп не установлено статистически достоверных различий показателей за весь период наблюдения. В то же время, необходимо отметить, что в группах опытных лабораторных животных, в которых испытывали препарат в дозе от 3675 мг/кг до 5250 мг/кг, установлены в сравнении с контролем более низкие значения прироста массы тела.

Полученные результаты исследований острой токсичности препарата позволили рассчитать данные для определения значений летальных доз при внутрижелудочном введении препарата лабораторным животным (таблица 4). LD_{16} и LD_{84} рассчитывали при построении пробитного графика, где сопоставлены дозы эффекта и соответствующие пробиты (рисунок 4).

Исходя из полученных данных препарат на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида по среднесмертельной пероральной дозе по ГОСТ 12.1.007–76 (классификация и общие требования безопасности) относится к четвертому классу опасности, вещества малоопасные (таблица 5).

avvb_2022_03.indd 48 20.09.2022 12:19:19

При оценке субхронической токсичности препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида на функциональное состояние центральной нервной системы отмечено, что белые крысы сохраняли реакции на внешние раздражители и двигательную активность, сопоставимую с активностью у контрольных лабораторных животных. В течение 14 дней не зарегистрировано расстройств пищеварения и мочеотделения. Установлено, что многократное применение препарата в течение 14 дней во всех испытанных дозах не вызывает значимых изменений в клиническом состоянии животных.

Результаты гематологического анализа периферической крови белых крыс линии Wistar после внутрижелудочного введения препарата на основе орнидазола и левамизола гидрохлорида показали, что в опытных группах показатели существенно не изменялись и колебались в пределах контрольных величин (таблица 7). Все незначительные изменения, обнаруженные в гематологической картине крови белых крыс линии Wistar, соответствовали референсным значениям для данного вида животных.

Результаты биохимического анализа сыворотки крови белых крыс после внутрижелудочного введения препарата на основе орнидазола и левамизола гидрохлорида показали, что биохимический профиль у животных опытных групп существенно не изменялся и находился в пределах контрольных величин (таблица 8). Все незначительные изменения, обнаруженные в биохимической картине крови опытных групп крыс, соответствовали референсным значениям для данного вида животных.

Через 15, 120, 240 и 480 минут после выполнения конъюнктивальных проб препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида у лабораторных животных не обнаружено повреждений роговицы (рисунок 5).

Конъюнктивальной пробой с использованием флюоресцеинового теста на лабораторных кроликах на протяжении 48 часов не выявил повреждений участков роговицы у лабораторных животных. Проведенное исследование раздражающего действия позволяет говорить о том, что препарат на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида не обладает выраженным раздражающим действием.

Выводы

Проведенное исследование фармакотоксикологических свойств препарата на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида позволяет утверждать, что данный препарат не обладает выраженной острой, субхронической токсичностью и раздражающим действием. Исходя из полученных данных препарат на основе тинидазола и левамизола гидрохлорида по среднесмертельной пероральной дозе по ГОСТ 12.1.007–76 относится к четвертому классу опасности, вещества малоопасные. Полученные данные позволяют перейти к проведению клинического этапа тестирования разработанного препарата на целевых животных для определения его эффективности и безопасности.

Список литературы

1. Cama V. A. Infections by Intestinal coccidia and Giardia duodenalis. / V. A. Cama, B. A. Mathison // Clin Lab Med. 2015;35(2):423–444. doi: 10.1016/j.cll.2015.02.010.

2. Giangaspero A. Human cyclosporiasis. / A. Giangaspero, R. B. Gasser // Lancet Infect Dis. (2019) 19:e226–36. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30789-8

3. Gonzales M. L. M. Antiamoebic drugs for treating amoebic colitis. / M. L. M. Gonzales, L. F. Dans, J. Sio-Aguilar // Cochrane Database Syst Rev. 2019;1(1):CD006085. Published 2019, Jan, 9. doi:10.1002/14651858.CD006085.pub3

4. J. L. Y. Ren. Risk Evaluation of Pathogenic Intestinal Protozoa Infection Among Laboratory Macaques, Animal Facility Workers, and Nearby Villagers From One Health Perspective. / J. L. Y. Ren, H. Chen, W. Huang, X. Feng, W. Hu // Front. Vet. Sci., 29 September 2021. doi:10.3389/fvets.2021.696568

5. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 26879, Levamisole. Retrieved January 30, 2022 from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levamisole.

6. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 5479, Tinidazole. Retrieved January 30, 2022 from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tinidazole.

7. Thompson R. C. A. Molecular epidemiology of Giardia and Cryptosporidium infections. / R. C. A. Thompson, A. Ash // Infect Genet Evol. 2016;40:315–323. doi: 10.1016/j.meegid.2015.09.028

8. Torgerson P. R. The global burden of foodborne parasitic diseases: an update. / P. R. Torgerson, N. R. de Silva, E. M. Fevre // Trends Parasitol. 2014;30(1):20–26. doi: 10.1016/j.pt.2013.11.002.

avvb_2022_03.indd 49 20.09.2022 12:19:19

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-50-55
УДК 619:636:615.98
Ключевые слова: иммуномодуляторы, телята, иммунотропные препараты, биогенный препарат, парагрипп-3, ревакцинация
Keywords: immunomodulators, calves, immunotropic agents, biogenic agent, parainfluenza-3, revaccination

Шаньшин Н. В., Лунёва А. А.

ИММУНОТРОПНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ПРИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКЕ ПАРАГРИППА-3, РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

IMMUNOTROPIC AGENTS FOR SPECIFIC PREVENTION OF PARAINFLUENZA-3, RESPIRATORY SYNCYTIAL INFECTION IN CATTLE

ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий» (ФГБНУ ФАНЦА)
отдел «Всероссийский научно-исследовательский институт пантового оленеводства»
Адрес: 656910 Российская Федерация, Алтайский край, г. Барнаул, Научный городок, 35
Federal State Budget-Funded Scientific Institution "Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnologies" (FGBNU FANCA) Department "All-Russian Scientific Research Institute of Deer Farming"
Address: 656910 Russian Federation, Altai Territory, Barnaul, Science town, 35

Шаньшин Николай Васильевич, кандидат ветеринарных наук,
ведущий научный сотрудник, e-mail: wniipo@rambler.ru
Shanshin Nikolay Vasilyevich, PhD of Veterinary Science, Leading Researcher, e-mail: wniipo@rambler.ru
Лунёва Александра Андреевна, младший научный сотрудник, e-mail: wniipo@rambler.ru
Luneva Aleksandra Andreevna, Junior Researcher, e-mail: wniipo@rambler.ru

Аннотация. Из вирусов, циркулирующих в популяции крупного рогатого скота, вирус парагриппа-3 чаще проявляет свое патогенетическое действие в ассоциации с другими возбудителями респираторных инфекций, его роль в инфекционной патологии связана с повсеместным распространением, а также с риском возникновения вторичных бактериальных инфекций. Следовательно, разработка и совершенствование методов специфической профилактики острых респираторно-вирусных инфекций крупного рогатого скота, а также внедрение их в производство не теряет своей актуальности и остается в центре внимания научного поиска. Цель исследований – изучить эффективность применения иммунотропных препаратов на фоне специфической профилактики парагриппа-3, респираторно синцитиальной инфекции крупного рогатого скота. Для этого сформировали 6 опытных и 1 контрольную группы телят 14-дневного возраста, по 10 животных в каждой. Животным контрольной группы вводили вакцину Бовилис Бовипаст RSP, телятам опытных групп, соответственно вакцину и одновременно иммуномодуляторы отдельно и различных сочетаниях. В ходе исследований выявлено, достоверное увеличение БАСК и ЛАСК в 1 опытной группе, где инъецировали риботан, соответственно во 2 и 4–6 опытных группах, гамма-глобулиновой фракции, которая содержит основную массу антител, обеспечивающих гуморальную защиту организма, при этом гематологические показатели крови находились в референтных пределах. Позитивным моментом при оценке иммунного ответа на одновременное введение вакцины и иммуномодуляторов, можно считать увеличение количества антител к вирусу ПГ-3 и РСИ КРС в опытных группах по сравнению с контролем.

Summary. *Among viruses affecting the cattle population, the parainfluenza virus-3 (PG-3) more often manifests its pathogenetic effect is association with its other pathogens of respiratory infections, its role in infectious pathology is associated with its ubiquitous distribution, as well as the risk of secondary bacterial infections. Therefore, the development, improvement and application of methods for the specific prevention of acute respiratory viral infections in cattle is still relevant and remains the focus of scientific research. The purpose of the research is to study the effectiveness of the use of immunotropic agents against the background of specific prevention of the parainfluenza-3, respiratory syncytial infection (RSI) in cattle. For this purpose, we assigned 6 experimental and 1 control group of 14-day-old calves, each group consisting of 10 animals. The animals in the control group were given the vaccine Bovilis Bovipast RSP; the calves of the experimental groups were, respectively, given the vaccine and immunomodulators (separately and in various combinations). The study revealed a significant increase in the serum bactericidal activity and the serum lysozyme activity in the 1st experimental group, which was administered injections of ribotan; the 2nd and 4–6th experimental groups showed an increase in the gamma globulin fraction, which contains the larger part of the antibodies that provide the body's humoral protection, whereas the haematological blood parameters were within the reference limits. The quantitative increase in the number of antibodies to the virus can be considered as a positive factor in assessing the immune response to the simultaneous administration of the vaccine and immunomodulators.*

avvb_2022_03.indd 50 20.09.2022 12:19:19

Введение

В настоящее время, наряду с улучшением технологии кормления и содержания животных, актуальной задачей является совершенствование вакцинопрофилактики против инфекционных болезней самой разной этиологии, посредством иммунотропных препаратов, способных стимулировать и формировать стойкий и продолжительный поствакцинальный иммунитет [2, 5]. Биогенные тканевые препараты при их применении существенно не изменяют физиологические процессы здорового организма, но повышают его устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды [11, 12]. При заболевании животных биогенные стимуляторы способствуют восстановлению и активизации деятельности важнейших систем организма, улучшают обмен веществ, обладают антиоксидантной, противовоспалительной активностью и другими свойствами [4]. В связи с этим актуальным является изучение и усовершенствование существующих схем применения иммуномодуляторов, на фоне специфической профилактики респираторно-вирусных болезней телят, что позволит оптимизировать схемы вакцинаций, повысить напряженность формируемого иммунитета, расширить арсенал иммунотропных лекарственных средств, доступных для применения в производственных условиях.

Цель исследований – изучить эффективность применения иммунотропных препаратов на фоне специфической профилактики парагриппа-3, респираторно синцитиальной инфекции крупного рогатого скота.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить эффективность введения иммуномодуляторов миксоферона, риботана, биогенного препарата при специфической профилактике ПГ-3 РСИ КРС;
- изучить эффективность сочетанного использования иммуномодулятора и биогенного препарата при специфической профилактике ПГ-3, РСИ КРС.

Материалы и методы

Опытная партия инъекционного биогенного препарата изготовлена по ранее запатентованной технологии [9], в отделе ВНИИПО ФГБНУ «ФАНЦА». Механизм действия препарата сводится к изменению обменных и энергетических процессов в организме, в результате воздействия на ферментные системы, процессы ассимиляции, газообмен, фосфорный обмен. В его состав входит 14 аминокислот, в том числе 6 из них незаменимые. Иммуномодуляторы миксоферон и риботан закуплены через ветеринарную сеть аптек. Научно-производственный опыт по изучению эффективности использования иммунотропных препаратов на фоне специфической профилактики ПГ-3, РСИ КРС, провели на телятах симментальской породы в ООО «АКХ Ануйское». Для этого сформировали 6 опытных (О-1 – О-6) и 1 контрольную

Таблица 1

Схема опытов по использованию иммунотропных препаратов при одновременном введении с вакциной Бовилис Бовипаст RSP

Группа	Количество телят, голов	Вакцинация и, ревакцинация телят, через 28 дней		Препарат		
		доза вакцины, мл	возраст, неделя	Риботан, мл	Миксоферон, доз	Биогенный препарат, мл
К-1	10	5,0	2–6	-	-	-
О-1	10	5,0	2–6	1,0	-	-
О-2	10	5,0	2–6	-	10,0	-
О-3	10	5,0	2–6	0,5	5,0	-
О-4	10	5,0	2–6	0,5	-	2,5
О-5	10	5,0	2–6	-	5,0	2,5
О-6	10	5,0	2–6	-	-	5,0

avvb_2022_03.indd 51 20.09.2022 12:19:19

Таблица 2

Общее количество белка и его фракций в сыворотке крови телят опытных и контрольной групп

Группа	Общ. кол. белка, г/л	Альбумины, %	Глобулины, %			А/Г, ед
			А	β	γ	
исходные показатели						
-	56,6±1,02	41,5±2,56	13,4±1,21	10,5±0,59	34,6±3,38	0,7±0,17
показатели сыворотки крови через 21 день после повторной вакцинации						
К-1	53,9±2,48	44,2±2,40	16,0±0,73	9,9±0,58	29,7±3,37	0,8±0,11
О-1	51,0±4,52	42,0±4,20	13,4±1,21**	11,5±4,95	32,9±5,26	0,7±0,10
О-2	50,6±5,40	38,7±1,93**	12,3±1,47**	9,5±4,00	39,4±4,46**	0,6±0,01
О-3	55,3±9,04	43,6±1,55	11,9±3,32	11,0±4,88	33,3±4,20	0,7±0,05
О-4	51,7±1,27	43,5±5,74	10,8±2,38**	9,1±2,90	36,4±1,96**	0,7±0,20
О-5	54,4±2,18	43,5±5,74	15,5±3,81	7,8±3,43	36,4±1,96**	0,7±0,10
О-6	52,2±1,27	39,8±0,62**	12,0±1,64**	10,6±1,01	37,5±1,85**	0,7±0,11

Примечание: **P≤0,01 относительно контроля.

(К-1) группы телят 14-дневного возраста, по 10 животных в каждой. Животным контрольной группы вводили вакцину Бовилис Бовипаст RSP, телятам опытных групп, соответственно вакцину и одновременно иммунотропные препараты согласно схеме, представленной в таблице 1.

Оценку эффективности использования иммуномодуляторов и биогенного препарата в отдельности и сочетании на фоне специфической профилактики ПГ-3 КРС, проводили по следующим методикам:

- клинико-физиологическое состояние (развитие поствакцинальных осложнений) – по общепринятым в ветеринарии методам;
- морфологические исследования крови – определение количества эритроцитов, лейкоцитов, содержание гемоглобина [10];
- биохимические исследования сыворотки крови – содержание общего количества белка рефрактометрическим (ИРФ-22), фракции белка – нефелометрическим методом [5];
- титр сывороточных антител к ПГ-3 в реакции торможения гемагглютинации (РТГА), РСИ непрямой гемагглютинации (РНГА).
- бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови фотонефелометрическим методом [3].

Иммунотропные препараты и вакцину Бовилис Бовипаст RSP вводили подкожно в область

Таблица 3

Гематологические показатели телят в опытных и контрольной группах

Группа	Общее количество			Цветной показатель, ед
	лейкоциты, 10^9/л	эритроциты, 10^{12}/л	гемоглобин, г/л	
исходные показатели				
-	5,24±0,761	6,82±0,395	98,5±6,86	0,89±0,038
показатели сыворотки крови через 21 день после повторной вакцинации				
К-1	6,50±1,044	6,57±0,351	101,0±3,60	0,84±0,052
О-1	5,76±0,709	6,89±0,265	106,6±7,63	0,85±0,056
О-2	5,10±0,529*	6,91±0,550	110,0±8,66	0,87±0,025
О-3	5,60±0,200	6,86±0,416	109,6±10,50	0,87±0,029
О-4	6,00±0,529	6,86±0,321	108,3±7,63	0,86±0,021
О-5	6,03±0,987	6,73±0,306	110,0±5,00	0,89±0,041
О-6	4,93±0,306**	6,96±0,551	110,0±5,00	0,96±0,059**

Примечание: * P≤0,05, **P≤0,01 к контролю.

avvb_2022_03.indd 52 20.09.2022 12:19:19

Таблица 4

Иммунобиологические показатели крови телят опытных и контрольной групп

Группа	ЛАСК, %	БАСК, %	Титр антител к вирусу	
			ПГ-3	РСИ
исходные показатели				
-	10,0–25,0 14,2±6,30	35,6–48,5 42,5±5,91	1:4–1:32 17,2±11,03	1:8–1:64 27,0±17,59
показатели сыворотки крови через 21 день после повторной вакцинации				
К-1	16,8–54,3 35,2±13,93	70,0–85,3 75,2±6,48	1:32–1:128 73,6±47,82*	1:32–1:128 92,0±39,88*
О-1	38,4–72,7 52,8±11,55**	82,4–90,8 87,5±3,17*	1:128–1:256 166,4±61,80*(*)	1:64–1:512 240,0±183,42*(**)
О-2	12,5–72,7 37,0±22,21	74,8–82,9 79,7±3,03	1:64–1:128 96,0±33,71*	1:64–-1:128 104,0±33,12*
О-3	29,0–66,6 45,2±16,88	75,4–92,1 81,8±6,27	1:64–1:256 96,0±62,19*	1:64–1:256 136±79,77
О-4	21,3–70,0 38,2±19,73	74,8–86,2 81,6±4,35	1:32–1:256 118,4±60,43*	1:64–1:256 160,0±83,79*
О-5	30,7–60,2 53,8±18,18	56,5–93,1 71,0±15,48	1:128–1:512 268,8±140,86*(*)	1:128–1:512 304,0±180,20*(*)
О-6	33,3–61,5 47,9±10,06	46,9–87,2 69,0±14,89	1:128–1:512 217,6±121,40*(*)	1:128–1:512 272,0±159,54*(*)

Примечание: * P≤0,05, **P≤0,01 к исходным данным, (*) по отношению к контролю

средней трети шеи с обеих сторон, разными шприцами с соблюдением правил асептики.

Забор крови для исследований провели перед первой вакцинацией и спустя 21 день после 2-го введения вакцины животным. Достоверность средних значений оценивали по критерию достоверности Стьюдента-Фишера.

Результаты исследований

Через 21 день после ревакцинации у телят отмечали снижение общего количества белка в сыворотке крови ниже референтных значений в контрольной группе на 13,0 %, в опытных, соответственно на 10,8–18,3 %, α-глобулинов на 1,2 % в О-4, β-глобулинов на 0,9–2,2 % в О-2, О-4, О-5 группах. Данные изменения в биохимическом составе крови связаны с несбалансированностью рациона подопытных животных. Увеличение γ-глобулиновой фракции у опытных телят на 3,2–9,7 % в сравнении с контрольной группой при достоверных различиях в О-2, О-4, О-5, О-6 группах (P≤0,01) указывает на усиление активации иммунного ответа, так как эта фракция содержит основную массу антител, которые обеспечивают гуморальную защиту организма (табл. 2).

Гематологические показатели крови у телят подопытных групп находились в пределах физиологической нормы с достоверным снижением общего количества лейкоцитов во О-2, О-6 группах по отношению к контролю (табл. 3). Незначительные изменения в содержании общего количества эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов крови подопытных телят, в пределах допустимых нормативных значений, после 2-кратного введения вакцины против вирусных респираторных инфекций говорит о безвредности применяемых препаратов [7].

Цветной показатель был выше в опытных группах в сравнении с контролем, соответственно на 1,1–14,2 %.

Бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови (БАСК и ЛАСК) относятся к факторам неспецифической резистентности организма, являются показателями активности нейтрофилов, моноцитов и других форменных элементов, а также указывают на антимикробные свойства крови и общее состояние иммунной системы. Максимальное увеличение БАСК на 12,3 % (P≤0,05) и ЛАСК на 50,0 % (P≤0,01) отмечали после одновременного введения вакцины и иммуномодулятора риботан в

avvb_2022_03.indd 53 20.09.2022 12:19:19

О-1, в сравнении с контрольной группой, соответственно повышение ЛАСК на 52,8 и 36,0 % и снижением БАСК на 4,2 и 6,2 % после сочетанных инъекций миксоферон + биогенный препарат в половинных дозах в О-5 группе и биогенного препарата в О-6 группе. Незначительное повышение ЛАСК и БАСК на 5,1 % и 4,5 % регистрировали во О-2 группе телят после введения миксоферона, соответственно в О-4 на 8,5 % и 6,4 %, где дополнительно к вакцине инъецировали риботан + биогенный препарат в половинных дозах. В О-3 группе ЛАСК превышала контроль на 28,4 %, а БАСК соответственно на 6,6 % после введения половинных доз риботан + миксоферон (табл. 4). Лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови в контрольной группе увеличились на 21,0 и 32,5 % в сравнении с исходными показателями, а в опытных группах, соответственно ЛАСК на 22,8–39,6 %, БАСК на 26,5–45,0 %.

Обсуждение результатов

После введения вакцины Бовилис Бовипаст RSP и иммунотропных препаратов, титр антител к вирусу ПГ-3 и РСИ достоверно увеличился во всех опытных и контрольной группах в сравнении с исходными данными (P≤0,05). В контрольной группе регистрировали увеличение количества антител к вирусу ПГ-3 и РСИ в 4,2 и 3,4 раза, соответственно в О-1 в 9,6 и 8,8 раза, в О-2 в 5,5 и 3,8, в О-3 в 5,5 и 5,0 раз, в О-4 в 6,8 и 5,9 раза, в 15,6–12,6 и 11,2–10,0 раз в О-5 и О-6 группах. После 2-кратной иммунизации телят, достоверные отличия по содержанию антител к вирусу ПГ-3 и РСИ в сравнении с контрольной группой животных отмечены в сыворотки крови О-1 группы в 2,2 и 2,6 раза, которым дополнительно инъецировали риботан, а О-5 – О-6 группах в 3,6–2,9 и 3,3–2,9 раза (P≤0,05), соответственно миксоферон + биогенный препарат в половинных дозах и биогенный препарат.

В работе соавторов Н. Ю. Басовой, М. А. Староселова и др. при использовании иммуномодулятора «полиоксидоний вет раствор» при вакцинации телят инактивированной вакциной «Комбовак-Р» через 30 дней после вакцинации отмечали наличие антител в сыворотке крови, к вирусу ПГ-3 в контрольной группе от 1:16–1:128 в среднем 1:48±2,6, в опытной соответственно 1:32–1:256 в среднем 1:151,4±3,8, нормализацию гематологических и иммунологических показателей [1].

Введение биостимулятора (препарат на основе фракции АСД-2) за 24 часа перед вакцинацией и в день проведения вакцинации против вирусных болезней легких, обеспечивает выраженную стимуляцию иммунобиохимических процессов, что является необходимым фоном для выработки специфических антител к вирусам ПГ-3, ВД-БС, ИРТ, РСИ крупного рогатого скота [8].

В период проведения опыта не выявлено нежелательных явлений в клинико-физиологическом состоянии телят и побочных реакций на одновременное введение вакцины Бовилис Бовипаст RSP в сочетании с иммунотропными препаратами. По результатам исследований установили, что не совсем корректно использовать сочетание иммуномодуляторов как друг с другом, так и риботан с биогенным препаратом в половинных дозах, что не дает препаратам в полной мере вызывать максимальный иммунный ответ из-за недостатка действующего вещества или фармакологических свойств, которые по-разному влияют на адаптационно-приспособительные механизмы иммунной системы животных. В тоже время необходимо отметить возможность использования миксоферона и биогенного препарата в половинных дозах в качестве иммуномодуляторов, положительно влияющих на биохимические и иммунологические показатели крови телят, способных индуцировать иммунологическую реактивность, средний титр антител 1:268 к вирусу ПГ-3 регистрировали в данном сочетании и 1:304 к вирусу РСИ КРС.

Определение поствакцинального иммунного ответа против пастереллеза не проводили, акцент был сделан на респираторно-вирусные инфекции телят.

Заключение

Фактом положительного влияния иммуномодуляторов, различных по фармакологическим свойствам, в отдельности и их сочетании на поствакцинальный иммунный ответ и общую резистентность организма телят, являет-

avvb_2022_03.indd 54 20.09.2022 12:19:19

ся достоверное увеличение БАСК и ЛАСК в 1 опытной группе, где инъецировали риботан, соответственно увеличение гамма-глобулиновой фракции во 2 и 4–6 опытных группах, при этом гематологические показатели крови находились в референтных пределах. Позитивным моментом при оценке иммунного ответа на одновременное введение вакцины и иммуномодуляторов, можно считать увеличение вируснейтрализующих антител к вирусу ПГ-3 от 30,4 % до 3,6 раз, РСИ КРС от 13,0 % до 3,3 раз в опытных группах по сравнению с контролем. К исходным значениям данный показатель в среднем составил, в контрольной группе к ПГ-3 в 4,2 раза, вирусу РСИ в 2,3 раза, соответственно у телят опытных групп к ПГ-3 от 5,5 до 15,6 раз, РСИ от 3,4 до 11,2 раз.

Список литературы

1. Басова Н. Ю. Влияние иммунокорректоров на иммуногенность вакцины «Комбовак – Р» / Басова Н. Ю., Староселов М. А., Скориков А. В., Схатум А. К. // Сборник научных трудов КНЦЗВ. Т. 8, № 2. Краснодар, 2019. С. 151–156.
2. Басова Н. Ю. Респираторные болезни молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии в условиях Северного Кавказа: автореферат … доктора ветеринарных наук. / Н. Ю. Басова. Краснодар, 2002. 42 с.
3. Гугушвили Н. Н. Иммунологические методы исследования в ветеринарии: методические рекомендации / Н. Н. Гугушвили. Краснодар, 2001. С. 50–53.
4. Даричева Н. Н. Тканевая терапия в ветеринарной медицине: монография. / Н. Н. Даричева, В. А. Ермолаев. Ульяновск. УГСХА. 2011. 168 с.
5. Зоткин Г. В. Проявление эпизоотического процесса при микст-инфекции ИРТ И ПГ-3 крупного рогатого скота. / Г. В. Зоткин, З. Я. Косорлукова, И. В. Яшин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2014. № 2. С. 72–74.
6. Кондрахин И. П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справочное издание. / И. П. Кондрахин. М.: Агропромиздат. 1985. 287 с.
7. Красочко П. А. Морфологические показатели крови телят при применении живой ассоциированной вакцины против вирусных респираторных инфекций. / П. А. Красочко, А. В. Притыченко, И. А. Красочко, Д. И. Сайдалиев и др. // Сборник научных трудов КНЦЗВ. 2021. Т. 10. № 1. С. 35–39.
8. Патент РФ 2625022С2. 11.07.2017. Способ выращивания телят в хозяйствах неблагополучных по ОРВИ: №2015128690 заявлен 14.07.2015; опубликован 11.07.2017. Бюл. №20 / Петрова О. Г., Алексеев А. Д., Одегов Е. С.; заявитель УрГАУ.
9. Патент РФ 2698707 29.08.2019. Способ производства биогенных препаратов: №2019113424 заявлен 29.04.2019; опубликован 11.08.2019. / Евсеева Т. П., Шаньшин Н. В., заявитель ФГБНУ ФАНЦА.
10. Симонян Г. А. Ветеринарная гематология / Г. А. Симонян, Ф. Ф. Хисамутдинов. М.: Колос. 1995. 256 с.
11. Cusack P. M. V. The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. / P. M. V. Cusack, N. McMeniman, I. J. Lean // Aust. Vet. J. 2003;81:480–487. doi: 10.1111/j.1751-0813.2003.tb13367.x.
12. Giangaspero M. Epidemiological survey on virus diseases of cattle in north west Syria. / M. Giangaspero, G. Vacirca, E. Vanopdenbosch, H. Blondeel // Tropicultura. 1992. 10(2):55–57.

реклама

ЧОУДПО «ИНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ»
г. Санкт-Петербург

Курсы повышения квалификации

- Ветеринарная эхокардиография (теория и практика)
- Лабораторная диагностика в ветеринарии
- Ветеринарная офтальмология
- Ветеринарная рентгенология, в т.ч. персонал группы А и ответственный за рентгенобезопасность
- Ультразвуковая диагностика в ветеринарии
- Ветеринарная фармация (для лицензирования ветеринарных аптек)

Предварительная регистрация обязательна! Справки по тел. (812) 612-13-34 или (812) 232-55-92 доб. 208

График проведения и информация на сайте: www.invetbio.spb.ru/seminars.html

Лицензия Комитета по образованию Санкт-Петербурга на осуществление образовательной деятельности по образовательным программам дополнительного профессионального образования № 1093 от 04.08.2014 г.

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-56-59
УДК: 591.497:616.71-002.4-084:598.115.31
Ключевые слова: маисовый полоз, Pantherophis guttatus, экдис, дисэктис, некроз хвоста
Key words: corn snake, Pantherophis guttatus, ecdysis, dysecdysis, tail necrosis

Набожинская Н. А., Кузнецова Т. Ш., Семенов Б. С., Хоменко Р. М.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ НЕКРОЗА ХВОСТА У МАИСОВОГО ПОЛОЗА (*PANTHEROPHIS GUTTATUS*)

PREVENTION OF CORN SNAKE (PANTHEROPHIS GUTTATUS) TAIL NECROSIS

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».
Адрес: 196084, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Черниговская ул., д. 5
Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine.
Address: 196084, Russian Federation, St. Petersburg, Chernigovskaya str., 5

Набожинская Наталья Александровна, студентка 4 курса факультета ветеринарной медицины, e-mail: nato4ka4444@gmail.com
Nabozhinskaia Natalia Aleksandrovna, 4th year Student of the Faculty of Veterinary Medicine, e-mail: nato4ka4444@gmail.com
Кузнецова Татьяна Шамильевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры ветеринарной генетики и животноводства, e-mail: kuznett@yandex.ru
Kuznetsova Tatiana Shamilevna, PhD of Biological Science, Associate Professor of the Department of Veterinary Genetics and Animal Husbandry, e-mail: kuznett@yandex.ru
Семенов Борис Степанович, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры акушерства и оперативной хирургии, e-mail: bsstepana@rambler.ru
Semenov Boris Stepanovich, Doctor of Veterinary Science, Professor of the Department of Obstetrics and Operative Surgery, e-mail: bsstepana@rambler.ru
Хоменко Роман Михайлович, кандидат ветеринарных наук, ассистент кафедры акушерства и оперативной хирургии, e-mail: roman.khomenko@gmail.com
Khomenko Roman Mikhailovich, PhD of Veterinary Science, Assistant of the Department of Obstetrics and Operative Surgery, e-mail: romankhomenkogmailcomroman.khomenko@gmail.com

Аннотация. При неправильном содержании змей, наличии стресс-факторов, травматизации возможна патологическая линька – дисэкдис, когда частички рогового слоя не отслаиваются, образуются наслоения и старый ороговевший кожный «чехол» сдавливает нижележащие ткани и способствует развитию ишемического некроза. Наиболее уязвимые места – это кончик хвоста и глаза. Под наблюдением находилось 4 змеи вида *Pantherophis guttatus* (маисовый полоз), содержащиеся в разных условиях. Было выявлено, что травматизация хвоста приводит к нарушению линьки и увеличивает продолжительность экдиса на 20 суток. Для предупреждения некроза хвоста у змей вследствие дисэкдиса следует соблюдать правила содержания, а именно: подходящие размеры террариума (минимальный размер террариума для одной взрослой змеи 60 х 40 х 40 см); хорошая вентиляция, оптимальные температурные показатели (общий температурный фон 25 °С), влажность 50–60 % (во время линьки до 70 %); кормление КО, соответствующими размерам и возрасту змеи.

Summary. *Pathological moulting (dysecdysis) may occur due to improper maintenance of the snake, the presence of stressors, or trauma. The old skin cells do not exfoliate, which causes the formation of layers, and the retained keratinized skin cover compresses the underlying tissues, thus contributing to the development of ischemic necrosis. The most vulnerable parts are the tip of the tail and eyes. We observed four species of the Pantherophis guttatus (corn snake) kept under different conditions. It was found out that the tail trauma leads to impaired moulting and increases the duration of ecdysis by 20 days. To prevent necrosis of the tail in snakes due to dysecdysis, the rules of maintenance should be observed: suitable dimensions of the terrarium (the minimum size of the terrarium for one adult snake is 60 x 40 x 40 cm), proper ventilation, optimal temperature indicators (general temperature background 25 °C), humidity 50–60 % (up to 70 % during moulting), appropriate food according to the size and age of the snake.*

Введение

В настоящее время содержание змей как домашних питомцев все больше набирает популярность среди жителей России и всего мира. В связи с этим вопрос о правильном содержании змей, оценке состояния их здоровья, болезнях и лечении становится актуальным [2, 3].

Экдис, или линька у змей – естественный биологический процесс, который сопровождает змею на протяжении всей жизни. В норме линька змей является эндокринно обусловленным, цикличным, генерализованным комплексным процессом, при котором клетки промежуточной зоны эпидермиса

avvb_2022_03.indd 56 20.09.2022 12:19:20

пролиферируют и образуют новый роговой слой, а старый отслаивается [6].

Зачастую из-за неправильного содержания, внутренних болезней и патологий, стресс-факторов, экдис у змей проходит искаженно, что может сказываться на состоянии змеи. При патологически прошедшей линьке (дисэкдис) частички старого рогового слоя не отслаиваются, особенно часто это происходит в наиболее уязвимых для разрыва выползка местах, таких как глаза и кончик хвоста. Как правило, все следующие выползки (старый ороговевший слой кожи) разрываются в этих же местах, что создает своеобразное наслоение. Образованный старой ороговевшей кожей «чехол» сдавливает нижележащие ткани животного и способствует развитию ишемического некроза [1, 6, 7].

Некроз хвоста змеи является довольно распространенной и опасной проблемой, в некоторых случаях требующей оперативного вмешательства. Целью данной работы является своевременное опознание и предупреждение развития этой патологии.

У змей начало цикла экдиса связано с пролиферацией клеток шиповатого слоя. В этот момент кожа становится тусклой и матовой. Эта стадия длится 5–7 дней. Пролиферация сменяется дифференциацией клеток, составляющих новый роговой слой на периферии пролиферата с образованием тонкой щели в промежуточной зоне. После формирования внутренней эпидермальной генерации клеток в пространство промежуточной зоны диффундирует лимфа, и в результате высвобождения ферментов происходит лизис межклеточного вещества, выпадение фибриноидных белков, их адгезия к двум поверхностям клеток и образование полости – зоны расслоения. Фаза расхождения линьки, включающая формирование внутренней эпидермальной генерации и образование полости с выпотом в нее лимфы длится 3–4 дня. В этот момент кожа у змей очень тусклая, а также мутнеет линза, покрывающая глаз. В фазе расслоения происходит лизис межуточного вещества и адгезия белков. Эта фаза также длится 3–4 дня, во время нее кожа и глаза светлеют и почти не отличаются от нормальных. Затем следует непосредственно сама линька – кожа начинает отслаиваться, змея трется о неровные поверхности, отшелушивает чешуйки эпидермиса в области носа и подбородка, выворачивает старую кожу наизнанку и выползает из нее. Этот процесс занимает несколько минут [6].

Для нормального протекания линьки в этот период не следует кормить и тревожить животное, а также влажность в жилище змеи лучше поддерживать на уровне 70–80 %, то есть намного больше обычной. Это достигается использованием специализированных увлажнителей или опрыскиванием террариума минимум раз в день [7, 8].

Материалы и методы

Под наблюдением в течение 6 месяцев было 4 змеи вида *Pantherophis guttatus* (Маисовый полоз), содержащиеся в разных условиях. В террариумах, где содержались змеи, проводилась ежедневная термометрия, гигрометрия. Кормление проводилось размороженными мышами определенного размера и с интервалами, соответствующими возрасту подопытных.

Особи № 1, 2, 4 содержались в оптимальных условиях, соответствующих нормам.

Особь № 3 содержалась с пониженной влажностью и регулярными перепадами температур.

Объекты исследования:

1. Маисовый полоз морфы Snow, самец, 2 года, клинически здоров. Содержание: террариум 60 х 45 х 45 см, температура 23/29 °С (прим.: температура указывается в точках холодной зоны и зоны прогрева), влажность 40 %. Кормление: 1 раз в 14 дней, кормовой объект (КО) массой 35 гр.

2. Маисовый полоз морфы Normal, самец, 1,5 года, с травмой хвоста. Содержание: контейнер 30 л, температура 24/29 °С, влажность 50 %. Кормление: 1 раз в 10 дней, КО массой 10 гр.

3. Маисовый полоз морфы Amel, самка, 2,5 года, клинически здорова. Содержание: террариум 60 х 30 х 45 см, температура 19–25/29–34 °С, влажность 15 %. Кормление: 1 раз в 14 дней, КО массой 35 гр.

4. Маисовый полоз морфы Snow, самка, 5 лет, ранее был дисэкдис. Содержание:

avvb_2022_03.indd 57 20.09.2022 12:19:20

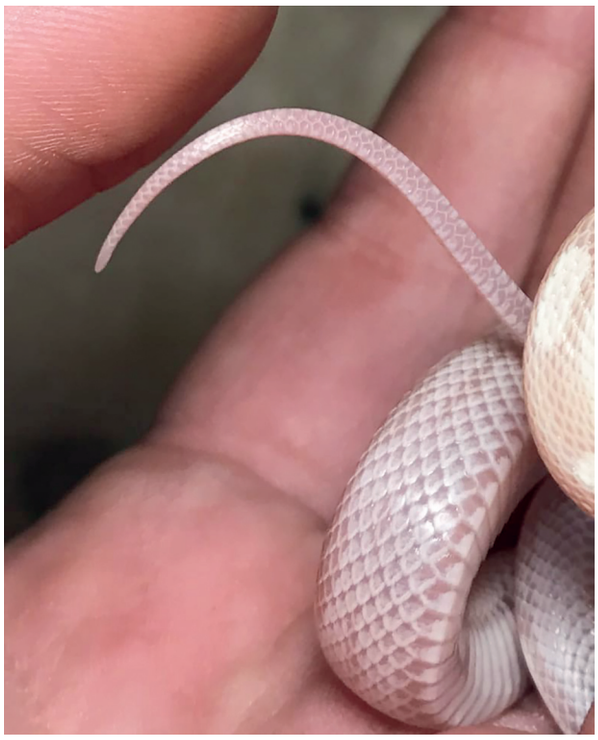


Рис. 1. Хвост маисового полоза после экдиса без патологий.

Рис. 2. Травма хвоста у маисового полоза.

террариум 80 х 45 х 45 см, температура 23/29 °С, влажность 45 %. Кормление: 1 раз в 14 дней, КО массой 40 гр.

Результаты исследований

У особи № 1 не наблюдалось отклонений в здоровье. Длительность цикла экдиса составила 45 суток. Выползок равномерный, без разрывов (рис.1).

У особи № 2 не наблюдалось отклонений в здоровье, но в связи с предшествовавшей травмой хвоста (рис. 2) линька проходила искаженно. Длительность цикла экдиса составила 35 суток. Каждый выползок разрывался в месте травматизации, куски ороговевшего слоя оставались на хвосте.

У особи № 3 из-за пониженной влажности и резких перепадов температур наблюдалось стрессовое состояние. Наблюдался дисэкдис, на чешуе оставались частички старого рогового слоя. Длительность цикла экдиса – 60 суток. Кусок несошедшего эпителия, находящийся на хвосте, остался незамеченным, в связи с этим с каждой последующей линькой проходило наслаивание кожи. В результате образовался некроз (рис. 3). Конец хвоста отпал без посторонней помощи. Осложнений не наблюдалось.

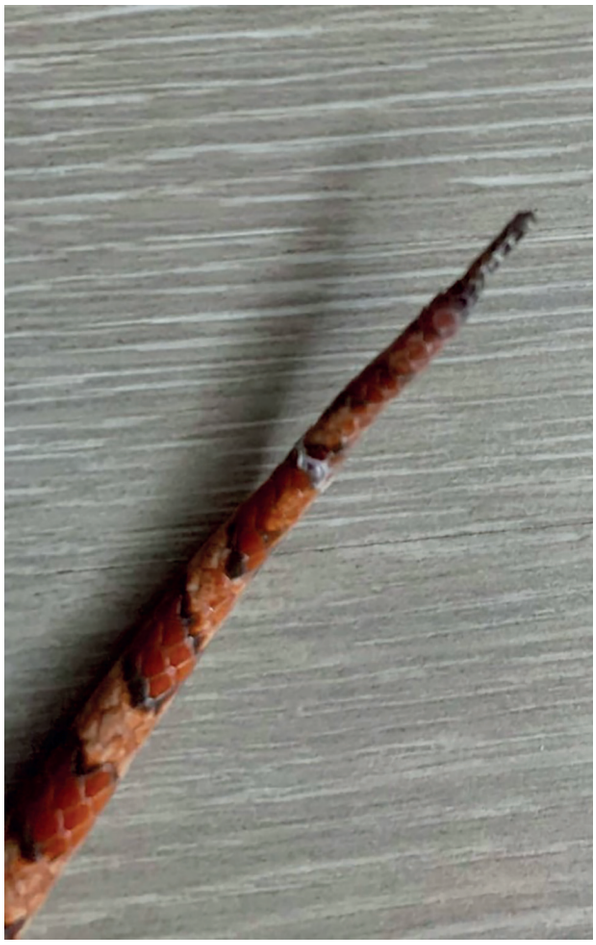


Рис. 3. Некроз хвоста у маисового полоза и несошедший выползок.

avvb_2022_03.indd 58 20.09.2022 12:19:20

У особи № 4 ранее, в возрасте 11 месяцев из-за неправильного содержания уже наблюдался дисэкдис и предпосылки к ишемическому некрозу. После этого условия содержания изменились на оптимальные и соответствующие норме. На данный момент у змеи не наблюдается отклонений в здоровье, однако после каждой линьки часть выползка остается на деформированном участке хвоста. Продолжительность цикла экдиса – 65 суток.

Обсуждение

Для профилактики патологической линьки владельцам змей рекомендуется соблюдать условия содержания и проверять свое животное после каждого процесса линьки на наличие неотслоившихся частей старого рогового слоя. При нахождении таковых рекомендовано механически убирать их, предварительно отмочив в теплой воде. Если данные манипуляции прошли успешно и покров не травмировался, змея остается здоровой.

Если до момента обнаружения проблемы произошло несколько наслоений, важно как можно быстрее снять этот выползок, не повредив здоровую кожу. Предварительно отмочив наслоившийся роговой слой, с помощью пинцета и скальпеля аккуратно отделить его, не задевая живой покров змеи. В данном случае, если живая ткань сохранена, в зависимости от количества наслоившегося слоя хвост либо останется в норме, либо деформируется. После такой ситуации важно еще больше уделять внимание осмотру змеи после каждой следующей линьки.

В запущенных случаях, при которых происходит нарушение кровообращения хвоста, развивается ишемический некроз. Со временем данный участок хвоста отпадает, дополнительных вмешательств этот процесс не требует. Если же данный процесс осложняется какими-либо сторонними факторами, есть вероятность того, что потребуется оперативное вмешательство, такое как ампутация.

Заключение

Травматизация хвоста маисового полоза приводит к нарушению линьки и увеличивает продолжительность экдиса на 20 суток. Для предупреждения некроза хвоста у змей вследствие дисэкдиса следует соблюдать правила содержания, а именно – подходящие размеры террариума (минимальный размер террариума для одной взрослой змеи 60 х 40 х 40 см), хорошая вентиляция, оптимальные температурные показатели (общий температурный фон 25 °С, в точке прогрева 28–29 °С, в холодной зоне 22–24 °С), влажность 50–60 % (во время линьки до 70 %), кормление КО, подходящими размерам змеи и с интервалами, соответствующими возрасту змеи, минимизировать возникновение стресс-фактора и травмоопасных ситуаций. Также важно уделять повышенное внимание животным с врожденными аномалиями скелета, чешуи, и особям, у которых уже имелись травмы кожного покрова.

Список литературы

1. Ярофке Д. Рептилии. Болезни и лечение / Д. Ярофке, Ю. Ланде. М.: Аквариум, 2012. 240 с.

2. Cleymaet A. M. Unfolding the diagnosis of subspectacular fluid opacity in a corn snake (Pantherophis guttatus) / A. M. Cleymaet, E. J. Ehrhart, M. J. Sadar, M. Johnston, K. Wotman, M. Henriksen // Vet Ophthalmol. 2020. Jul; 23(4). p. 754–759.

3. Gimmel A. Body condition scoring (BCS) in corn snakes (*Pantherophis guttatus*) and comparison to pre-existing body condition index (BCI) for snakes / A. Gimmel, S. Öfner, A. Liesegang // J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2021. Nov;105 Suppl 2:24–28.

4. Hoff G. L. Diseases of Amphibians and Reptiles / G. L. Hoff, F. L. Frye, E. R. Jacobson. 1984.

5. Jacobson E. R. Histology, endocrinology, and husbandry of ecdysis in snakes (a review) / E. R. Jacobson // Vet Med Small Anim Clin. 1977. 72:275.

6. Maderson P. F. A. Some developmental problems of the reptilian integument. / P. F. A. Maderson, Cans C., ed. // Biology of the Reptilia, vol 14. New York: Wiley-Interscience Publications, 1985.

7. Rossi J. V. Dermatology. / J. V. Rossi; Mader D. R., ed. // Reptile Medicine and Surgery. Philadelphia: WB Saunders, 1996.

8. Warwick C. Health and Welfare of Captive Reptiles / C. Warwick, F. L. Frye, J. B. Murphy. 1995

avvb_2022_03.indd 59 20.09.2022 12:19:20

РАЗВЕДЕНИЕ

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-60-67
УДК 636.2:636.082
Ключевые слова: крупный рогатый скот, симментальская порода, классный состав, удой, показатели плодовитости, рост и развитие молодняка.
Key words: cattle, Simmental breed, class composition, milk yield, fertility indicators, growth and development of young animals.

[1]Тлецерук И. Р., [2]Коник Н. В., [3,4]Улимбашев М. Б.

ПРОДУКТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛОЧНОГО СТАДА СИММЕНТАЛЬСКОЙ ПОРОДЫ

PRODUCTIVE FEATURES OF THE DAIRY HERD OF THE SIMMENTAL BREED

[1]ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет»
Адрес: 385000, г. Майкоп, ул. Первомайская, 191
Maykop State Technological University
Address: 385000, Maykop, Pervomayskaya Street, 191
[2] ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»
Адрес: 410012, г. Саратов, Театральная пл., 1
Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov
Address: 410012, Saratov, Teatralnaya Square, 1
[3]Министерство сельского хозяйства Кабардино-Балкарской Республики,
Адрес: 360028, г. Нальчик, пр-т Ленина, 27
Ministry of Agriculture Kabardino-Balkarian Republic
Address: 360028, Kabardino-Balkar Republic, Nalchik, Lenin Ave., 27
[4]ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»
Адрес: 356241, г. Михайловск, ул. Никонова, 49
North Caucasus Federal Scientific Agrarian Centre
Address: 356241, Mikhailovsk, Nikonova Street, 49

Тлецерук Ирина Рашидовна, кандидат с.-х. наук, доцент.
Tletseruk Irina Rashidovna, PhD of Agriculture Science, Associate Professor.
Коник Нина Владимировна, доктор с.-х. наук, профессор.
Konik Nina Vladimirovna, Doctor of Agriculture Science, Professor.
Улимбашев Мурат Борисович, доктор с.-х. наук, доцент,
e-mail: murat-ul@yandex.ru
Ulimbashev Murat Borisovich, Doctor of Agriculture Science, Associate Professor,
e-mail: murat-ul@yandex.ru

Аннотация. Цель исследований – изучить продуктивные и воспроизводительные качества симментальского скота в условиях Кабардино-Балкарской Республики, завезенного из Саратовской области. Объект и место исследований: маточное поголовье симментальской породы, принадлежащее ООО «Шэру» Кабардино-Балкарской Республики. Продуктивные и воспроизводительные качества коров анализировали по материалам зоотехнического и племенного учета, а также с использованием общепринятых в зоотехнии методов исследований. Установлено, что из всего маточного поголовья животных доминирующим было представительство класса элита-рекорд, к которому отнесено 85,8 %, остальные 14,2 % – особи класса элита. По всем группам первотелок зарегистрирован удой на уровне 5128 кг с содержанием жира в молоке 3,9 %, белка – 3,39 %, количество молочного жира 199,6 кг и молочного белка – 173,2 кг, причем независимо от групповой принадлежности по удою за лактацию первотелки значительно превосходили минимальные требования для коров симментальской породы соответствующей лактации. Наибольшее производство молока на каждые 100 кг живой массы коровы демонстрировали представительницы линии Мергеля 2122 – 910 кг. В то же время последние оказались более жирно- и белковомолочными, у которых эти показатели были выше в среднем на 0,05–0,14 и 0,04–0,09 абс. проц. соответственно. Независимо от молочной продуктивности групп коров все поголовье отличалось оптимальными значениями воспроизводительной способности: сервис-период – 81–108 дней и межотельный интервал – 358–388 дней. Потомство отелившихся коров характеризовалось интенсивным ростом во все периоды выращивания. Анализ продуктивных качеств и воспроизводительной способности симментальского скота в стаде ООО «Шэру» Кабардино-Балкарской Республики свидетельствует о налаженной селекционно-племенной работе и воспроизводстве стада, возможностях дальнейшего роста продуктивности и повышения рентабельности производства молока.

avvb_2022_03.indd 60 20.09.2022 12:19:20

Summary. *The purpose of the research is to study the productive and reproductive qualities of Simmental cattle in the conditions of the Kabardino-Balkarian Republic, imported from the Saratov region. The object and place of research: the breeding stock of the Simmental breed, owned by LLC "Sharu" of the Kabardino-Balkarian Republic. The productive and reproductive qualities of cows were analyzed based on the materials of zootechnical and breeding records, as well as using research methods generally accepted in zootechnics. It was found that out of the entire breeding stock of animals, the representation of the elite-record class was dominant, to which 85.8 % were attributed, the remaining 14.2 % were individuals of the elite class. For all groups of first-born heifers, milk yield was registered at the level of 5128 kg with a fat content in milk of 3.9 %, protein – 3.39 %, the amount of milk fat of 199.6 kg and milk protein – 173.2 kg, and regardless of group affiliation, milk yield for lactation of first-born heifers significantly exceeded the minimum requirements for cows of the Simmental breed of the corresponding lactation.The largest milk production for every 100 kg of live weight of a cow was demonstrated by representatives of the Marl line 2122 – 910 kg. At the same time, the latter turned out to be more fatty and protein-dairy, in which these indicators were higher on average by 0.05–0.14 and 0.04–0.09 abs. percent. accordingly. Regardless of the dairy productivity of groups of cows, all livestock differed in optimal values of reproductive capacity: the service period was 81–108 days and the interbody interval was 358–388 days. The offspring of calved cows were characterized by intensive growth during all periods of cultivation. The analysis of the productive qualities and reproductive ability of Simmental cattle in the herd of LLC "Sharu" of the Kabardino-Balkarian Republic testifies to the well-established breeding work and reproduction of the herd, the possibilities of further productivity growth and increasing the profitability of milk production.*

Введение

Одной из самых распространенных пород крупного рогатого скота комбинированного направления продуктивности, разводимой на территории нашей страны, США и Европы, является симментальская, которая приспособлена к содержанию практически на всех континентах планеты. Вместе с тем генетический потенциал продуктивности животных этой породы реализуется неодинаково вследствие различий в племенной ценности, кормообеспеченности, технологиях содержания и прочих факторов.

В пределах Российской Федерации симментальский скот улучшается как с использованием генофонда российской селекции, так и путем использования семени родственных популяций зарубежной селекции и голштинов, преимущественно красно-пестрой масти.

Использование племенных ресурсов из Австрии и Германии в стадах симментальской породы российской селекции экономически выгодно [5, 14]. Показатели молочной продуктивности дочерей быков зарубежной селекции выше, чем у сверстниц российского происхождения, в среднем по удою на 185,2 кг, содержанию жира в молоке – на 0,04 % и белка – на 0,01 % [4].

Анализ продуктивных качеств коров симментальской породы в племенных репродукторах Белгородской области свидетельствует о высоком генетическом потенциале молочности [2]. Эти животные демонстрируют продуктивность от 5860 кг молока по первой лактации до 6930 кг – по третьей с достаточно высокой жирно- и белковомолочностью.

Наличие родственных племенных популяций симментальского скота в нашей стране, завезенных из Австрии, Германии и др. стран, обусловлено выстроенной общей программой разведения в этих странах, учитывающей экономически важные селекционные признаки. Так, наряду с производством молока и мяса программой предусмотрено внедрение оценки по функциональным качествам скота (фитнес-индекс или индекс здоровья), в первую очередь, по таким, как воспроизводство и продуктивное долголетие, или в соотношении молоко/мясо/фитнес – 38/16/46 [10, 18].

Уровень продуктивности племенного скота симментальской породы в Республике Башкортостан составляет 4834 кг, что вызывает необходимость сохранения и совершенствования хозяйственно полезных признаков этих животных как одних из наиболее приспособленных к природно-климатическим и кормовым условиям региона [1]. Достичь дальнейшего увеличения продуктивных особенностей симменталов предлагается путем внутрипородной селекции, а также скрещиванием с более отселекционированным по молочности и технологичности вымени голштинским скотом.

Как известно в селекционной работе с молочным скотом предпочтение отдается животным, сочетающим высокую молочную

avvb_2022_03.indd 61 20.09.2022 12:19:20

продуктивность и хорошие воспроизводительные качества [3, 11]. О высоких продуктивных и воспроизводительных качествах симментальского скота свидетельствуют исследования, проведенные как в нашей стране, так и за рубежом [6, 8, 9]. Вместе с тем, проведенный анализ воспроизводительных качеств симментальских коров разных зональных типов показал, что между ними существуют достоверные различия по возрасту первого осеменения, продолжительности сервис-периода и межотельного периода [13]. При этом средние значения сервис-периода выше оптимального значения во всех зональных типах, что привело к повышению длительности межотельного периода по сравнению с рекомендуемым значением. Высокое разнообразие признаков воспроизводительных качеств в стадах с высокой численностью говорит о том, что продолжительность сервис- и межотельного периодов можно сократить, введя мониторинг состояния коров во время беременности и после отела.

Проявление хозяйственно ценных признаков крупного рогатого скота напрямую зависит от адаптации их в зоне разведения, взаимодействия с окружающей средой [12, 15–17], в частности с кормопроизводством [19].

Цель исследований – изучить продуктивные и воспроизводительные качества симментальского скота в условиях Кабардино-Балкарской Республики, завезенного из Саратовской области.

Материал и методы исследований

Объект и место исследований: маточное поголовье симментальской породы, принадлежащее ООО «Шэру» Кабардино-Балкарской Республики.

Структура рациона лактирующих коров по питательности составляла (%): грубые корма – 17, сочные – 37, концентрированные – 31 и отходы технического производства (патока) – 15. Животные были постоянно обеспечены солью и мелом в необходимом количестве. Первотелки в течение всей лактации были

Таблица 1

Породный и классный состав крупного рогатого скота симментальской породы

Группа животных	Номер строки	Всего пробонитировано, гол.	В том числе				
			Распределено по породности, голов		Распределено по классам, голов		
			Чистопородные и 4 поколения	3 поколения	Элита-рекорд	Элита	1 класс
Всего КРС	1	141	141		121	20	
В том числе быки-производители	2						
Ремонтные бычки от 10 до 18 мес.	3						
Нетели	4	40	40		30	10	
Телки в возрасте 10–12 мес.	5						
Телки в возрасте 12–18 мес.	6						
Телки старше 18 мес.	7						
Коровы	8	101	101		91	10	

avvb_2022_03.indd 62 20.09.2022 12:19:20

Таблица 2

Молочная продуктивность первотелок симментальской породы

Группа первотелок по удою за лактацию	n	%	Удой, кг	Массовая доля жира в молоке, %	Выход молочного жира, кг	Массовая доля белка в молоке, %	Выход молочного белка, кг	Живая масса, кг
3501–4000	11	10,9	3732±159	4,05±0,03	151,1±6,1	3,46±0,03	129,1±5,2	613±7,8
4001–4500	18	17,8	4256±139	3,98±0,03	169,4±5,3	3,45±0,03	146,8±4,6	628±5,6
4501–5000	9	8,9	4771±187	3,94±0,04	188,0±6,8	3,42±0,04	163,2±5,7	639±8,6
5001–5500	28	27,7	5302±135	3,88±0,02	205,7±5,0	3,39±0,02	179,7±4,2	652±4,9
5501–6000	19	18,8	5734±154	3,84±0,03	220,2±5,8	3,33±0,03	190,9±5,0	669±6,2
6001–6500	16	15,8	6246±202	3,82±0,03	238,6±7,4	3,31±0,03	206,7±6,3	675±7,4
X	101	100	5128	3,90	199,6	3,39	173,2	649

обеспечены питательными веществами на уровне 55 ц энергетических кормовых единиц и 570 кг переваримого протеина на голову.

Продуктивные и воспроизводительные качества коров анализировали по материалам зоотехнического и племенного учета, а также с использованием общепринятых в зоотехнии методов исследований.

Учет удоя проводился ежемесячно, массовая доля жира и белка в молоке определялась с использованием анализатора качества молока «Лактан 1-4М». Количество молочного жира и белка за лактацию рассчитывали по общепринятым в зоотехнии формулам. Живую массу коров изучали на 2–3 месяцах лактации на основании промеров тела – обхват груди за лопатками и косой длины туловища – по таблице Клювер-Штрауха. Индекс молочности определяли путем отношения удоя за лактацию к живой массе.

От отелившегося поголовья коров у молодняка изучена живая масса при рождении, в возрасте 6, 10, 12, 16 и 18 месяцев. Среднесуточные приросты живой массы телок и бычков как в отдельные возрастные периоды, так и за весь период выращивания рассчитаны по данным живой массы на основании общепринятой формулы.

Схема кормления телок до 6-месячного возраста в стойловый период предусматривала выпойку цельного молока в количестве 350 кг, потребление 180 кг концентратов, 240 кг силоса и 300 кг сена. За весь период выращивания телок им было задано 29 ц энергетических кормовых единиц и 320 кг переваримого протеина на голову, бычков – 38 ц энергетических кормовых единиц и 420 кг переваримого протеина.

Полученный цифровой материал обработан биометрически [7].

Результаты исследований и обсуждение

Сведения о породном и классном составе крупного рогатого скота симментальской породы приведены в таблице 1.

Все подопытное маточное поголовье стада симментальской породы является чистопородным и (или) IV поколения. Доминирующее количество животных относится к классу элита-рекорд. Из всего маточного поголовья к нему отнесено 85,8 %, остальные 14,2 % – особи класса элита. Распределение на классы среди возрастных групп имеет некоторые отличия. Так, если из всего поголовья коров к классу элита-рекорд отнесено 90,1, то по нетелям таких животных 75,0 %, а с классом элита – 9,9 и 25,0 % соответственно.

Данные о молочной продуктивности коров по первой законченной лактации свидетельствуют о достаточно высокой продуктивности (табл. 2). Так, средний удой в среднем по всем группам составил 5128 кг с содержанием жира в молоке 3,9 %, белка – 3,39 %, количество молочного жира 199,6 кг и молочного белка 173,2 кг.

Коров с удоем выше 5 000 кг имелось в стаде 63 головы или 62,4 %, в том числе

avvb_2022_03.indd 63 20.09.2022 12:19:20

с удоем более 6 000 кг – 16 голов или 15,8 %. Наибольшее количество животных (27,7 %) из всех групп первотелок характеризовались удоем 5 302 кг при содержании жира в молоке 3,88 % и белка – 3,39 % и по своим значениям занимали промежуточное положение между крайними значениями признаков, уступая при этом группе первотелок с уровнем удоев 6 001–6 500 кг на 944 кг молока (P>0,999). В целом приведенные данные удоя как отдельно по группам, так по среднему значению всех групп значительно вышеминимальных требований для коров симментальской породы по первой лактации (2 800 кг). Наличие первотелок с удоем менее 4 500 кг в количестве 29 голов создает предпосылки для дальнейшего увеличения продуктивности стада путем целенаправленного отбора и подбора по величине удоя. Следует отметить, что с увеличением удоев жирномолочность подопытного поголовья снижается. Так, у самой низкопродуктивной группы первотелок стада (3 501–4 000 кг молока за лактацию) среднее содержание жира в молоке составило 4,05 % против 3,82 % (P>0,999) – у самой продуктивной группы (6 001–6 500 кг). Аналогичная тенденция имела место по содержанию белка в молоке. Высокие качественные показатели молока позволяют производить молочные продукты высокой пищевой ценности с наименьшими затратами на единицу продукции. Группа первотелок с максимальными удоями ожидаемо характеризовалась наибольшим выходом молочного жира и белка за лактацию, что обусловлено высокой обильномолочностью этих животных. Так, количество этой продукции оказалось выше на 87,5 и 77,6 кг (P>0,999) соответственно, чем у сверстниц из группы 3 501–4 000 кг молока.

Распределение коров по линейной принадлежности и характеристика их продуктивных качеств представлены в таблице 3.

Дифференциация коров на линии свидетельствует о превалирующей доле животных, принадлежащих к линии Рефлекшн Соверинга 198998 – 65 гол. или 64,4 % от общего поголовья. К линии Фасадника 642 отнесено 19 гол. или 18,8 %. Незначительное количество коров отнесено к линиям Флориана 374 и Мергеля 2122, на долю которых приходилось 17 гол. или 16,8 %. Вместе с тем следует отметить, что особи самой малочисленной линии – Мергеля 2122 (8 гол.) – характеризовались высокой молочностью, которая достигала в среднем 6 024 кг молока против 5 012 (P>0,99) и 5 040 (P>0,999) кг соответственно у сверстниц линий Фасадника 642 и Рефлекшн Соверинга 198998. Животные линии Флориана 374 по среднему удою за лактацию приближались к особям линий Фасадника 642и Рефлекшн Соверинга. В то же время последние оказались более жирно- и белковомолочными, у которых эти показатели были выше в среднем на 0,05–0,14 и 0,04–0,09 абс. проц. соответственно.Наибольшее производство молока на каждые 100 кг живой массы коровы демонстрировали представительницы линии Мергеля 2122 – 910 кг, наименьшее – линий Фасадника 642 (P>0,99) и Рефлекшн Соверинга 198998 (P>0,999) – 770 и 780,2 кг соответственно.

Таблица 3

Продуктивность первотелок, принадлежащим к разным линиям симментальской породы

Линия	n	Живая масса на 2–3 мес лактации, кг	Удой за лактацию, кг	Индекс молочности, кг	Массовая доля жира в молоке, %	Массовая доля белка в молоке, %
		$X \pm m_x$	$X \pm m_x$	$X \pm m_x$	$X \pm m_x$	$X \pm m_x$
Рефлекшн Соверинг 198998	65	646±1,9	5040±121	780,2±17,6	3,91±0,02	3,40±0,02
Фасадник 642	19	651±3,0	5012±187	770,0±26,7	3,94±0,04	3,41±0,03
Флориан 374	9	654±4,1	5208±254	796,3±35,1	3,86±0,04	3,36±0,04
Мергель 2122	8	662±4,5	6024±221	910,0±30,5	3,80±0,03	3,32±0,03
По стаду:	101	649	5128	790,0	3,90	3,39

avvb_2022_03.indd 64 20.09.2022 12:19:20

Таблица 4

Показатели воспроизводительной способности в зависимости от удоя коров

Уровень удоя, кг	Межотельный интервал, дней	Сервис-период, дней	Коэффициент воспроизводительной способности, ед.
< 5000	358	81	1,02
5001–6000	379	100	0,96
6001–7000	388	108	0,94

Коровы линии Флориана 374 по значениям индекса молочности занимали промежуточное положение между крайними значениями, уступая животным линии Мергеля в среднем на 113,7 кг (P>0,95) и превосходя особей других линий – на 16,1–26,3 кг.

Данные о взаимосвязи сервис- и межотельного периодов и продуктивности коров приведены в таблице 4.

Независимо от молочной продуктивности групп коров все поголовье отличалось оптимальными значениями воспроизводительной способности. При прочих равных условиях с увеличением удоя от 5 000 до 6 000 кг межотельный интервал увеличился на 21 день по сравнению с группой, демонстрировавшей удои до 5 000 кг, а при дальнейшем увеличении – свыше 6 000 и до 7 000 кг – на 30 дней. Продолжительность сервис-периода при повышении удоя увеличилась на 19 и 27 дней соответственно. К концу 3-месячного сервис-периода все поголовье было осеменено.

Данные, характеризующие стельность коров (п = 90), приведены в таблице 5.

Наибольшее количество коров было осеменено при первичном осеменении – 65 %. В дальнейшем – во второй раз – плодотворно осеменено 20 % и в третий – 15 %.

Материалы о возрастном изменении живой массы молодняка симментальской породы приведены в таблице 6.

Хозяйство ориентируется на интенсивные методы выращивания молодняка, которые позволяют достигать высоких значений живой массы.

Новорожденные телята характеризовались следующими значениями живой массы: телки – 30 кг, бычки – 33 кг. К окончанию молочного периода выращивания половой диморфизм по интенсивности роста увеличился и достиг 31 кг (P>0,999). К 10-месячному возрасту различия по живой массе между телками и бычками составили в среднем 51 кг (P>0,999), к годовалому возрасту – 64 кг (P>0,999). В последующие полгода бычки достигли живой массы, превышающей значения телок в среднем на 104 кг (P>0,999). Независимо от половой принадлежности молодняка, полученные значения живой массы в 10-месячном и последующих возрастах, значительно превышали минимальные требования к живой массе телок и бычков симментальской породы. Так, если значения живой массы телок в возрасте 10 месяцев были выше минимальных требований к породе на 13,6 %, то к концу выращивания – на 14,6 %, бычков – на 13,6 и 10,2 % соответственно.

Более высокую интенсивность роста бычков подтвердили среднесуточные приросты живой массы. В период от рождения до 6-месячного возраста это превосходство над

Таблица 5

Уровень оплодотворяемости коров, %

Показатели	№ осеменения							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Оплодотворяемость от осеменения	65	20	15	-	-	-	-	-
Количество стельных коров с нарастающим итогом	65	85	100	-	-	-	-	-

avvb_2022_03.indd 65 20.09.2022 12:19:20

Таблица 6

Живая масса телок и бычков стада

Показатель	Возраст, месяцев					
	при рождении	6	10	12	16	18
Живая масса, кг ($X \pm m_x$): телки (n=45) бычки (n=45)	30±0,27 33±0,23	181±1,1 212±1,3	284±2,2 335±2,6	329±3,0 393±3,5	408±4,6 497±5,2	447±5,0 551±5,8
Минимальные требования к живой массе по породе, кг: телки бычки	- -	- -	250 295	290 350	360 450	390 500
В % от минимальных требований по живой массе, кг: телки бычки	- -	- -	113,6 113,6	113,4 112,3	113,3 110,4	114,6 110,2
Среднесуточный прирост живой массы за период, г ($X \pm m_x$): телки бычки	- -	830±5,8 983±6,4	844±6,3 1008±7,0	738±6,0 951±7,6	653±5,6 860±6,	639±6,8 885±8,4

телками составило в среднем 153 г (P>0,999), 6–10 месяцев – 164 г (P>0,999), 10–12 месяцев – 213 г (P>0,999), 12–16 месяцев – 207 г (P>0,999) и 16–18 месяцев – 246 г (P>0,999). За весь период выращивания – от рождения до 18-месячного возраста – интенсивность роста бычков составила 949 г против 764 г – у телок.

Заключение

Полученные результаты исследований свидетельствуют о высоком породном и классном составе маточного стада симментальской породы. В хозяйстве 85,8 % маточного поголовья отнесено к классу элита-рекорд. Установленная молочная продуктивность коров позволяет констатировать о дальнейшей возможности увеличения основных селекционируемых признаков. Показатели воспроизводительной способности молочного стада находятся в пределах зоотехнических норм и позволяют вести воспроизводство на должном уровне. Молодняк, полученный от маточного поголовья симменталов, демонстрирует интенсивный рост, что является залогом рентабельного ведения молочного производства.

Список литературы

1. Гизатуллин Р. С. Состояние племенной базы молочного скотоводства Республики Башкортостан / Р. С. Гизатуллин, Т. А. Седых // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2016. № 3. С. 55–59. DOI 10.12737/20338 URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=26600997

2. Заднепрянский И. П. Продуктивные и племенные качества молочного скота отечественной и зарубежной селекции / И. П. Заднепрянский, В. И. Гудыменко, В. В. Гудыменко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 6 (50). С. 96–99. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22872421

3. Кахикало В. Г. Влияние возраста первого отела коров черно-пестрой породы на показатели молочной продуктивности / В. Г. Кахикало, О. В. Назарченко, Л. А. Шабунин [и др.] // Главный зоотехник. 2015. № 5-6. С. 11–15. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=23325361

4. Конорев П. В. Молочная продуктивность симментальских коров / П. В. Конорев, Т. В. Громова // Фермер. Поволжье. 2019. № 7 (84). С. 88–91. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39322923

5. Никитина М. М. Молочное скотоводство Республики Хакасия: состояние и перспективы / М. М. Никитина // Зоотехния. 2020. № 4. С. 19–21. DOI: 10.25708/ZT.2020.11.56.005 URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43115843

6. Овсянникова Г. В. Потенциал развития и конкурентоспособность пород молочного скота в условиях Черноземья / Г. В. Овсянникова, А. В. Котарев, Н. И. Гридяева // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. 2014. № 3 (42). С. 79–86. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=23021771

7. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский. М.: Колос, 1969. 256 с.

8. Свяженина М. А. Молочное скотоводство Тюменской области / М. А. Свяженина, Л. Н. Викулова // Достижения науки и техники АПК. 2011. № 11. С. 56–58. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17067637

avvb_2022_03.indd 66 20.09.2022 12:19:20

9. Скоркина И. А. Влияние генотипа животных на воспроизводительные качества крупного рогатого скота / И. А. Скоркина, С. А. Ламонов // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2021. № 3 (66). С. 75–80. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46568660

10. Стрекозов Н. И. Оценка быков по качеству потомства и геному – основа успеха разведения пород молочного скота / Н. И. Стрекозов // Молочное и мясное скотоводство. 2018. №6. С. 10–12. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=36360121

11. Улимбашев М. Б. Воспроизводительная способность и иммунологический статус симментальского и помесного скота / М. Б. Улимбашев, А. С. Тхашигугова, Е. Р. Гостева // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2015. № 2. С. 82–91. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=23794251

12. Улимбашев М. Б. Оплодотворяемость и продуктивные качества крупного рогатого скота при разном уровне атмосферного давления / М. Б. Улимбашев, А. М. Хуранов, О. А. Краснова [и др.] // Российская сельскохозяйственная наука. 2020. № 1. С. 46–49. DOI: 10.31857/S2500-2627-2020-1-46-49 URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=42494642

13. Хамдан К. Сравнительная характеристика воспроизводительных качеств разных зональных типов симментальского скота в России / К. Хамдан, М. Ю. Гладких, О. В. Кузнецова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 1. С. 66–73. URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44803150

14. Юмагузин И. Ф. Влияние генотипа на пожизненные продуктивные и воспроизводительные качества симментальских коров / И. Ф. Юмагузин, М. Т. Сабитов, А. Л. Аминова [и др.] // Достижения науки и техники АПК. 2021. Т. 35. № 2. С. 52–55. DOI: 10.24411/0235-2451-2451-2021-10208 URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=45332108

15. Burrow H. M. Importance of adaptation and genotype x environment interactions in tropical beef breeding systems / H. M. Burrow // Animal. 2012. Vol. 6. No. 5. P. 729–740. DOI: 10.1017/S175173111200002X URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=18557000

16. Latawiec A. E. Intensification of cattle ranching production systems: socioeconomic and environmental synergies and risks in Brazil / A. E. Latawiec, B. B. N. Strassburg, H. N. Alves-Pinto [et al.] // Animal. 2014. Vol. 8. No. 8. P. 1255–1263. DOI: 10.1017/S1751731114001566 URL:https://www.researchgate.net/publication/264550277_Intensification_of_cattle_ranching_production_systems_Socioeconomic_and_environmental_synergies_and_risks_in_Brazil

17. Pritchard T. Genetic parameters for production, health, fertility and longevity traits in dairy cows / T. Pritchard, M. Coffey, R. Mrode [et al.] //Animal. 2013. Vol. 7. No. 1. P. 34–46.doi: 10.1017/S1751731112001401 URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23031504/

18. Sölkner J. Total merit indices in dual purpose cattle / J. Sölkner, J. Miesenberger, A. Willam [et al.] // Arch. Tierz., Dummerstorf. 2000 (43). No 6. P. 597–608. DOI: 10.5194/aab-43-597-2000 URL: https://www.researchgate.net/publication/242489349_Total_merit_indices_in_dual_purpose_cattle

19. Sun H. Z. Invited review: advances and challenges in application of feedomics to improve dairy cow production and health / H. Z. Sun, G. Plastow, L. L. Guan // Journal of dairy science. 2019. Vol. 102. № 7. P. 5853–5870. DOI: 10.3168/jds.2018-16126URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=41990331

Уважаемые коллеги!

Предлагаем вашему вниманию новый ДИСТАНЦИОННЫЙ курс «Работа с источниками ионизирующего излучения, ответственный за радиационную безопасность на предприятии, персонал группы "А"»!

!! Освоение данного курса необходимо для лицензирования рентгенкабинета !!

Подробнее о курсе: **http://invetbio.spb.ru/seminar_rgB.htm** Запись: **http://invetbio.spb.ru/seminar_registracia.htm**

avvb_2022_03.indd 67 20.09.2022 12:19:20

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-68-75
УДК 619:578.835.2:615.371.004.12:616-076
Ключевые слова: плазмида, липофектамин, вирус ящура, матричная РНК, 146S компонент.
Keywords: plasmid, lipofectamine, FMD virus, matrix RNA, 146S particles.

Доронин М. И., Михалишин Д. В., Гусева М. Н., Михалишин В. В., Жбанова Т. В., Пронин В. В.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ПЛАЗМИДЫ P JET 1.2 SF GFP-146S FMDV ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ ПРИ ОПОСРЕДОВАННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ 146S КОМПОНЕНТА ВИРУСА ЯЩУРА В СЫРЬЕ ДЛЯ ИНАКТИВИРОВАННЫХ ВАКЦИН

CONSTRUCTION OF THE PLASMID P JET 1.2 SF GFP-146S FMDV TO OBTAIN POSITIVE CONTROL FOR THE INDIRECT DETERMINATION OF THE CONCENTRATION OF THE 146S PARTICLES OF THE FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS IN THE RAW MATERIALS FOR INACTIVATED VACCINES

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., ведущий научный сотрудник, e-mail: doronin@arriah.ru
Doronin M. I., PhD in Biological Science, Leading Researcher, e-mail: doronin@arriah.ru
Михалишин Д. В., доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией, e-mail: mihalishindv@arriah.ru
Michalishin D. V., Doctor of Veterinary Science, Head of the Laboratory, e-mail: mihalishindv@arriah.ru
Гусева М. Н., к. б. н., старший научный сотрудник, e-mail: guseva_mn@arriah.ru
Guseva M. N., PhD of Biological Science, Senior Researcher, e-mail: guseva_mn@arriah.ru
Михалишин В. В., доктор ветеринарных наук, профессор, эксперт, e-mail: mihalishin@arriah.ru
Michalishin V. V., Doctor of Veterinary Science, Professor, Expert, e-mail: mihalishin@arriah.ru
Жбанова Т. В., кандидат биологических наук, заведующая аспирантурой, секретарь диссертационного совета, e-mail: zhbanova@arriah.ru
Zhbanova T. V., PhD of Biological Science, Head of Post-Graduate Study, Secretary of the Dissertation Council, e-mail: zhbanova@arriah.ru
Пронин В. В., доктор биологических наук, профессор, руководитель центра, e-mail: pronin@arriah.ru
Pronin V. V., Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Center, e-mail: pronin@arriah.ru

Аннотация. В данной статье рассмотрены основные моменты, касающиеся синтеза модифицированной плазмиды с помощью технологии Golgen Gate, трансфекции сконструированной кольцевой ДНК в клетки линии BHK-21/SUSP/ARRIAH для получения положительного контрольного образца таргетного участка 3D-гена матричной РНК вируса ящура при опосредованном контроле концентрации 146S компонента в сырье для изготовления инактивированных вакцин. Вектор назначения p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV сконструирован на основе плазмиды p Jet 1.2 sf, содержащей ген флуоресцирующего зеленого белка GFP, целевого участка кДНК вируса ящура (фрагмент 3D-гена в позициях 7639…7844 п. н.) с применением технологии высокопроцессивного клонирования Golden Gate и эндонуклеазы рестрикции BsaI. В ОТ-ПЦР-РВ с применением разработанных нами модифицированных праймеров синтезированы продукты реакции амплификации, содержащие требуемые адапторы. Проведена рестрикция по сайтам узнавания с формированием «липких» концов с последующим простым лигированием по принципу комплементарности синтезированных участков плазмиды и таргентного фрагмента. Осуществлен анализ сконструированного вектора ввода in silico с помощью рестриктазы BsmBI с получением трех фрагментов кДНК ожидаемых размеров: 2527, 162, 69 п. н. Проведена трансфекция клеток линии BHK-21/SUSP/ARRIAH in vitro полученной плазмидой p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV с помощью липофектамина 3000 и доказана эффективность данной процедуры опосредованно с помощью зеленой флуоресценции белка GFP, экспрессия которого проводилась за счет встроенной в клетки модифицированной плазмиды. Для тест-системы по опосредованному определению концентрации 146S компонента вируса ящура с разработанным положительным контролем мРНК в 95 %-ном доверительном интервале диагностическая чувствительность составила 99,57–100,00 %, диагностическая специфичность – 98,17–100 %, k-критерий – 1,000, прогностичность положительного результата – 100 %, прогностичность отрицательного результата – 100 %, общая точность – 99,65–100,00 %.

avvb_2022_03.indd 68 20.09.2022 12:19:20

Summary. *This article discusses the main points concerning the synthesis of a modified plasmid using Golgen Gate technology, its transfection into BHK-21/SUSP/ARRIAH cells to obtain a positive control sample of the target site of the 3D gene of the FMD virus matrix RNA with indirect control of the plasmid concentration 146S particles in raw materials for the production of inactivated vaccines. The target vector p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV is constructed on the basis of the plasmid p Jet 1.2 sf containing the gene of the fluorescent green protein GFP, the target region of the FMD virus cDNA (a fragment of the 3D gene at positions 7639...7844 bp) using the technology of highly efficient Golden Gate process cloning and BsaI restriction endonuclease. The amplification reaction products containing the necessary adapters were synthesized in real time RT-PCR using modified primers. Restriction was performed on recognition sites with the formation of "sticky" ends, followed by simple ligation according to the principle of complementarity of synthesized plasmid sections and target fragments. The constructed insertion vector in silico was analyzed using BsmBI restrictase to obtain cDNA fragments of the expected size: 2527, 162, 69 bp. BHK-21/SUSP/ARRIAH cells were transfected in vitro with the obtained plasmid p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV using lipofectamine 3000, and the effectiveness of this procedure was proved indirectly using green fluorescence of the GFP protein, the expression of which was carried out by a modified plasmid embedded in cells. For the test system for indirect determination of the concentration of the 146S particles of the FMD virus with developed positive mRNA control in the 95 % confidence interval, diagnostic sensitivity was 99.57–100.00 %, diagnostic specificity – 98.17–100 %, k-criterion – 1000, prognosticality of a positive result – 100 %, prognosticality of a negative result – 100 %, overall accuracy – 99.65–100.00 %.*

Введение

В последние годы в области молекулярной биологии произошел прорыв, связанный с открытием различных методов молекулярного клонирования, позволяющих создавать рекомбинантные молекулы нуклеиновых кислот, проводить трансфекцию различных клеток с помощью векторных конструкций с последующим управлением процессами репликации, транскрипции и трансляции белковых молекул. Новое направление позволяет исследовать механизмы экспрессии таргетных участков генома, отдельных интересующих генов, в том числе вирусов животных, особенности конструирования матричных РНК и белковых молекул [4].

Основным компонентом для высокопроцессивного клонирования является векторная система, позволяющая осуществлять трансфекцию таргетного фрагмента в клетку. Плазмидами являются двуцепочечные кольцевые небольшие по размерам молекулы ДНК, которые способны к автономному процессу репликации. Данные нуклеотидные последовательности включают в себя генные регуляторные элементы для управления механизмами экспрессии больших фрагментов ДНК [9].

Существует ряд плазмид, который обеспечивает процесс экспрессии матричных молекул РНК, в частности, p Jet 1.2 sf GFP. Данная плазмида является маркерной, поскольку содержит в своей структуре ген белка, способного к флуоресценции зеленым цветом (GFP). Представленная плазмидная ДНК может функционировать в бактериальных клетках и обладает устойчивостью к ампициллину (AmpR). Структуру pJet 1.2 sf GFP можно применять для встраивания в нее целевых фрагментов генов или группы генов между T7 promotor и рибозимом вируса гепатита дельта (HDV ribozyme). HDV представляет собой некодирующую молекулу РНК, обнаруженную в структуре данного вируса, которая необходима для репликации нуклеиновой кислоты и является единственным известным вирусом человека, который использует активность рибозима для заражения своего хозяина [17]. Данная особенность позволяет проводить синтез РНК нужной последовательности, которую в последующем можно применять в качестве контроля для проведения опосредованного количественного анализа с помощью известных молекулярно-биологических методов, в частности, ПЦР. В том случае, если применяется другой тип плазмид, то для аналогичной процедуры требуется использовать промотер U6 [2].

Схема молекулярного клонирования на первом этапе предполагает подбор оптимальной плазмиды, а также амплификацию и очистку таргетного участка молекулы нуклеиновой кислоты. Процесс вырезания целевого фрагмента проводят с применением эндонуклеаз рестрикции, либо синтезируют из отдельных нуклеотидов химическим способом. На следующем этапе осуществляют процесс линеаризации с помощью рестриктаз.

avvb_2022_03.indd 69 20.09.2022 12:19:21

Свободные концы разрезанной плазмиды и амплифицированного таргетного участка модифицируют с помощью различных нуклеотидных «присадок», а затем проводят лигирование с использованием ДНК-лигаз, рекомбиназ или механизмов репарации *in vivo*. Сконструированную плазмиду подвергают трансформированию в клетку [19] (рисунок 1).

Одним из удобных и современных подходов в области молекулярного высокопроцессивного клонирования является технология Golden Gate, которая дает возможность синтезировать множественные упорядоченные вставки нуклеиновой кислоты благодаря эндонуклеазам рестрикции II типа и ДНК-лигазе бактериофага Т4 [7]. Эндонуклеазы рестрикции представляют собой ферменты, которые определяют специфические участки в ДНК и вносят разрывы в сайте узнавания, либо на определенном расстоянии от него. При этом рестриктазы проводят гидролиз фосфодиэфирной связи в середине молекулы нуклеиновой кислоты, что важно для проведения молекулярного клонирования [14, 15]. Данные ферменты способны разрезать молекулу ДНК на определенном расстоянии от сайта узнавания и, тем самым, формировать непалиндромные липкие концы. За счет возможности получить любой из 256 различных комбинаций «липких» концов размером по 4 нуклеотидных остатков становится возможным конструирование молекулы нуклеиновой кислоты из большого числа фрагментов. Технология Golden Gate позволяет конструировать более 35 участков с эффективностью экспрессии не менее 95 %. При наличии меньшего количества вставок точность метода возрастает до 100 % [8]. В протоколах представленной технологии применяют следующие эндонуклеазы рестрикции: BsaI, Bsa-HF-v2, BbsI, BbsBI-v2, Esp3I, SapI, BtgZI, BspQI. Наиболее часто в лабораторной практике используют рестриктазу BsaI, которая получена на основе штамма *E. coli*, несущего клонированный и модифицированный ген BsaI *Bacillus stearothermophilus* в позициях 6-55 н. о. Одна единица активности (е. а.) данного фермента представляет собой количество рестриктазы, необходимое для расщепления 1 мкг ДНК плазмиды pXba за 1 час при температуре 37±0,5 °С в реакционной смеси объемом 50 мкл [6, 10, 11]. Сайт узнавания, активность в NEB-буфере, а также рекомендуемый буферный раствор, температуры инкубации и инактивации для эндонуклеазы рестрикции BsaI представлены на рисунке 2.

Готовую плазмиду трансфицируют в клетки для последующей экспрессии генов. В последние годы в научных публикациях [5, 8, 16] появилась информация о применении для осуществления данной процедуры липофектамина. Он представляет собой липидные субъединицы, которые могут образовывать липосомы в водной среде, которые захватывают плазмиды. Липофектамин состоит из смеси DOSPA (2,3-диолеоилокси-N- [2(сперминкарбоксамидо) этил]-N, N-диметил-1-пропаниминий трифторацетата) и липид DOPE в соотношении 3:1. Данный комплекс соединяется с отрицательно заряженными молекулами нуклеиновых кислот, позволяя им преодолевать электростатическое отталкивание от клеточной мембраны [5, 20]. Для того чтобы клетка могла экспрессировать трансген, нуклеиновая кислота должна достичь ядра клетки. Однако трансфицированный генетический материал может быть вовсе разрушен где-то в процессе доставки в цитоплазме. В делящихся клетках липосома в комплексе с липофектамином может успешно достигать ядра, проходя через ядерную оболочку после митоза [5, 12].

В последние годы в мировой и отечественной практике стали широко используются методы молекулярно-биологического анализа, в частности, обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) для количественного анализа содержания вируса в суспензии. Так, в 2017 г. разработан метод ОТ-ПЦР-РВ для определения концентрации 146S иммуногенного компонента вируса ящура в сырье для изготовления вакцин [3]. Для повышения точности проводимого анализа необходимо применять дополнительный положительный контрольный образец таргетного фрагмента матричной РНК вируса ящура, для получения которого требуется

avvb_2022_03.indd 70 20.09.2022 12:19:21

использовать методы молекулярного клонирования.

Цель исследования заключалась в разработке и конструировании плазмиды pJet 1.2 sf GFP-146S FMDV для получения положительного контроля при опосредованном определении концентрации 146S компонента вируса ящура в сырье для инактивированных вакцин.

Материалы и методы

Вирус. В работе использовали вирус ящура штамма А/Забайкальский/2013, который является производственным и депонирован в Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Выделение РНК осуществляли с помощью фенол-хлороформной экстракции по стандартному протоколу [18].

Обратная транскрипция. Реверсию РНК вируса ящура проводили с применением набора для проведения реверсии с гексамерами (Applied Biosystems).

ПЦР. Реакцию амплификации целевого фрагмента кДНК вируса ящура осуществляли в соответствии с требованиями Руководства МЭБ (OIE) [13].

Выделение продуктов ПЦР из агарозного геля. Экстракцию ампликонов из 1,0 %-ного агарозного геля проводили с использованием набора реагентов GeneJET Gel Extraction.

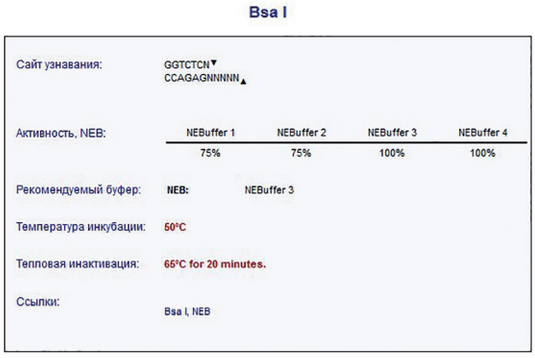
Плазмида. В качестве вектора встраивания применяли плазмиду pJet 1.2 sf GFP (размер 2499 п. н., рисунок 3).

Рестрикция. Разрезание фрагментов кДНК и кольцевой плазмиды проводили с помощью рестриктазы Bsa I со следующими сайтами рестрикции и разрезания: GGTCTCNNNNN.

Лигирование фрагментов по «липким» концам осуществляли при смешивании участка кДНК вируса ящура и линеаризированного вектора назначения.

Гель-электрофорез. Для подтверждения факта правильной сборки плазмиды проводили ее рестрикцию с помощью фермента BsmBI. Проводили электрофорез в 1%-ном агарозном геле in silico в программе

Рис. 1. Общая классическая схема молекулярного клонирования (с сайта: https://www.skygen.com, схема модифицирована)



Bsa I

Сайт узнавания:	GGTCTCN▼ CCAGAGNNNNN▲			
Активность, NEB:	NEBuffer 1	NEBuffer 2	NEBuffer 3	NEBuffer 4
	75%	75%	100%	100%
Рекомендуемый буфер:	NEB:	NEBuffer 3		
Температура инкубации:	50°C			
Тепловая инактивация:	65°C for 20 minutes.			
Ссылки:	Bsa I, NEB			

Рис. 2. Общая характеристика рестриктазы BsaI (с сайта: http://molbiol.edu.ru)

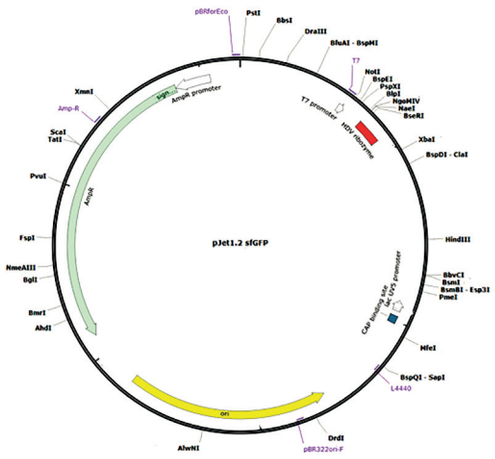


Рис. 3. Карта плазмиды pJet 1.2 sf GFP с сайтами рестрикции и указанием позиций T7 promoret и HDV ribozime

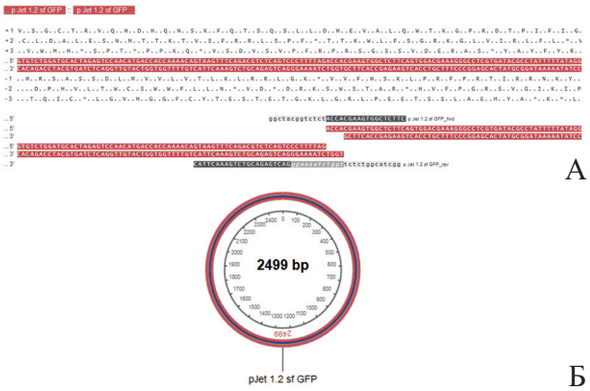


Рис. 4. «Липкие» концы в составе плазмиды p Jet 1.2 sf GFP. А – нуклеотидная последовательность, Б – плазмида

avvb_2022_03.indd 71 20.09.2022 12:19:21

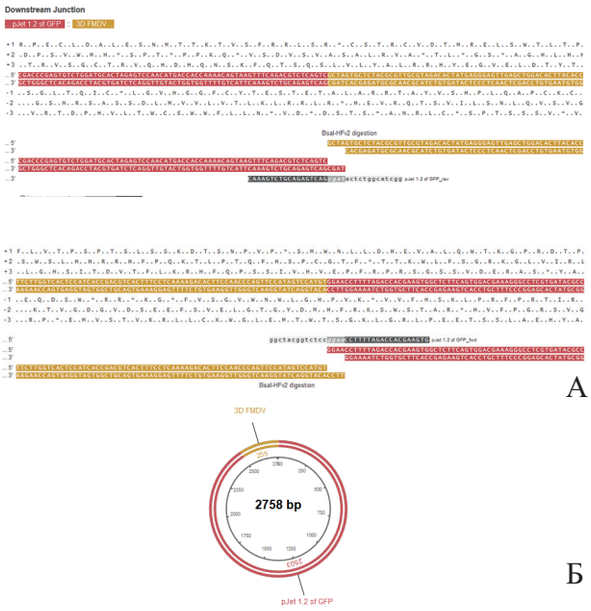
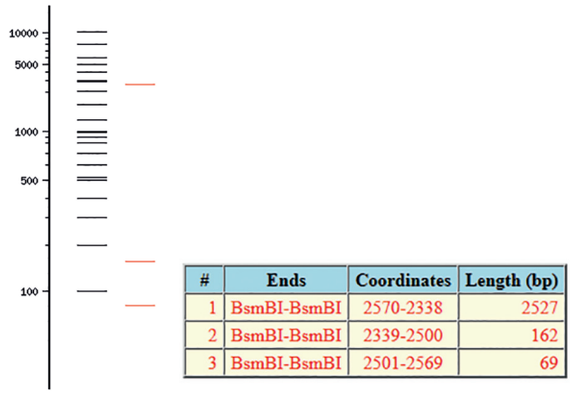


Рис. 5. Демонстрация липких концов и результатов лигирования двух фрагментов: плазмиды и участка кДНК вируса ящура (3D-ген). А – нуклеотидная последовательность, Б – собранная плазмида p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV



#	Ends	Coordinates	Length (bp)
1	BsmBI-BsmBI	2570-2338	2527
2	BsmBI-BsmBI	2339-2500	162
3	BsmBI-BsmBI	2501-2569	69

Рис. 6. Результаты гель-электрофореза после разрезания сконструированной плазмиды p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV рестриктазой BsmBI

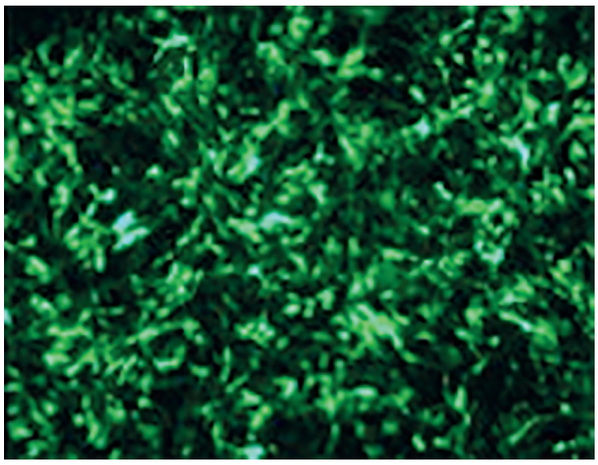


Рис. 7. Флуоресценция клеток линии BHK-21/SUSP/ARRIAH после трансфекции сконструированной плазмиды p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV

NEB Cutter. Ожидаемые размеры фрагментов следующие: 2527, 162, 69 п. н.

Трансфекция клеток. Сконструированный вектор использовали для трансфекции клеток линии BHK-21/SUSP/ARRIAH, которая депонирована в Специализированной коллекции культур клеток ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных» Института цитологии РАН. Для данной процедуры применяли трансфекционный коммерческий препарат липофектамин 3000 (Invitrogen).

Статистическая обработка данных. Определяли следующие диагностические показатели исследуемых тест-систем: диагностическая чувствительность (DSe), диагностическая специфичность (DSp), k-критерий (индекс Каппа Коэна), прогностичность положительного результата (PPV), прогностичность отрицательного результата (NPV), диагностическая точность (DAc) в соответствии с общепринятыми методиками [1].

Результаты исследований и обсуждение

Конструирование плазмиды с целевым участком кДНК вируса ящура для получения контрольной мРНК. В данной работе проводили исследования по конструированию плазмиды, содержащей таргетный фрагмент нуклеиновой кислоты вируса ящура, с целью получения положительного контрольного образца для определения концентрации 146S компонента вируса в сырье для вакцин. Для синтеза модифицированной плазмиды p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV использовали технологию высокопроцессивного клонирования Golden Gate.

Проводили исследования по конструированию модифицированного участка 3D-гена кДНК вируса ящура в позициях 7639…7844 п. н. (дизайн: CTATGAGGGAGTTGAGCTGGACACTTAC ACCATGATCTCCTACGGAGACGACATCG TGGTTGCAAGTGATTACGATCTGGACTT CGAGGCCCTCAAGCCTCACTTCAAATCT CTTGGTCAAACCATCACCCCAGCTGACA AAAGCGACAAAGGTTTTGTTCTTGGTC ACTCCATCACCGACGTCACTTTCCTCAA AAGACACTTCC). Именно для амплификации данного участка кДНК были выше разработаны олигонуклеотидные праймеры.

avvb_2022_03.indd 72 20.09.2022 12:19:21

На концы выбранной последовательности в процессе реакции амплификации «пришивали» следующие адапторные последовательности:

5´-конец: 5´ GTA GGT CTC AGCAT 3´

3´-конец: 5´ GTA GGT CTC TAAGG 3´ (- сайты рестрикции фермента Bsa I).

Представленные адапторы позволили сформировать «липкие» концы, которые образуются после обработки рестриктазой класса II S. Применяли эндонуклеазу рестрикции BsaI с NEBuffer 3 и активностью 1 е. а. на реакцию.

Адаптор, расположенный на 3´-конце, размещали с учетом функции BioEdit «реверсия-комплементарность» в направлении 5´→3´.

Для синтеза модифицированной последовательности проводили реакцию амплификации с применением двух следующих праймеров (подчеркнуты участки для комплементарности с последовательностями плазмиды):

F: 5´- GTA GGT CTC A<u>GCAT</u> GTGCTCTACGCGTTGCGTAGACA -3´

R: 5´- GTA GGT CTC T<u>AAGG</u> ACATGGACTATGGAACTGGGTT -3´

В результате получили продукты ПЦР, содержащие таргетный участок и адапторы:

5´GTAGGTCTCA<u>GCTA</u>GTGCTCTACGC GTTGCGTAGACA

CTATGAGGGAGTTGAGCTGGACACTT ACACCATGATCTCCTACGGAGACGACAT CGTGGTTGCAAGTGATTACGATCTGGAC TTCGAGGCCCTCAAGCCTCACTTCAAAT CTCTTGGTCAAACCATCACCCCAGCTGA CAAAAGCGACAAAGGTTTTGTTCTTGGT CACTCCATCACCGACGTCACTTTCCTCA AAAGACACTTCCAACCCAGTTCCATAGT CCATGT<u>GGAA</u>TGAGACCTAC 3´

Полученные концевые участки нуклеотидов в целевой последовательности и плазмиде отражены на рисунках 4, 5.

Проводили электрофорез для синтезированных ампликонов с их дальнейшим выделением и очисткой.

Плазмиду pJet 1.2 sf GFP и продукты ПЦР обрабатывали рестриктазой BsmBI, в результате этого формировались «липкие» 5´- и 3´-концы. После соединения в одной пробирке всех компонентов (плазмида и модифицированный кодирующий фрагмент) происходило их лигирование по «липким» концам (рисунок 5).

С помощью программы NEBCutter для разрезания плазмид и линейных ДНК рестриктазами получили электрофореграмму с тремя фрагментами (первый фрагмент: 2570-2338 п. н., 2527 п. н., второй фрагмент: 2339-2500 п. н., 162 п. н., третий фрагмент: 2501-2569 п. н., 69 п. н.), как отражено на рисунке 6.

Полученной плазмидой провели трансфекцию клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH *in vitro* с помощью липофектамин 3000 для синтеза в процессе экспрессии генов плазмиды, в том числе участка 3D-гена мРНК вируса ящура. Данный липофильный комплекс позволяет увеличить эффективность плазмидной ДНК в клеточные линии in vitro путем липофекции [5]. Суспензию полученных клеток после трансфекции культивировали в течение 48 ч, подвергали центрифугированию и полученный супернатант использовали в качестве положительного контроля для ОТ-ПЦР-РВ, поскольку он содержал мРНК вируса ящура. Доказательством трансфекции клеток являлось их зеленое свечение благодаря флуоресцирующему белку GFP, экспрессия которого проводилась за счет встроенной плазмиды p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV (рисунок 7).

На заключительном этапе работы проводили ОТ-ПЦР-РВ с разработанным положительным контролем на основе сконструированной плазмиды p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV для опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура в сырье для инактивированных вакцин. Определили диагностические показатели для данного способа. Для оценки диагностической чувствительности предложенного теста для ящура исследовали 850 образцов суспензий вируса ящура (1 700 000 л сырья), которые являлись заведомо положительными по данным исследования в РСК. Концентрация 146S компонента в данных пробах находилась в диапазоне 0,1–3,0 мкг/мл. Для определения диагностической специфичности исследовали 200 отрицательных образцов суспензий клеточной линии BHK-21/SUSP/ARRIAH, не инфицированных

avvb_2022_03.indd 73 20.09.2022 12:19:21

вирусом ящура. Постановку анализа проводили в соответствии с ранее описанной методикой [3]. При интерпретации результатов исследования положительными считали пробы, которые содержат 146S компонент, отрицательными – пробы, в которых вирус ящура отсутствует и в РСК не формируется профиль для структурных компонентов. В результате в ОТ-ПЦР-РВ определили, что количество истинно положительных проб (a) – 850, количество ложноотрицательных (b) – 0, количество ложноположительных проб (c) – 0, количество истинно отрицательных (d) – 200. Пользуясь представленными выше статистическими методами анализа рассчитали, что Se составила 100 % (в 95 %-ном доверительном интервале: 99,57–100,00 %), Sp – 100 % (в 95 %-ном доверительном интервале: 98,17–100 %), k-критерий – 1,000, PPV – 100 %, NPV – 100 %, Ac – 100 % (в 95 %-ном доверительном интервале: 99,65–100,00 %).

Заключение

Сконструировали вектор назначения p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV на основе плазмиды p Jet 1.2 sf, содержащий ген флуоресцирующего зеленого белка GFP, целевого участка кДНК вируса ящура (фрагмент 3D-гена в позициях 7639…7844 п. н.) с применением технологии высокопроцессивного клонирования Golden Gate и эндонуклеазы рестрикции BsaI класса II S. В ОТ-ПЦР-РВ с применением модифицированных праймеров синтезированы продукты реакции амплификации, содержащие требуемые адапторы. Провели рестрикцию по сайтам узнавания с формированием «липких» концов с последующим простым лигированием по принципу комплементарности синтезированных участков плазмиды и таргентых фрагментов.

Осуществили анализ полученного вектора ввода in silico с помощью рестриктазы BsmBI с получением фрагментов кДНК ожидаемого размера: 2527, 162, 69 п. н.

Провели трансфекцию клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH in vitro полученной плазмидой p Jet 1.2 sf GFP-146S FMDV с помощью липофектамин 3000 и определили высокую эффективность данной процедуры опосредованным способом по детекции зеленой флуоресценции белка GFP, экспрессия которого проводилась за счет встроенной в клетки модифицированной плазмиды.

Доказали, что для тест-системы по опосредованному определению концентрации 146S компонента вируса ящура с применением разработанного положительного контроля в 95 %-ном доверительном интервале диагностическая чувствительность составила 99,57–100,00 %, диагностическая специфичность – 98,17–100 %, k-критерий – 1,000, прогностичность положительного результата – 100 %, прогностичность отрицательного результата – 100 %, общая точность – 99,65–100,00 %.

Список литературы

1. Васильева Л. А. Статистические методы в биологии, медицине и сельском хозяйстве: учеб. пособие / Л. А. Васильева. Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО РАН, 2007. 124 с.

2. Компания iGEM. Информация о разных последовательностях промоторов, терминаторов. URL: http://parts.igem.org/Promoters/Catalog. (Дата обращения: 17.05.2022).

3. Патент РФ № 2619878, G01M 33/58, C12Q 1/68. Способ определения концентрации 146S компонента вируса ящура в вирусосодержащем сырье для вакцины с применением метода ОТ-ПЦР-РВ: № 2016140460; заявл. 14.10.2016; опубл. 18.05.2017.

4. Ashwini M. Advances in Molecular Cloning / M. Ashwini, S. B. Murugan, S. Balamurugan // Mol Biol (Mosk). 2016, Jan-Feb. V. 50(1). P. 3–9.

5. Dalby B. Advanced Transfection with Lipofectamine Reagent: Primary Neurons, siRNA, and Tigh-Throughput Applications / B. Dalby, S. Cates, A. Harris [et al.] // Methods. 2004. V.33 (2). P. 95–103.

6. Dryden D. T. Nucleoside Triphosphate-Dependent Restriction Enzymes / D. T. Dryden, N. E. Murray, D. N. Rao // Nucleic Acids Research. 2001. V.29 (18). P. 3728–41.

7. Engler C. Golden Gate Cloning / C. Engler, S. Marillonnet // Methods Mol Biol. 2014. V. 1116. P. 119–131.

8. HamediRad M. Highly Efficient Single-Pot Scarless Golden Gate Assembly / M. HamediRad, S. Weisberg, R. Chao // ACS Synth Biol. 2019. V. 8(5). P. 1047–1054.

9. Lessard J. C. Molecular Cloning. / J. C. Lessard // Methods Enzymol. 2013; 529. P. 85–98.

10. Massey A. Recombinant DNA and Biotechnology: A Guide for Students / A. Massey, H. Kreuzer // Washington, D.C.: ASM Press. 2001. ISBN 1-55581-176-0.

11. Mierzejewska K. Structural Basis of the Methylation Specificity of R.DpnI / K. Mierzejewska, W. Siwek, H. Czapinska [et al.] // Nucleic Acids Research. 2014. V. 42 (13). P. 8745–54.

avvb_2022_03.indd 74 20.09.2022 12:19:21

12. Ninfa J. P. Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry and Biotechnology / J. P. Ninfa, D. P. Balou, M. Benore // Hoboken, N. J.: John Wiley & Sons. 2010. 341 p.

13. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris, 2018. Chapter 2.1.8.

14. Revolutionizing Biotechnology with Artificial Restriction Enzymes. Genetic Engineering and Biotechnology News. 10 February 2017. Retrieved 27 May 2021. (reporting on Programmable DNA-Guided Artificial Restriction Enzymes).

15. Roberts R. J. How Restriction Enzymes Became the Workhorses of Molecular Biology. / R. J. Roberts // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005. V. 102 (17). P. 5905–5908.

16. Roberts R. J. REBASE-enzymes and Genes for DNA Restriction and Modification / R. J. Roberts, T. Vincze, J. Posfai [et al.] // Nucleic Acids Research. 2007. V. 35 (Database issue): D269-70.

17. Snap Gene. pJet 1.2. // URL: https://www.snapgene.com/resources/plasmidfiles/?set=basic_cloning_vectors&plasmid=pJET1.2 (Дата обращения: 14.04.2022).

18. Vomelová I. Methods of RNA Purification. All ways (should) lead to Rome / I. Vomelová, Z. Vaníčková, A. Sedo // Folia Biol (Praha). 2009. V. 55(6). P. 243–251.

19. Weber E. A Modular Cloning System for Standardized Assembly of Multigene Constructs / E. Weber, C. Engler, R. Gruetzner [at al.] // PLoS One. 2011 Feb. V. 18;6(2):e16765.

20. Wu P. Recombinant T7 Phage with FMDV AKT-III Strain VP1 Protein is a Potential FMDV Vaccine / P. Wu, X. Yin, Q. Liu // Biotechnol Lett. 2021. V. 43(1). P. 35–41.

Исследование выполнено в рамках научного направления ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Ветеринарное благополучие». Исследование выполнено без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-75-83
УДК 619:578.835.2:615.371.004.12:616-076
Ключевые слова: титр антител против вируса ящура, жидкофазный непрямой вариант ИФА, штамм А №2269/ВНИИЗЖ/2015, генотип A/ASIA/G-VII
Keywords: titer of antibodies against FMD virus, liquid-phase indirect version of ELISA, strain A No.2269/ARRIAH/2015, genotype A/ASIA/G-VII

Доронин М. И., Луговская Н. Н., Михалишин Д. В., Клюкина Н. Д., Оковытая Т. В., Гочмурадов Ы. М.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА АНТИТЕЛ ПРОТИВ ВИРУСА ЯЩУРА ШТАММА А №2269/ВНИИЗЖ/2015 ГЕНОТИПА A/ASIA/G-VII С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОФАЗНОГО БЛОКИРУЮЩЕГО НЕПРЯМОГО ВАРИАНТА ИФА

DETERMINATION OF THE TITER OF ANTIBODIES AGAINST THE FMD VIRUS STRAIN A NO.2269/ARRIAH/2015 GENOTYPE A/ASIA/G-VII USING A LIQUID-PHASE BLOCKING INDIRECT VARIANT OF ELISA

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., ведущий научный сотрудник, докторант, e-mail: doronin@arriah.ru
Doronin M. I., PhD in Biological Science, Leading Researcher, Doctoral Student, e-mail: doronin@arriah.ru
Луговская Н. Н., к. б. н., ведущий научный сотрудник, e-mail: lugovskaya@arriah.ru
Lugovskaya N. N., PhD in Biological Science, Leading Researcher, e-mail: lugovskaya@arriah.ru
Михалишин Д. В., д. в. н., заведующий лабораторией, e-mail: mihalishindv@arriah.ru
Michalishin D. V., Doctor of Veterinary Science, Head of the Laboratory, e-mail: mihalishindv@arriah.ru
Клюкина Н. Д., к. в. н., старший научный сотрудник, e-mail: klukina@arriah.ru
Klukina N. D., PhD in Veterinary Science, Senior Researcher, e-mail: klukina@arriah.ru
Оковытая Т. В., к. б. н., старший научный сотрудник, e-mail: okovitaya@arriah.ru
Okovitaya T. V., PhD in Biological Science, Senior Researcher, e-mail: okovitaya@arriah.ru
Гочмурадов Ы.М., аспирант, e-mail: gochmuradov@arriah.ru
Gochmuradov I. M., Post-Graduate Student, e-mail: gochmuradov@arriah.ru

avvb_2022_03.indd 75 20.09.2022 12:19:21

Аннотация. Иммунизация животных является эффективным инструментом борьбы с ящуром. В связи с появлением представителя нового генотипа вируса ящура и необходимостью защиты от него требуется разрабатывать вакцины и создавать высокоспецифичные и высокочувствительные диагностические тест-системы. В статье представлена новая разработанная нами тест-система на основе жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА для определения титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII в сыворотках крови животных после иммунизации. Предлагаемая тест-система является специфичной по отношению к антителам против антигена вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 на 100 %, чувствительной на 99,78 %, стабильной благодаря применению лиофильно высушенных специфических компонентов. В данной тест-системе применяются сенсибилизирующие антитела с рабочим разведением 1:12000, детекторные антитела с разведением 1:3000, антиген вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII с рабочим разведением 1:3000. Тест-система предлагает усовершенствованную формулу для расчета процента ингибиции, по его данным находят максимальное разведение сыворотки, при котором она остается положительной, что и принимается за титр антител против указанного антигена. Разработанная тест-система является первой в мире, позволяющей достоверно количество исследовать сыворотки крови животных на предмет определения титра антител против антигена вируса ящура вакцинного штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 нового генотипа A/ASIA/G-VII. Следует отметить, что это отечественная разработка, которая имеет определенное значение в эпоху импортозамещения в России.

Summary. *Animal immunization is an effective tool to combat foot-and-mouth disease. Due to the appearance of a representative of a new genotype of the foot-and-mouth disease virus and the need to protect against it, it is required to develop vaccines and create highly specific and highly sensitive diagnostic test systems. The article presents a new test system developed by us based on a liquid-phase blocking indirect variant of ELISA for determining the titer of antibodies against FMD virus strain A No. 2269/ARRIAH/2015 genotype A/ASIA/G-VII in animal blood sera after immunization. The proposed test system is specific to antibodies against the antigen of the FMD virus strain A No. 2269/ARRIAH/2015 is 100% sensitive by 99.78%, stable due to the use of freeze-dried specific components. In this test system, sensitizing antibodies with a working dilution of 1:12000, detector antibodies with a dilution of 1:3000, the antigen of the FMD virus strain are used A No.2269/ARRIAH/2015 genotype A/ASIA/G-VII with a working dilution of 1:3000. The test system offers an improved formula for calculating the percentage of inhibition, according to which the maximum dilution of serum is found, at which it remains positive, which is taken as the titer of antibodies against the specified antigen. The developed test system is the first in the world to reliably examine the amount of animal blood serum to determine the titer of antibodies against the foot-and-mouth disease virus antigen of vaccine strain A No.2269/ARRIAH/2015 of the new genotype A/ASIA/G-VII. It should be noted that this is a domestic development that has a certain significance in the era of import substitution in Russia.*

Введение

Ящур – высококонтагиозное вирусное заболевание парнокопытных животных, которое характеризуется высокой заболеваемостью, что влечет за собой ограничения на международную торговлю скотом и его продукцией [2, 19].

Возбудителем является РНК-содержащий безоболочечный вирус рода *Aphthovirus* семейства *Picornaviridae*. Выделяют 7 различных серотипов вируса ящура: O, A, Азия-1, C и SAT-1, SAT-2, SAT-3. Геном кодирует 4 структурных белка: VP_1, VP_2, VP_3, VP_4 [9, 10].

В РНК-содержащих вирусах вариациям в геноме благоприятствуют высокие частоты мутаций во время репликации вируса, а возникающие линии и сублинии обусловлены мутациями и рекомбинацией. Рекомбинация – важный процесс, определяющий биологию и эволюцию вирусов. Она представляет собой обмен генетическим материалом между двумя несегментированными РНК-геномами вируса внутри одного серотипа [12]. Внутритипическая рекомбинация происходит часто. Мутации в результате рекомбинации приводят к обмену генетическим материалом и образованию новых антигенных вариантов, которые могут избежать иммунного давления и привести к изменениям тропизма клеток и диапазона хозяев [9]. Одна или несколько аминокислотных замен на поверхности вирусных частиц могут привести к изменению распознавания и использования рецепторов. В результате один и тот же вирус будет приобретать способность проникать в клетки с использованием альтернативных рецепторов [12, 19].

Антигенные вариации возникают из-за аминокислотных мутаций, которые изменяют распознавание вирусных белков иммунной системой организма. Поверхностно открытые структуры вируса особенно подвержены иммунной атаке. Процесс появления новых антигенных форм определяется сложным взаимодействием вирусных факторов и клеток-хозяев. Изменения в генах, кодирующих капсидные белки, путем мутации

avvb_2022_03.indd 76 20.09.2022 12:19:21

могут привести к антигенным изменениям и появлению новых генетических линий [14].

Белок VP1 является наиболее вариабельным, поскольку на него приходится около 90 % мутаций всех структурных генов. Самыми вариабельными областями являются участки 40-60, 130-160 и 190-213 а.о. [9, 10]. Участок поверхностного белка VP_1 в регионе 130-160 а. о. отличается высокой вариабельностью, поскольку участвует в процессе связывания с рецепторами клетки-хозяина. Изменчивость данного региона дает возможность вирусу ящура взаимодействовать с рецепторами клеток разных типов и облегчает переход от одного вида хозяина к другому [9, 12, 19].

В 2015 г. на территории Саудовской Аравии, Ирана, Турции широкое распространение получил вирус ящура, который принадлежит к генотипу A/ASIA/G-VII. В ФГБУ «ВНИИЗЖ» данный изолят был адаптирован к различным чувствительным клеточным линиям, в том числе, к монослойной и суспензионной перевиваемой клеточной линии почки новорожденного сирийского хомячка BHK-21/SUSP/ARRIAH и получен штамм А №2269/ВНИИЗЖ/2015 [5].

Иммунизация является эффективным инструментом борьбы с болезнью. Для изготовления вакцин используются производственные штаммы вируса ящура [3, 4, 11]. В связи с появлением представителя нового генотипа возбудителя и необходимостью защиты животных от него в ФГБУ «ВНИИЗЖ» разработали вакцину, в состав которой входит антиген вируса ящура данного штамма [6]. Как следствие, возникла необходимость создания высокоспецифичных и высокочувствительных диагностических тест-систем, которые позволили бы выявлять антитела против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII.

Защита от ящура после вакцинации определяется уровнем специфических антител в сыворотке крови животных. Имеются сведения, что IgM, специфичные к вирусу ящура, могут быть обнаружены на 2–4 сутки после вакцинации [13, 20]. Уровень гуморального иммунитета вакцинированного поголовья определяется путем выявления антител, специфичных к капсиду или структурным белкам вируса ящура. В соответствии с рекомендациями МЭБ (OIE) [18] для определения иммунного статуса животных применяют реакцию нейтрализации и иммуноферментный анализ (ИФА). Реакция нейтрализации считается чувствительным, специфичным и надежным методом, однако проведение исследования имеет ряд ограничений, в частности, большая продолжительность времени постановки реакции (не менее 3 суток), высокая стоимость процедуры, связанная с применением чувствительной клеточной линии, наличие CO_2-инкубатора, а также предполагает использование неинактивированного вируса ящура, который является биологическим агентом II группы патогенности. При этом ИФА обладают многими преимуществами, включая экспрессность, высокую специфичность и чувствительность, пригодность для крупномасштабного скрининга полевых образцов и отсутствие требований к специальным лабораторным условиям, например, наличию культуры клеток или среды CO_2 [7, 15]. Исходя из этого, ИФА целесообразно применять для определения титра антител у вакцинированных животных.

В настоящее время тест-системы жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА применяются для определения титра антител против вируса ящура, инфекционного ларинготрахеита кур, болезни Ньюкасла и др. [7, 8, 15, 16, 17]. Сведения о разработке количественной ИФА для определения титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII в литературе отсутствуют.

Цель исследований заключалась в разработке и тестировании метода определения титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII с помощью жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА.

Материалы и методы

Генетическая идентификация штамма

Генетическую идентификацию вирусного материала проводили с помощью секвенирования 1D-гена вируса ящура, соответствующего структурному белку VP1.

avvb_2022_03.indd 77 20.09.2022 12:19:21

Получение антигена вируса ящура

В работе использовали производственный штамм А № 2269/ВНИИЗЖ/2015 культурального вируса ящура, который депонирован в государственной коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Для получения антигена проводили суспензионное культивирование вируса в клеточной линии ВНК-21 с получением вирусной суспензии с титром инфекционной активности не ниже 6,5 lg ТЦД50/см^3. Полученную вирусную суспензию инактивировали с помощью аминоэтилэтиленимина и осветляли благодаря полигексаметиленгуанидину. Инактивированную культуральную жидкость осветляли центрифугированием при температуре 4±0,5 °С. В надосадочную жидкость добавляли ПЭГ-6000 и NaCl, интенсивно перемешивали и инкубировали при температуре 4±2 оС в течение 18–24 часов. Вирусную суспензию осаждали, осадок растворяли в 1/15 М ФБР, концентрируя в 200 раз. К полученному преципитату добавляли трихлорметан, интенсивно перемешивали и фракционировали. Отбирали верхнюю водную фракцию, содержащую антиген вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015.

Антиген вируса ящура обрабатывали детергентом. Для выделения 146S компонента готовили линейный градиент сахарозы с концентрациями 10, 20, 30, 40, 50 %. Наслаивали суспензию антигена и проводили осаждение при скорости 25 000 об./мин и температуре 4±0,5 °С в течение 4 часов. С помощью перистальтического насоса отбирали фракции по 1 мл и анализировали их. Опалесцирующие зоны, содержащие 146S компонент без посторонних примесей, переосаждали с помощью ультрацентрифугирования, полученный осадок ресуспендировали в 1/15 М ФБР.

Анализ фракций антигена вируса ящура

Полученные после фракционирования пробы исследовали с помощью спектрофотометра для определения содержания белка по формуле Калькара: Сбелка = 1,45 · А280 – 0,74 · А260 (мг/мл) [1]. Фракции исследовали на степень чистоты с помощью гель-электрофореза в 12 %-ном полиакриламидном геле (ПААГ) по стандартной методике [1].

Получение сенсибилизирующих и детекторных антител для ИФА

Для получения сенсибилизирующих антител против антигена вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 использовали клинически здоровых кроликов средней упитанности массой 2,5–3,0 кг. Для гипериммунизации животных применяли концентрированный очищенный антиген, из которого готовили эмульсию с использованием масляного адъюванта Montanide ISA-61 VG (Seppic, Р. Франция). Полученную вакцину вводили в мышцу задних конечностей кролика на 0, 21 и 42 дни в объеме 0,5 см^3. Через 7 дней после последней иммунизации кроликов тотально обескровливали и получали сыворотку крови, содержащую сенсибилизирующие антитела.

Для гипериммунизации морских свинок с целью получения детекторных антител использовали эмульсию очищенного препарата концентрированного инактивированного вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015, полученного, как описано выше. Приготовление вакцины и схема иммунизации такая же.

Определение диагностических показателей тест-системы

Проводили определение основных показателей тест-систем: чувствительность (Se), специфичность (Sp), k-критерий (индекс Каппа Коэна), прогностичность положительного результата (PPV), прогностичность отрицательного результата (NPV), общую точность (Ac) в соответствии со стандартными методиками.

Результаты исследований и обсуждение

На первом этапе работы проводили молекулярно-биологические исследования по подтверждению принадлежности штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 к генотипу A/ASIA/G-VII. На основе анализа и сравнения нуклеотидных последовательностей 1D-гена разных штаммов вируса ящура типа А определили, что данный штамм относится к указанному генотипу (рисунок 1).

На следующем этапе работы проводили получение антигена вируса ящура штамма А № 2269/ВНИИЗЖ/2015. В результа-

avvb_2022_03.indd 78 20.09.2022 12:19:21

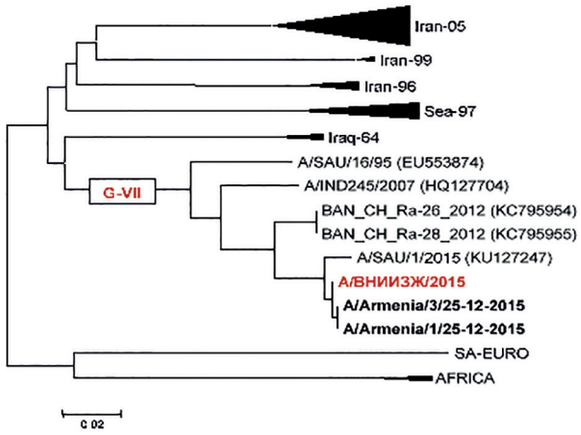


Рис. 1. Филогенетическая принадлежность штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 вируса ящура генотипа A/ASIA/G-VII.

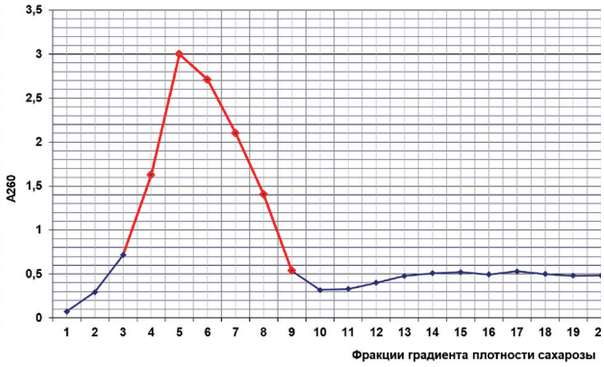


Рис. 2. Седиментационный профиль антигена вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 в разведении 1:10 при длине волны 260 нм.

те культивирования в клеточной линии ВНК-21/SUSP/ARRIAH получили 40 л культурального вируса ящура, который инактивировали, очищали и концентрировали в 200 раз, получив 200 мл. Полученный материал исследовали спектрометрическим методом и с помощью гель-электрофореза. Результаты отражены на рисунках 2 и 3. Полученный антиген подвергли лиофильному высушиванию для сохранения активности в течение не менее 3 лет.

На следующем этапе получили сенсибилизирующие и детекторные антитела против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015. Индивидуальные пробы сывороток проверяли на активность и специфичность в жидкофазном блокирующем непрямом варианте варианте ИФА. Был проведен подбор оптимальных рабочих разведений указанных компонентов для получения достоверных результатов в ИФА. Полученные данные анализа представлены в таблице 1. Выявлено, что рабочее разведение антигена вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015, сенсибилизирующих и детекторных антител составляло 1:3000, 1:12000, 1:3000, соответственно. Полученные компоненты лиофильно высушивали для дальнейшего использования в тест-системе.

Разработанная нами тест-система определения титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 с применением жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА основана на специфическом блокировании антигена антителами, содержащимися в исследуемой пробе сыворотки в жидкой фазе. Смесь «исследуемая сыворотка/антиген» переносили в лунки планшета, предварительно иммобилизованного сенсибилизирующими антителами. Наличие антител к вирусу ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII в исследуемой пробе выражалась в образовании иммунного комплекса и уменьшении количества свободного антигена, который связывался иммобилизованными на планшете сенсибилизирующими антителами. Фиксированный в лунках антиген взаимодействовал с детекторными антителами, которые выявлялись в реакции с иммунопероксидазным конъюгатом против IgG морской свинки и последующим окрашиванием с помощью хромогенного субстрата ABTS. Интенсивность окрашивания обратно

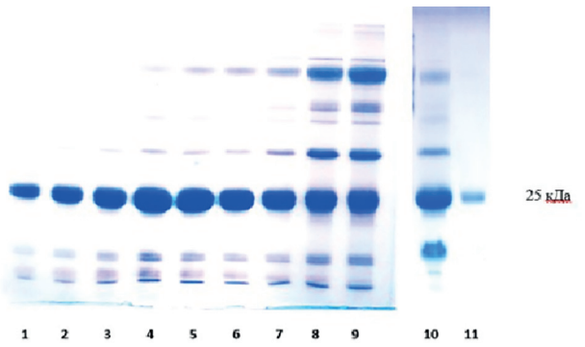


Рис. 3. Седиментационный профиль антигена вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 в разведении 1:10 при длине волны 260 нм.

avvb_2022_03.indd 79 20.09.2022 12:19:21

пропорциональна концентрации специфических антител в исследуемой пробе и учитывается с помощью спектрофотометра. Принципиальная схема жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА представлена на рисунке 4.

Разработанные этапы проведения жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА для определения титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII представлены ниже.

1) Сенсибилизация планшетов. Раствор сенсибилизирующих антител готовили в оптимальном разведении в карбонатно-бикарбонатном буферном растворе. Во все лунки иммунологического 96-луночного планшета вносили по 100 мкл раствора сенсибилизирующих антител, инкубировали в течение 18–20 часов при температуре (2–8) ºС. Данный этап проводили заранее до осуществления непосредственных этапов постановки реакции.

2) Реакция в жидкой фазе. Осуществляли двойное промывание лунок планшета с помощью буферного раствора TBST. Параллельно с сенсибилизацией планшета проводили реакцию антигена с испытуемыми и контрольными пробами сыворотки крови. Готовили следующие разведения сывороток крови животных: 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024. Для этого во все лунки полимерного планшета за исключением лунок Н1-6, которые оставляют для контроля антигена (КА) и контроля конъюгата (КК), вносят по 0,047см^3 буферного раствора и 0,003 см^3 пробы. В лунки Н1-6 вносят по 0,05 см^3 буферного раствора. В качестве контроля 1 использовали положительную сыворотку крови КРС против инактивированного вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 (процент ингибиции ≥75%), контроля 2 – положительную сыворотку крови КРС к инактивированному вирусу ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 (процент ингибиции более 50 %, но менее 75 %), контроля 3 – нормальную сыворотку КРС. Затем во все лунки планшета добавляют по 0,05 см^3 рабочего разведения антигена.

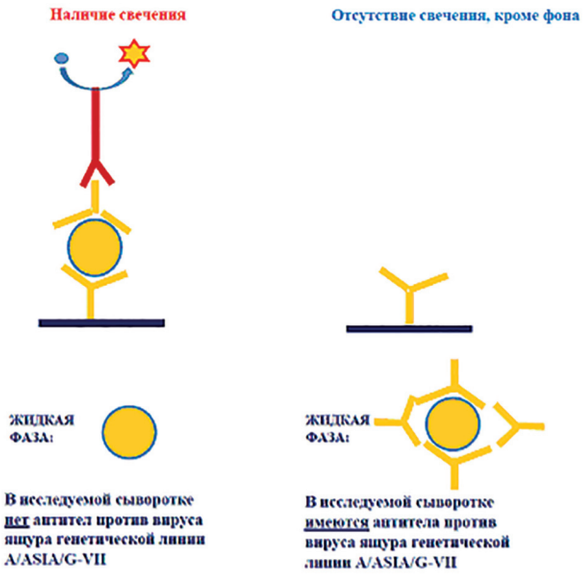


Рис. 4. Принципиальная схема жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА для определения титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015.

После перемешивания содержимого лунок планшета его инкубировали в течение 18 часов при температуре (2–8) ºС.

3) Улавливание антигена. В промытые лунки сенсибилизированного планшета вносили по 0,05 см^3 смеси контрольных и испытуемых проб и антигена, планшет инкубировали в течение 1 часа при температуре (37±2) ºС. Лунки планшета промывали 4 раза.

4) Внесение детекторных антител. Во все лунки планшета, за исключением лунок с КК, куда добавляли по 0,05 см^3 буферного раствора, вносили по 0,05 см^3 рабочего разведения детекторных антител. Планшет инкубировали в течение 1 часа при температуре (37±2) ºС. Проводили промывание лунок планшета 4 раза.

5) Внесение конъюгата. Во все лунки планшета вносили по 0,05 см^3 рабочего разведения пероксидазного конъюгата антител против антител морской свинки. Планшет инкубировали в течение 1 часа при температуре (37±2) ºС. Планшет промывали 4 раза.

6) Проявление цветной реакции. Во все лунки планшета вносили по 0,05 см^3 хромогенного субстрата ABTS, выдерживали 15–20 минут при температуре (18–25) ºС.

7) Остановка реакции. Реакцию останавливали добавлением в каждую лунку планшета

avvb_2022_03.indd 80 20.09.2022 12:19:21

Таблица 1

Рабочее разведение антигена вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015, сенсибилизирующих и детекторных антител для ИФА

Реагент в ИФА	Рабочее разведение					
S кролика (СА)	1:3000					
АГ А2269/ВНИИЗЖ/2015	1:2000	1:3000	1:4000	1:2000	1:3000	1:4000
S мор. свинки (ДА)	1:3000			1:12000		

№ п/п	Образцы сыворотки крови	Результаты исследований (качественный анализ) в ИФА с разными концентрациями реагентов (СА-АГ-ДА)							
		3000-2000-3000	3000-3000-3000	3000-4000-3000	3000-8000-3000	3000-2000-12000	3000-3000-12000	3000-4000-12000	3000-8000-12000
1	Sn КРС	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Sn свиная	-	-	-	-	-	-	-	-
3	S полиштаммная (типы А, О, Азия-1) положительная, №1	-	-	-	-	+	+	+	-
4	S полиштаммная (типы А, О, Азия-1) положительная, №2	-	-	-	-	+	+	+	-
5	S полиштаммная (типы А, О, Азия-1) положительная, №1	-	-	-	-	-	+	-	-
6	S полиштаммная (типы А, О, Азия-1) положительная, №2	-	-	-	-	-	+	-	-
7	S свиная к ВЯ А2269, 14 ДПВ	-	-	-	-	+	+	-	-
8	S свиная к ВЯ А2269, 21 ДПВ	-	-	-	-	+	+	+	+
9	S свиная к ВЯ А2269, 28 ДПВ	-	-	-	-	+	+	+	+
10	S КРС к ВЯ А/Кути/13, 28 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-
11	S КРС к ВЯ О/Саудовская Аравия/08, 28 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-
12	S свиная к ВЯ О/Забайкальский/16, 21 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-
13	S КРС к ВЯ О/Приморский/14, 28 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-
14	S КРС к ВЯ Азия-1/Шамир 3/89, 28 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-
15	S КРС к ВЯ SAT1, 28 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-
16	S свиная к ВЯ SAT2, 28 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-
17	S КРС к ВЯ SAT3, 28 ДПВ	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: ВЯ – вирус ящура, ДПВ – дни после вакцинации, СА – сенсибилизирующие антитела, ДА – детекторные антитела, АГ – антиген, S – сыворотка крови, «-» – отрицательно, «+» – положительно.

0,05 см^3 1 %-ного раствора додецилсульфата натрия.

8) Учет результатов ИФА. Результаты анализа учитывали инструментальным способом. Сразу после остановки реакции измеряли оптическую плотность (ОП) продуктов реакции в каждой лунке при длине волны 405 нм, используя спектрофотометр-ридер для микропланшетов с вертикальным лучом света. Значения ОП контрольных и исследуемых проб переводили в значение процента ингибиции (PI) по формуле:

$$PI = (1 - \frac{ОП_{пробы} - ОП_{КК}}{ОП_{КА} - ОП_{КК}}) \times 100\%$$

где ОП пробы – среднее значение оптической плотности смеси исследуемой или контрольной пробы с антигеном вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015; ОП КА – среднее значение оптической плотности контроля антигена; ОП КК – среднее значение оптической плотности контроля конъюгата.

Результаты реакции считали достоверными, если они удовлетворяли следующим критериям:

- разница между значениями ОП КА и ОП КК не менее 0,4 оптических единиц;
- контроль 1 имеет значение PI>75 %;
- контроль 2 имеет значение PI в пределах 50–75 %;

avvb_2022_03.indd 81 20.09.2022 12:19:21

Таблица 2

Пределы диагностических возможностей тест-системы по определению титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 с помощью жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА

Диагностические показатели	Результаты статистической обработки данных	
	значение	95 %-ный доверительный интервал
DSe	99,78 %	98,77–99,99 %
DSp	100 %	98,08–100 %
k-критерий	0,996	-*
PPV	100 %	-
NPV	99,48 %	96,41–99,93 %
DAc	99,84 %	99,13–100,00 %

Примечание: * – не требуется определять.

- контроль 3 имеет значение PI<50 %.

Пробы, демонстрирующие значение PI≥50 %, считали положительными, а животные, от которых получены данные пробы сыворотки крови, иммунными к антигену вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII. Значение PI<50 % является отрицательным, что свидетельствует об отсутствии специфических антител к антигену вируса ящура генотипа A/ASIA/G-VII в сыворотке крови обследуемых животных. Исходя из полученных данных брали последнее разведение сыворотки, для которого процент ингибиции составляет ≥50 %. Это разведение считают титром антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015.

На следующем этапе исследования определяли стандартные диагностические показатели разработанной тест-системы. Для оценки чувствительности предложенной тест-системы анализировали 450 сывороток крови животных, которые являлись заведомо положительными по данным реакции нейтрализации в чувствительной клеточной линии почки свиньи IB-RS-2. Титр антител для данных сывороток крови находился в диапазоне 1:32-1:1024. Постановку ИФА проводили, как отражено выше. Разработанной тест-системой определили, что из 450 истинно положительных образцов сывороток 449 определены в качестве положительных, а 1 – в качестве отрицательной (титр 1:16). Для исследования специфичности метода тестировали 190 отрицательных сывороток крови. В результате исследования с помощью ИФА определили, что из 190 истинно отрицательных проб 190 определены в качестве отрицательных. Пользуясь представленными выше статистическими методами анализа, выявили, что диагностическая чувствительность (DSe) составила 99,78 % (в 95 %-ном доверительном интервале: 98,77–99,99 %), диагностическая специфичность (DSp) – 100 % (в 95 %-ном доверительном интервале: 98,08–100,0 %), k-критерий – 0,996; прогностичность положительного результата (PPV) – 100 %, прогностичность отрицательного результата (NPV) – 99,48 % (в 95 %-ном доверительном интервале: 96,41–99,93 %), общая точность (DAc) – 99,84 % (в 95 %-ном доверительном интервале: 99,13–100,00 %) (таблица 2).

Заключение

Разработана новая тест-система на основе жидкофазного блокирующего непрямого варианта ИФА для определения титра антител против вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII в сыворотках крови животных после иммунизации.

Определено, что предлагаемая тест-система является специфичной по отношению к антителам против антигена вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 на 100 %, чувствительной на 99,78 %, стабильной благодаря применению лиофильно высушенных специфических компонентов.

avvb_2022_03.indd 82 20.09.2022 12:19:21

В данной тест-системе применяются сенсибилизирующие антитела с рабочим разведением 1:12000, детекторные антитела с разведением 1:3000, антиген вируса ящура штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 генотипа A/ASIA/G-VII с рабочим разведением 1:3000.

Тест-система предлагает усовершенствованную формулу для расчета процента ингибиции. По данным процента ингибиции находят максимальное разведение сыворотки, при котором она остается положительной, что и принимается за титр антител против указанного антигена.

Разработанная тест-система является первой в мире, позволяющей достоверно количество исследовать сыворотку крови животных на предмет определения титра антител против антигена вируса ящура вакцинного штамма А №2269/ВНИИЗЖ/2015 нового генотипа A/ASIA/G-VII. Следует отметить, что это отечественная разработка, которая имеет определенное значение в эпоху импортозамещения в России.

Список литературы

1. Биохимия белков: практикум для студентов биол. фак. спец. 31.01.01-2 «Биология» / И. В. Семак, Т. Н. Зырянова, О.И. Губич. Минск: БГУ, 2007. 49 с.

2. Груздев К. Н. Программа совместных действий по профилактике и борьбе с ящуром животных в странах СНГ / К. Н. Груздев, В. М. Захаров, А. М. Рахманов // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. Владимир, 2005. Т. 3. С. 3–13.

3. Гуленкин В. М. Экономическая эффективность проведения профилактической вакцинации животных против ящура на территории Российской Федерации / В. М. Гуленкин // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. Владимир, 2012. Т. 10. С. 31–41.

4. Динамика развития противоящурного гуморального иммунитета у крупного рогатого скота, иммунизированного трехвалентной сорбированной вакциной типов А, О, Азия-1 / Д. В. Михалишин, Т. Н. Лезова, Н. Н. Ходакова [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. Владимир, 2007. Т. 5. С. 75–82.

5. Российский патент RU2640261, 27.12.2017 по МПК C12N7/00 A61K39/135. Штамм А №2269/ВНИИЗЖ/2015 вируса ящура Aphtae epizooticae типа А для контроля антигенной и иммуногенной активности и для изготовления биопрепаратов для диагностики и специфической профилактики ящура типа А.

6. Российский патент RU2665850, 25.12.2017 61K 39/135 (2006.01); C12N 7/00 (2006.01) Вакцина инактивированная эмульсионная против ящура типа А.

7. Basagoudanavar S. H. Development of a Liquid-phase Blocking ELISA Based on Foot-and-mouth Disease Virus Empty Capsid Antigen For Seromonitoring Vaccinated Animals / S. H. Basagoudanavar, M. Hosamani, R. P. T. Selvan [et al.] // Arch Virol. 2013 May. V. 158(5). P. 993–1001.

8. Cao Y. Synthesis of Empty Capsid-like Particles of Asia I Foot-and-mouth Disease Virus in Insect Cells and their Immunogenicity in Guinea Pigs / Y. Cao, Z. Lu, J. Sun [et al.] // Vet Microbiol. 2009. V. 137(1–2). P. 10–17.

9. Curry S. Dissecting the Roles of VP0 Cleavage and RNA Packaging in Picornavirus Capsid Stabilization: the Structure of Empty Capsids of Foot-and-mouth Disease Virus / S. Curry, E. Fry, W. Blakemore [et al.] // J Virol. 1997. V. 71(12). P. 9743–9752.

10. Curry S. R. Foot-and-mouth Disease Virus 3C Protease: Recent Structural and Functional Insights into an Antiviral Target / S. R. Curry, P. A. Zunszain, R. J. Leatherbarrow // Int J Biochem Cell Biol. 2007. V. 39(1). P. 1–6.

11. Diagnostic Assays Developed for the Control of Foot-and-mouth Disease in India / G. K. Sharma, S. Mahajan, R. Matura [et al.] // World J Virology. 2015. V. 4(3). P. 295–302.

12. Fry E. E. The Structure of Foot-and-mouth Disease Virus / E. E. Fry, D. I. Stuart, D. J. Rowlands // Curr Top Microbiol Immunol. 2005. V. 288. P. 71–101.

13. Global Strategy for Control of Foot-and-mouth Disease. Bangkok, Thailand. 2012. P. 27–29.

14. Grubman M. J. Evading the Host Immune Response: How Foot-and-mouth Disease Virus Has Become an Effective Pathogen / M. J. Grubman, M. P. Moraes, F. Diaz-San Segundo // FEMS Immunol Med Microbiol. 2008. V. 53(1). P. 8–17.

15. Hamblin C. A New Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Detection of Antibodies Against Foot-and-mouth Disease Virus. I. Development and Method of ELISA / C. Hamblin, I. T. Barnett, R. S. Hedger // J Immunol Methods. 1986. V. 93(1). P. 115–121.

16. Ma L. N. An Overview on ELISA Techniques for FMD / L. N. Ma, J. Zhang, H. T. Chen // Virol J. 2011. Sep 4. V. 8. P. 419.

17. Oem J. K. Characterization of Recombinant Foot-and-mouth Disease Virus Pentamer-like Structures Expressed by Baculovirus and Their Use as Diagnostic Antigens in a Blocking ELISA / J. K. Oem, J. H. Park, K. N. Lee // Vaccine. 2007. V. 25(20). P. 4112–4121.

18. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris, 2018. Chapter 2.1.8.

19. Palmenberg A. C. Proteolytic Processing of Picornaviral Polyprotein / A. C. Palmenberg // Annu Rev Microbiol. 1990. V. 44. P. 603–623.

20. Wong C. L. Advances in the Diagnosis of Foot-and-Mouth Disease / C. L. Wong, C. Y. Yong, H. K. Ong // Front Vet Sci. 2020, Aug. V. 21. P. 477.

avvb_2022_03.indd 83 20.09.2022 12:19:21

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-84-87
УДК: 611.36-018:636.2.034
Ключевые слова: пищеварительные железы, печень, строение, жвачные, бык домашний.
Key words: digestive glands, liver, structure, ruminants, domestic bull.

Бартенева Ю. Ю., Зеленевский Н. В., Прусаков А. В.

ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ТКАНЕЙ ПЕЧЕНИ КОРОВ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ

FEATURES OF THE HISTOLOGICAL ORGANIZATION OF LIVER TISSUE OF BLACK MOTTLE COWS DEPENDING ON THE LEVEL OF MILK PRODUCTIVITY

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.

Бартенева Юлия Юрьевна, к. вет. н., доцент кафедры анатомии животных,
e-mail: bartjulia@mail.ru
Barteneva Yulia Yurievna, PhD of Veterinary Science, Associate Professor of the Dept. of Animal Anatomy, e-mail: bartjulia@mail.ru
Зеленевский Николай Вячеславович, д. вет. н., профессор кафедры анатомии животных,
e-mail: znvprof@mail.ru
Zelenevskiy Nikolay Vyacheslavovich, Doctor of Veterinary Science, Professor of the Dept. of Animal Anatomy, e-mail: znvprof@mail.ru
Прусаков Алексей Викторович, д. вет. н., доцент, заведующий кафедрой внутренних болезней животных им. А. В. Синева,
e-mail: prusakovv-av@mail.ru
Prusakov Alexey Viktorovich, Doctor of Veterinary Science, Associate Professor, Head of the Department of Internal Diseases of Animals named after A.V. Sinev, e-mail: prusakovv-av@mail.ru

Аннотация. Цель исследования – установить особенности гистологической организации тканей печени дойных коров черно-пестрой породы в зависимости от уровня их молочной продуктивности. В качестве материала для проведения исследований использовали биоптаты тканей печени, полученные от коров черно-пестрой породы с различным уровнем удоев. При проведении гистологического исследования препараты окрашивали гематоксилином и эозином и с применением Шифф-йодной кислоты по Мак-Манусу, а также изготавливали срезы на замораживающем микротоме, которые окрашивали Суданом III. Установлено, что наиболее выраженные дистрофические изменения в тканях печени характерны для коров с продуктивностью выше 5 000,0 литров в год. На фоне повреждений печени, характерных для животных с меньшей продуктивностью, у них выявлялась картина неполного септального цирроза печени, а в 30,0 % случаев фокальные очаги некроза, очаговая пролиферация звездчатых ретикулоэндотелиоцитов, кровоизлияния и накопление пигмента гемосидерина в печеночной паренхиме. Таким образом, степень дистрофических изменений в тканях печени у молочных коров напрямую коррелирует с уровнем их молочной продуктивности.

Summary. *The aim of the study was to establish the features of the histological organization of liver tissues of black-and-white dairy cows, depending on the level of their milk productivity. Liver tissue biopsies obtained from black-and-white cows with different milk yield levels were used as a material for research. During histological examination, the preparations were stained with hematoxylin and eosin and using Schiff-iodic acid according to McManus, and sections were made on a freezing microtome, which were stained with Sudan III. It was found that the most pronounced dystrophic changes in liver tissues are characteristic of cows with productivity above 5 000,0 liters per year. Against the background of liver damage characteristic of animals with lower productivity, they revealed a picture of incomplete septal cirrhosis of the liver, and in 30.0 % of cases focal foci of necrosis, focal proliferation of stellate reticuloendotheliocytes, hemorrhages and accumulation of the pigment hemosiderin in the hepatic parenchyma. Thus, the degree of dystrophic changes in liver tissues in dairy cows directly correlates with the level of their milk productivity.*

Введение

В условиях интенсивного животноводства у дойного стада создается предрасположенность к возникновению нарушений обмена веществ, что приводит к развитию различных патологий. При этом наиболее уязвимым органом в организме животных становится печень [2, 4, 5]. Высокая молочная продуктивность на фоне несбалансированного кормления сопряжена с повышенными нагрузками на печень, неизбежно приводящими к возникновению гепатозов. Последние являются частой причиной выбраковки

avvb_2022_03.indd 84 20.09.2022 12:19:22

животных [10]. Без четких знаний о строении печени в зависимости от уровня продуктивности животного сложно проводить работу по их профилактике и коррекции. Учитывая вышесказанное, целью данного исследования являлось установление особенностей гистологической организации тканей печени дойных коров черно-пестрой породы в зависимости от уровня их молочной продуктивности.

Материал и методы исследования

Все исследования осуществлялись в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях, Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, и Мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных.

В качестве экспериментальных животных использовали коров черно-пестрой породы. Гистологическому исследованию были подвергнуты образцы тканей печени, полученные от пяти коров с продуктивностью до 5 000,0 литров молока и выше и от пяти коров с продуктивностью ниже 5 000,0 литров молока в год. Биопсию тканей печени проводили с соблюдением всех правил асептики и антисептики, при помощи троакара Г. Л. Дугина. Область прокола определяли в зоне двенадцатого межреберья при помощи перкуссии.

Материал фиксировали в 10,0 % растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, после чего по общепринятой методике заливали в парафин [8, 9]. Затем из полученных блоков изготавливали срезы толщиной 5,0–7,0 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. С целью обнаружения гликогена в тканях печени, материал фиксировали в 96,0 %-ном этиловом спирте. После стандартной гистологической проводки и изготовления срезов проводили ШИК-реакцию с применением Шифф-йодной кислоты по Мак-Манусу. Для подтверждения жировой дистрофии печени из материала, фиксированного в 10,0 % формалине, изготавливали срезы на замораживающем микротоме, которые окрашивали Суданом III для выявления нейтральных жиров в гепатоцитах. Докраску ядер проводили гематоксилином Майера.

Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось на светооптическом микроскопе Carl Zeiss AxioStar при увеличениях 50, 100, 200 и 400. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Pixera 560 и программного обеспечения VideoТест [1].

Результаты исследований

При изучении на малых увеличениях полученных гистологических срезов установлено, что в большинстве полей зрения для долек печени изученных животных характерна упорядоченная балочная организация [3, 6, 7]. Их портальные тракты имели типичное гистологическое строение, однако в отдельных случаях наблюдалось их расширение.

Также на препаратах отмечались участки с развитием дистрофических повреждений органа. Последние располагались преимущественно на периферии долек, то есть были смещены в сторону триад. Причем наиболее выраженные изменения встречались у коров с продуктивностью выше 5 000 литров в год.

При изучении пораженных печеночных долек на малых увеличениях отмечалось неравномерность их окраски. Так их периферическая часть, в отличие от центральной, была более светлая. Это объясняется наличием пустот, соответствующих местам периферических отложений жира в паренхиме долек, растворившегося в спиртах и ксилоле при изготовлении гистологических срезов. Также на больших увеличениях в составе паренхимы периферической зоны печеночных долек выявлялись перстневидные жировые клетки, а в составе гепатоцитов обнаруживались вакуоли разной величины.

Данные вакуоли при применении окраски Суданом III выявлялись в составе цитоплазмы гепатоцитов в виде крупнокапельных вкраплений оранжево-красного цвета. Последнее обстоятельство дает возможность говорить о наличии у изученных животных мелко- и крупнокапельного стеатоза в разной степени его выраженности. Данные капли смещают ядра печеночных клеток к периферии. Впоследствии данное компрессионное давление приводит к

avvb_2022_03.indd 85 20.09.2022 12:19:22

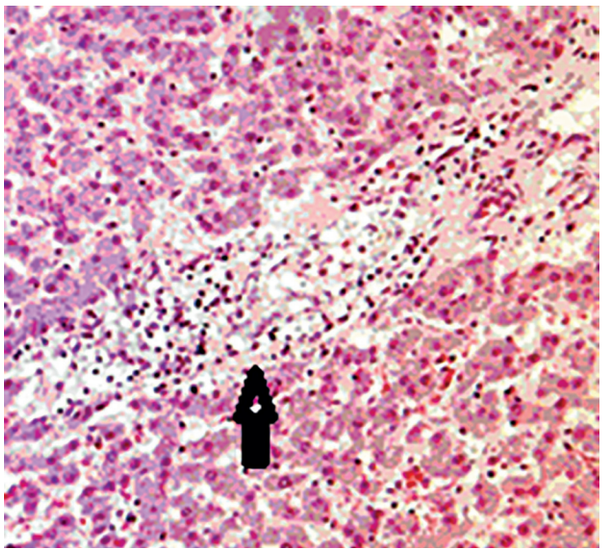


Рис. 1. Печень коровы с продуктивностью менее 5 000 литров в год. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×100: Отмечается незначительная перипортальная лимфоплазмоцитарная инфильтрация (↑).

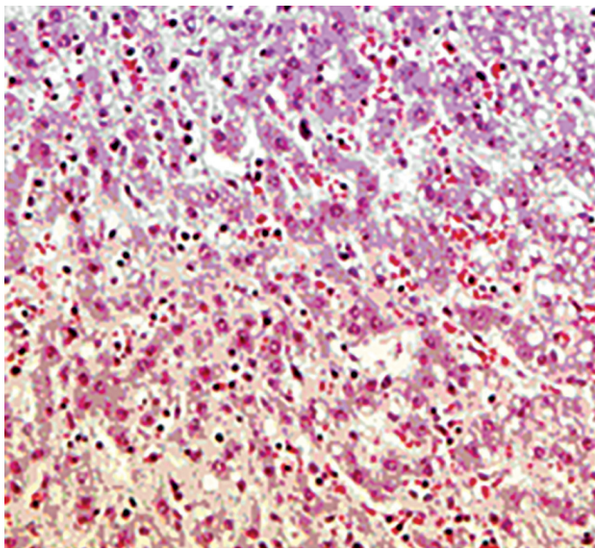


Рис. 2. Печень коровы с продуктивностью менее 5 000 литров в год. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×100: Умеренная жировая дистрофия и диффузная лимфоплазмоцитарная инфильтрация ткани печени.

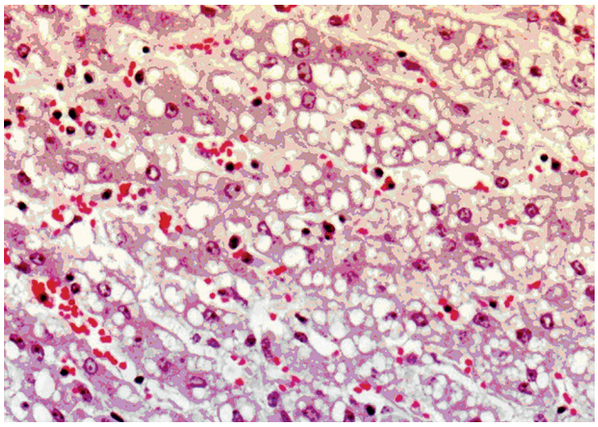


Рис. 3. Печень коровы с продуктивностью менее 5 000 литров в год. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×200: Умеренный крупнокапельный стеатоз.

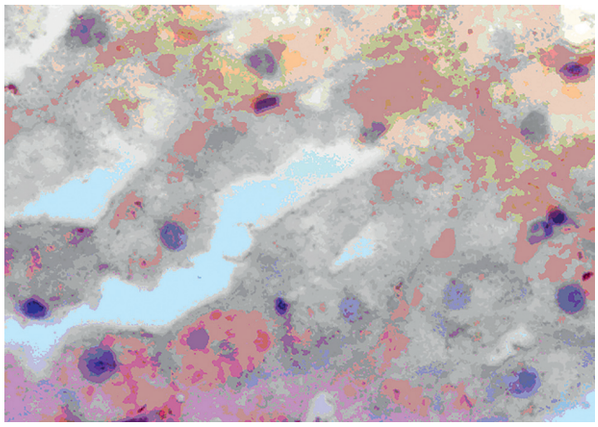


Рис. 4. Печень коровы с продуктивностью более 5 000 литров в год. Окраска Судан III и гематоксилин Майера. Увеличение ×400: Умеренный крупнокапельный стеатоз.

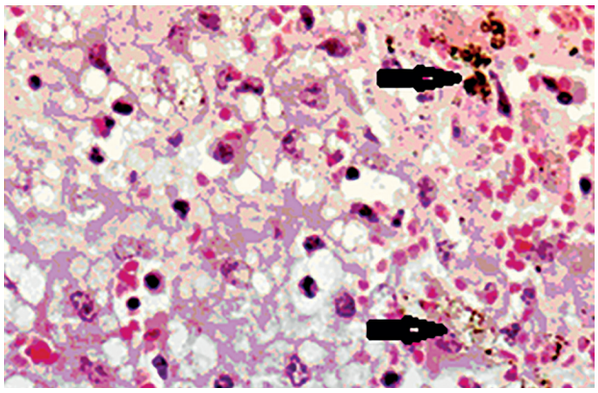


Рис. 5. Печень коровы с продуктивностью более 5 000 литров в год. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×200: Отмечаются фокальные некротические повреждения гепатоцитов и отложения пигмента гемосидерина в печеночной паренхиме.

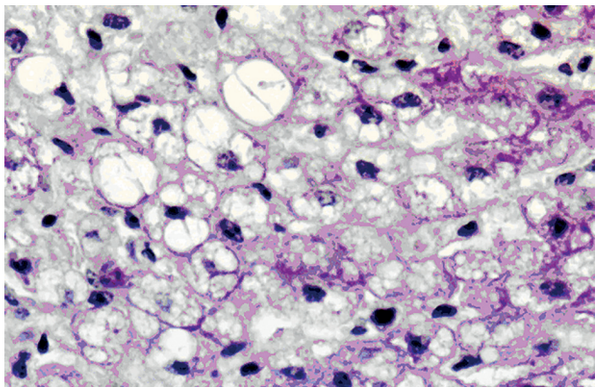


Рис. 6. Печень коровы с продуктивностью более 5 000 литров в год. ШИК-реакция Увеличение ×400: Минимальное содержание гликогена в гепатоцитах в сочетании с выраженным стеатозом.

avvb_2022_03.indd 86 20.09.2022 12:19:22

их разрушению и гибели клеток, на месте которых формируются отложения жира. При сильном увеличении отмечалось, что ядра данных клеток уменьшены в объеме, частично деформированы и имеют интенсивную окраску гематоксилином в темно-синий или темно-фиолетовый цвета. Цитоплазма пораженных стеатозом клеток имела вид полулунного ободка бледно-розового цвета, окружающего ядро со стороны цитоплазматической мембраны клетки. Печеночные клетки, содержащие вышеуказанные вкрапления, были увеличены в объеме и имели округлую форму. Их наличие нарушало балочный рисунок пораженной печеночной дольки.

В паренхиме пораженных долек на фоне неравномерно выраженного капиллярно-венозного полнокровия были заметны участки неравномерного расширения (отека) перисинусоидальных пространств Диссе, имеющие вид достаточно широких белых полос различной конфигурации.

Во всех случаях жировая дистрофия органа у изученных животных сопровождалась снижением содержания гликогена в гепатоцитах, а также развитием умеренной периваскулярной и перипортальной лимфоплазмоцитарной инфильтрации с преобладанием эозинофилов.

При этом у коров с продуктивностью выше 5 000,0 литров молока в год прослеживалась картина неполного септального цирроза печени. Так на гистологических препаратах, полученных от них образцов тканей, выявлялись неширокие фиброзные тяжи, отходящие от печеночных трактов. Данные тяжи охватывали небольшие группы гепатоцитов, лежащие на периферии пораженных долек, и часто сливались друг с другом.

У коров с продуктивностью выше 5 000,0 литров молока в год на фоне указанных выше повреждений в 30,0 % случаев выявлялись фокальные очаги некроза, очаговая пролиферация звездчатых ретикулоэндотелиоцитов, кровоизлияния и накопление пигмента гемосидерина в печеночной паренхиме.

Выводы

Наиболее выраженные дистрафические изменения в тканях печени характерны для коров с продуктивностью выше 5 000 литров в год, в сравнении с животными меньшей продуктивности. При этом у данной группы животных прослеживалась картина неполного септального цирроза печени, а также на фоне повреждений печени, характерных для животных с меньшей продуктивностью, в 30,0 % случаев выявлялись фокальные очаги некроза, очаговая пролиферация звездчатых ретикулоэндотелиоцитов, кровоизлияния и накопление пигмента гемосидерина в печеночной паренхиме. Таким образом, степень дистрофических изменений в тканях печени у молочных коров напрямую коррелирует с уровнем их молочной продуктивности.

Список литературы

1. Абламейко С. В. Обработка оптических изображений клеточных структур в медицине / С. В. Абламейко, А. М. Недзъведь. Мн.: ОИПИ НАН Беларуси, 2005. 156 с.

2. Андрейцев М. З. Изменение белкового, азотистого обменов и других биохимических показателей при гепатозе у коров / М. З. Андрейцев // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2003. № 1 (9). С. 145.

3. Анисимова К. А. Гистологические особенности печени новорожденных поросят породы ландрас / К. А. Анисимова, Н. В. Зеленевский, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. 2021. № 1. С. 316–319.

4. Гертман А. М. Лечение гепатоза молочных коров в условиях природно-техногенной провинции Южного Урала / А. М. Гертман, Т. С. Самсонова // Ветеринарная патология. 2012. № 1 (39). С. 21–26.

5. Голодяева М. С. Диагностика и профилактика зернистой дистрофии печени у нетелей / М. С. Голодяева, А. В. Прусаков // Актуальные вопросы ветеринарной науки в условиях глобальной цифровизации производства: Сборник статей по материалам всероссийской научно-практической конференции. 2021. С. 29–34.

6. Дроздова Л. И. Морфология печени свиней в конце откорма при традиционных технологиях / Л. И. Дроздова, А. В. Пузырников // Аграрный вестник Урала. 2015. № 11 (141). С. 20–23.

7. Дроздова Л. И. Печень птицы – живая лаборатория оценки качества кормления и содержания / Л. И. Дроздова, У. И. Кундрюкова // Аграрный вестник Урала. 2010. № 5 (71). С. 68–70.

8. Коржевский Д. Э. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / Д. Э. Коржевский. СПб.: СпецЛит, 2010. 124 с.

9. Мужикян, А. А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных / А. А. Мужикян, М. Н. Макарова, Я. А. Гущин // Международный вестник ветеринарии. 2014. № 2. С. 103–109.

10. Яшин А. В. Незаразная патология крупного рогатого скота в хозяйствах с промышленной технологией: учебное пособие для СПО / А. В. Яшин, А. В. Прусаков, И. И. Калюжный, С. П. Ковалев, С. Н. Копылов, В. Н. Динисенко, В. Д. Раднатаров, А. А., Эленшлегер, Г. В. Куляков // СПб.: Лань, 2021. 220 с.

avvb_2022_03.indd 87 20.09.2022 12:19:22

DOI: 10.24412/2074-5036-2022-3-88-93
УДК 616.9:616-091:636.92
Ключевые слова: кролики, вирусная геморрагическая болезнь, патоморфология
Keywords: rabbits, viral hemorrhagic disease, pathomorphology

Кудряшов А. А., Левтеров Д. Е., Балабанова В. И.

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ВИРУСНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ
PATHOMORPHOLOGY OF VIRAL HEMORRHAGIC DISEASE OF RABBITS

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
Saint – Petersburg State University of Veterinary Medicine
Адрес:196084, Россия, Санкт-Петербург, Черниговская ул., 5
Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya Str, 5

Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., проф., зав. каф. патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины
Kudriashov Anatoly Alekseevich, Doctor of Veterinary Science, Professor, Head of the Pathologic Anatomy and Forensic Veterinary Medicine Department
Левтеров Дмитрий Евгеньевич, к. в. н., доцент каф. патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины
Levterov Dmitry Evgenjevich, PhD, Associate Professor of the Pathologic Anatomy and Forensic Veterinary Medicine Department
Балабанова Виктория Игоревна, д. в. н., профессор кафедры патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины
Balabanova Victoria Igorevna, Doctor of Veterinary Science, Professor of the Pathologic Anatomy and Forensic Veterinary Medicine Department

Аннотация. Цель работы – определить типичные патологоанатомические изменения при вирусной геморрагической болезни кроликов для уточнения морфогенеза данной болезни. Объектами исследования явились три кролика породы советская шиншилла, в возрасте 5 месяцев, принадлежащие крестьянскому хозяйству. Материалом исследования послужили органы кроликов. Животные болели около 2-х суток. Кролики были вскрыты по методу Г. В. Шора. При вскрытии отобрали патологический материал для дополнительных исследований: пробы печени для исследования методом иммуноферментного анализа (ИФА) на вирус геморрагической болезни кроликов, пробы легких, сердца, печени, селезенки и почек для гистологического исследования. Гистологические срезы готовили по общепринятой методике. Патологический материал фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина. Затем провели заливку в парафин и на ротационном микротоме изготовили срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрасили гематоксилином и эозином. В результате исследования методом иммуноферментного анализа в пробах печени выявлен вирус геморрагической болезни кроликов. Патологоанатомические и патогистологические изменения при вирусной геморрагической болезни у исследованных кроликов проявились в двух основных компонентах: во-первых, в альтеративных изменениях печени, а именно, в зернистой, жировой и пигментной дистрофии, а также в некрозе гепатоцитов; во-вторых, в острой венозной гиперемии, кровоизлияниях и тромбозе мелких сосудов многих органов, связанных с развитием ДВС-синдрома. Обнаружение пигментной дистрофии в виде скопления желчных пигментов в гепатоцитах, логично объяснить несостоятельностью печеночных клеток к метаболизму в широком смысле слова: в нарушении выработки факторов свертывания крови, в нарушении метаболизма желчных пигментов.

Summary. *The aim of the work is to determine typical pathoanatomic changes in viral hemorrhagic disease of rabbits to clarify the morphogenesis of this disease. The objects of the study were three rabbits of the soviet chinchilla breed, aged 5 months, belonging to a peasant farm. The study material was the organs of rabbits. The animals were sick for about 2 days. The rabbits were autopsied according to the method of G. V. Shor. At the autopsy, pathological material was selected for additional studies: liver samples for examination by enzyme immunoassay (ELISA) for rabbit hemorrhagic disease virus, lung, heart, liver, spleen and kidney samples for histological examination. Histological sections were prepared according to the generally accepted method. The pathological material was fixed in a 10 % solution of neutral formalin. Then the material was carried out in paraffin and sections 5–7 microns thick were made on a rotary microtome. The sections were stained with hematoxylin and eosin. As a result of the study by the method of enzyme immunoassay, the virus of hemorrhagic disease of rabbits was detected in liver samples. Pathoanatomic and pathohistological changes in viral hemorrhagic disease in the studied rabbits were manifested in two main components: firstly, in alterative changes in the liver, namely, in granular, fatty and pigmented dystrophy, as well as in hepatocyte necrosis; secondly, in acute venous hyperemia, hemorrhages and thrombosis of small vessels of many organs, related to the development of DIC syndrome. The detection of pigmented dystrophy in the form of accumulation of bile pigments in hepatocytes is logically explained by the failure of liver cells to metabolism in the broad sense of the word: in violation of the production of blood clotting factors, in violation of the metabolism of bile pigments.*

avvb_2022_03.indd 88 20.09.2022 12:19:22

Введение

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов (ВГБК) появилась и широко распространилась в Китае в 1984–1985 годах. Выяснили, что возбудитель ВГБК – калицивирус, к которому восприимчивы кролики и зайцы. Наиболее чувствительными оказались взрослые особи старше 5 месяцев. Заболеваемость составляла более 75 %, летальность 100 %. Болезнь в дальнейшем была зарегистрирована во многих странах мира: в Германии, Австрии, Чехословакии, Болгарии, Швеции, Польше, Венгрии, Италии и других, в том числе в СССР, Мексике, США [2].

В целом патогенез и патоморфологические изменения при ВГБК широко освещены. Однако имеются не вполне ясные детали. Так, некоторые авторы сообщают о пневмонии при этой болезни, тогда как, по мнению других авторов, для ВГБК закономерны нарушения гемодинамики, в том числе явления диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в органах (за исключением печени), а не воспалительная реакция [1, 5]. M. Gleeson и O. A. Petritz [6] отмечают желтуху как одно из проявлений ВГБК, что не описано в других источниках литературы. Вышеперечисленные обстоятельства объясняют актуальность нашего исследования.

Цель работы – определить типичные патологоанатомические изменения при вирусной геморрагической болезни кроликов для уточнения морфогенеза данной болезни.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования явились три кролика породы советская шиншилла в возрасте 5 месяцев, принадлежащие крестьянскому хозяйству. Материалом исследования послужили органы кроликов. Животные болели около 2-х суток. Вскоре после смерти кролики были вскрыты по методу Г. В. Шора. При вскрытии отобрали патологический материал для дополнительных исследований: пробы печени для исследования методом иммуноферментного анализа (ИФА) на вирус геморрагической болезни кроликов, пробы легких, сердца, печени, селезенки и почек для гистологического исследования. Исследование на вирус геморрагической болезни кроликов проведено в лицензированной лаборатории. Гистологическое исследование проведено на кафедре патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Гистологические срезы готовили по общепринятой методике [3]. Патологический материал фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина. Затем провели заливку в парафин и на ротационном микротоме изготовили срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрасили гематоксилином и эозином. Изучение гистологических препаратов провели при помощи светооптического микроскопа Микмед-5 при увеличении 160, 400 и 600. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой камеры и программы Touptek Photonic FMA050.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты клинического исследования

В начале заболевания кролики были малоактивны, неохотно двигались, отсутствовал аппетит. Отметили учащенное сердцебиение и учащенное дыхание. На вторые сутки имели место кровянистые выделения из ноздрей и примесь крови в фекалиях. Перед смертью (на вторые сутки) у животных наблюдали судороги.

Результаты патологоанатомического исследования

У всех кроликов установлены идентичные макроскопические изменения в ряде органов: в легких, сердце, печени, селезенке, почках и кишечнике.

Легкие были гиперемированы и отечны. Под плеврой и в глубине паренхимы органа обнаружили кровоизлияния в виде точек и мелких темно-красных пятен (рисунок 1). С поверхности разреза выделялась пенистая светло-красная жидкость.

Сердца кроликов выглядели типичными для смерти от асфиксии: полости правой половины расширены, наполнены жидкой кровью с рыхлыми ее свертками.

Печень была увеличенной, имела притупленные края, дряблую консистенцию, светло-коричневый цвет с красным и серым оттенками и мозаичным рисунком (рисунок 2).

avvb_2022_03.indd 89 20.09.2022 12:19:22

При относительно слабом нажатии паренхима разрывалась. С поверхности разреза стекала кровь, просветы крупных кровеносных сосудов содержали жидкую кровь и ее рыхлые свертки. Желчный пузырь был наполнен темно-зеленой вязкой прозрачной желчью.

Селезенка была заметно увеличена, упругой консистенции, с поверхности темно-красного цвета. Поверхность разреза черно-красного цвета со стекающей кровью, соскоб умеренный.

Почки увеличены в объеме, с поверхности окрашены неоднородно – в коричневый цвет с темно-красными пятнами (рисунок 3). На разрезе кора почек также имела коричневый цвет с темно-красными пятнами, мозговой слой – серо-красного цвета. На разрезе в паренхиме видны темно-красные полосчатые участки с нечеткими границами.

В слизистой оболочке тонкой кишки отметили немногочисленные точечные кровоизлияния.

Результаты исследования методом иммуноферментного анализа

В результате исследования методом иммуноферментного анализа в пробах печени выявлен вирус геморрагической болезни кроликов.

Результаты гистологического исследования

При гистологическом исследовании проб органов были выявлены следующие патоморфологические изменения.

В легких обнаружили гиперемию, отек, диффузные и очаговые кровоизлияния (рисунок 4), а также тромбоз у одного из кроликов. Степень наполнения кровеносных сосудов была разной: артериолы – полупустые, венулы – полнокровные. Морфологического проявления воспаления в легких не было обнаружено.

В сердечной мышце капилляры и венулы заполнены кровью. Обнаружены слабо наполненные капилляры со скоплениями эритроцитов в периваскулярных пространствах. В капиллярах отмечен тромбоз. Артериолы умеренно кровенаполнены.

В печени кроликов имела место дискомплексация гепатоцитов: балочное строение долек сильно нарушено, а местами полностью отсутствовало. Цитоплазма печеночных клеток была зернистой и содержала многочисленные мелкие пустоты, соответствующие каплям жира, растворившегося в ходе изготовления гистологических препаратов (рисунок 5). Эти изменения соответствуют зернистой и жировой дистрофии. У двух кроликов в межклеточном пространстве находились немногочисленные лейкоциты, являющиеся, на наш взгляд, результатом воспалительной реакции на повреждение печени вирусом (рисунок 5). Ядра многих гепатоцитов и звездчатых макрофагов лизированы, а в отдельных клетках ядра пикнотичны; обнаружены двуядерные гепатоциты. Центральные вены долек – с большими просветами, заполнены лизированными эритроцитами. Во многих гепатоцитах находились глыбки желто-коричневого желчного пигмента (рисунок 6).

В селезенке многие эритроциты лизированы. Большие участки ретикулярной ткани лишены клеток красной и белой пульпы, выглядят как сеть набухших волокон с многочисленными и обширными участками отека. Белая пульпа представлена отдельными лимфатическими узелками и периартериальными муфтами. Эти структуры содержат умеренное число лимфоцитов, ядра многих клеток пикнотичны. Найдены немногочисленные макрофаги и плазматические клетки.

Почки: почечные клубочки находились в состоянии или анемии, или полнокровия (рисунок 7). Более того, во многих венулах мозгового слоя, межканальцевых и клубочковых капиллярах имеют место стаз крови и тромбоз (рисунки 8, 9).

Анализируя результаты исследования, необходимо отметить, что патологоанатомические и патогистологические изменения при вирусной геморрагической болезни у исследованных кроликов проявились в двух основных компонентах. Во-первых, в альтеративных изменениях печени, а именно, в зернистой, жировой и пигментной дистрофии, а также в некрозе гепатоцитов (в гепатозе). Альтеративные изменения в печени объясняются тропизмом возбудителя вирусной геморрагической болезни кроликов к клеткам печени [4]. Во-вторых, во всех

avvb_2022_03.indd 90 20.09.2022 12:19:22

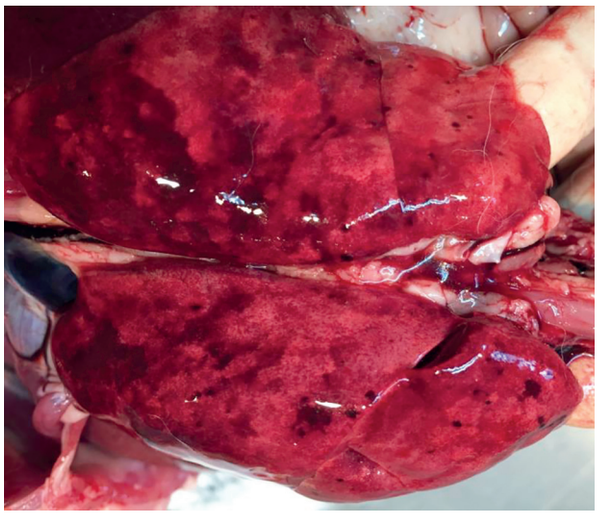


Рис. 1. ВГБК. Кролик 5 мес. Легкие. Отек.

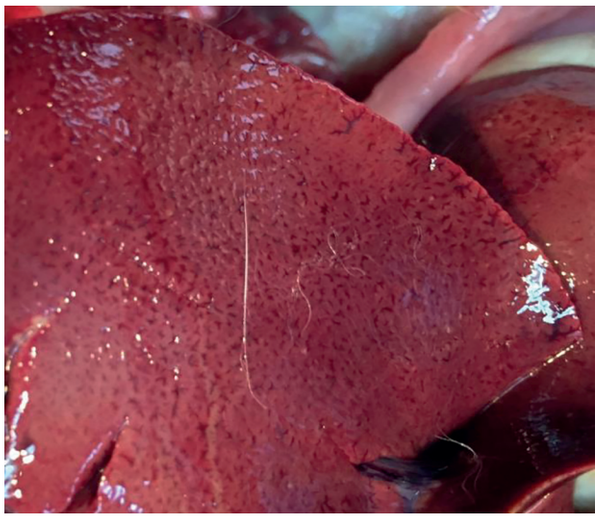


Рис. 2. ВГБК. Кролик 5 мес. Печень. Гепатоз.

Рис. 3. ВГБК. Кролик 5 мес. Почка. Пятнистое окрашивание.

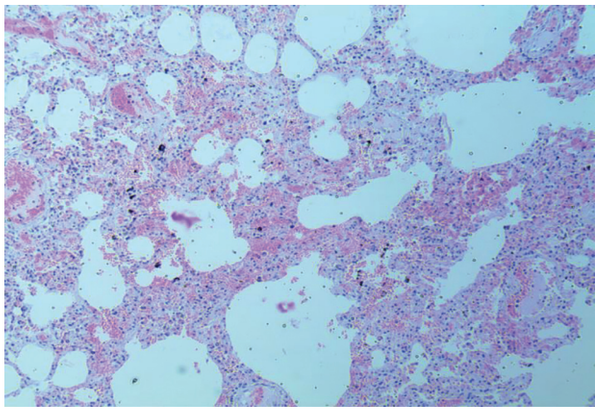


Рис. 4. ВГБК. Кролик 5 мес. Гистосрез легкого. Гиперемия и кровоизлияния. Увеличение 140. Окраска гематоксилином и эозином.

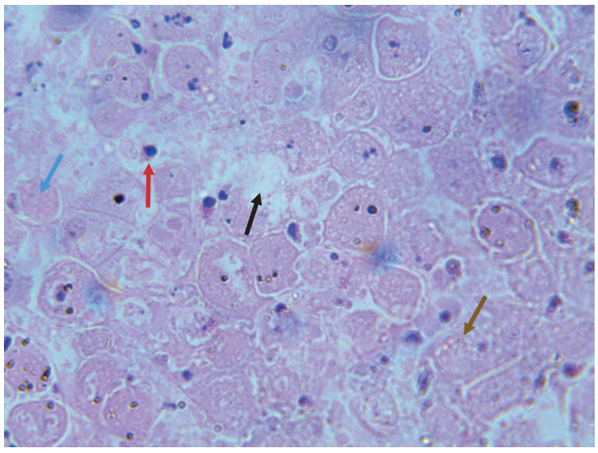


Рис. 5. ВГБК. Кролик 5 мес. Гистосрез печени. Зернистая (синяя стрелка), жировая (коричневая стрелка), и некроз (черная стрелка) гепатоцитов. Лейкоциты (красная стрелка). Увеличение 600. Окраска гематоксилином и эозином.

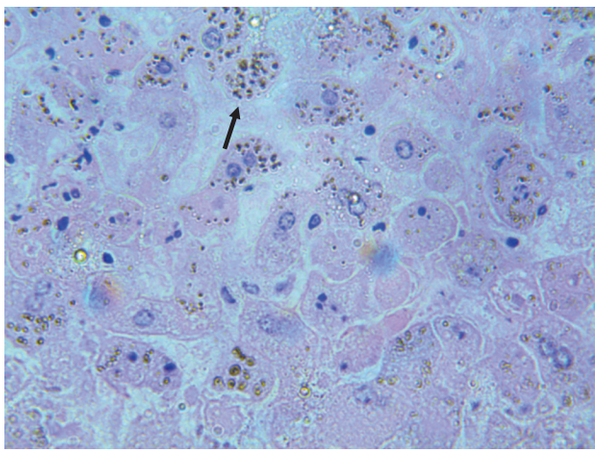


Рис. 6. ВГБК. Кролик 5 мес. Гистосрез печени. Глыбки желчных пигментов в гепатоцитах (стрелка). Увеличение 600. Окраска гематоксилином и эозином.

avvb_2022_03.indd 91 20.09.2022 12:19:22

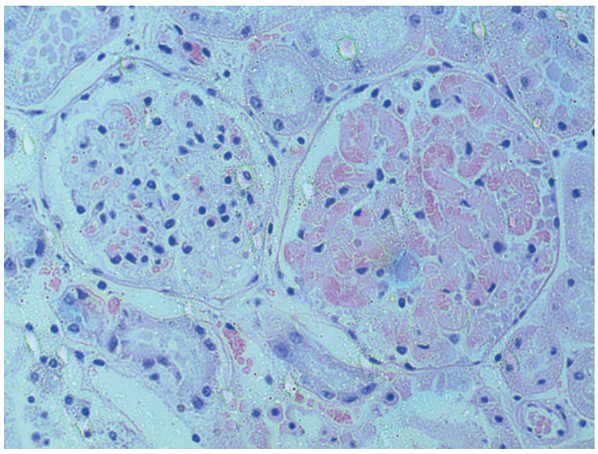


Рис. 7. ВГБК. Кролик 5 мес. Гистосрез почки. Анемия (левый клубочек) и гиперемия (правый клубочек) клубочковых капилляров. Увеличение 600. Окраска гематоксилином и эозином.

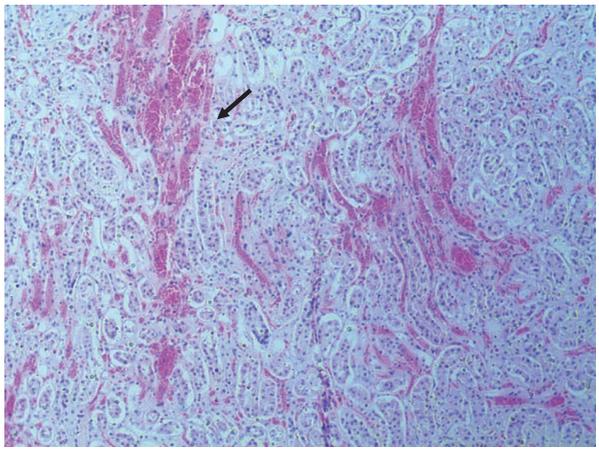


Рис. 8. ВГБК. Кролик 5 мес. Гистосрез почки. Стаз и тромбоз венул мозгового слоя (стрелка). Увеличение 140. Окраска гематоксилином и эозином.

исследованных органах отмечены острая венозная гиперемия, а также кровоизлияния и тромбоз, связанные, по мнению P. J. Kerr, T. M. Donnelly [7], с развитием ДВС-синдрома. Наряду с альтеративными изменениями, в печени исследованных кроликов обнаружена миграция лейкоцитов, что указывает на начало экссудативной фазы воспаления, т. е. на начало острого реактивного гепатита. Обнаружение пигментной дистрофии в виде скопления желчных пигментов в гепатоцитах логично объяснить несостоятельностью печеночных клеток к метаболизму в широком смысле слова: в нарушении выработки факторов свертывания крови, в нарушении метаболизма желчных пигментов. Обнаружение пигментной дистрофии в виде скопления желчных пигментов в гепатоцитах у кроликов в нашем исследовании согласуется с данными M. Gleeson и O. A. Petritz [6], которые отметили желтуху, как одно из проявлений ВГБК. Очевидно, если бы исследованные нами кролики болели дольше, то результат нарушения обмена желчных пигментов стал бы заметен в виде желтухи уже при макроскопическом исследовании.

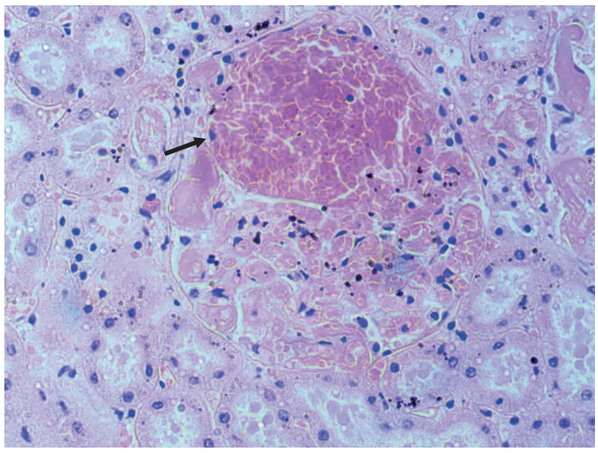


Рис. 9. ВГБК. Кролик 5 мес. Гистосрез почки. Тромбоз клубочковых капилляров (стрелка). Увеличение 600. Окраска гематоксилином и эозином.

Заключение

В результате исследования сделаны следующие выводы:

1. Патологоанатомические и патогистологические изменения при вирусной геморрагической болезни у исследованных кроликов проявились в двух основных компонентах: во-первых, в альтеративных изменениях печени, а именно, в зернистой, жировой и пигментной дистрофии, а также в некрозе гепатоцитов; во-вторых, в острой венозной гиперемии, кровоизлияниях и тромбозе мелких сосудов многих органов, связанных с развитием ДВС-синдрома.

2. Обнаружение пигментной дистрофии в виде скопления желчных пигментов в гепатоцитах, логично объяснить несостоятельностью печеночных клеток к метаболизму в широком смысле слова: в нарушении выработки факторов свертывания крови, в нарушении метаболизма желчных пигментов.

Список литературы

1. Аверин С. А. Патоморфодиагностика и патогенез вирусной геморрагической болезни кроликов / С. А. Аверин, Г. П. Дымина, Н. И. Архипов,

avvb_2022_03.indd 92 20.09.2022 12:19:23

Н. В. Черных, Г. М. Карпов // Ветеринария. 1992. № 7–8. С. 32–35.

2. Бакулов И. А. Вирусная геморрагическая болезнь кроликов (расшифровка этиологии, разработка методов диагностики и борьбы) / И. А. Бакулов, И. Ф. Вишняков, А. Л. Семенихин // Ветеринария. 1992. № 7–8. С. 30–32.

3. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники. / Г. А. Меркулов. Л.: Медицина, 1969. 423 с.

4. Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / под ред. академика РАН Д. К. Львова. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2013. С. 994–1000.

5. Шевченко А. А. Вирусная геморрагическая болезнь / А. А. Шевченко, Л. В. Шевченко // Болезни кроликов. М.: Аквариум Принт, 2011. С. 32.

6. Gleeson M. Emerging Infectious Diseases of Rabbits / M. Gleeson, O. A. Petritz // Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 2020. V. 23 (2). P. 249–261. doi:10.1016/j.cvex.

7. Kerr P. J. Viral Infections of Rabbits / P. J. Kerr, T. M. Donnelly // Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 2013. V.16 (2). P. 437–468. doi:10.1016/j.cvex.

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 моно- или 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. подробности на сайте: www.invetbio.spb.ru

avvb_2022_03.indd 93 20.09.2022 12:19:23

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

2. Правила для авторов, подготовка материалов, оформление статьи, сопроводительное письмо: 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. 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

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

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

7. Информация для рекламодателей: http://invetbio.spb.ru/journal/vb_reklam.htm

avvb_2022_03.indd 94 20.09.2022 12:19:23