

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

ОГЛАВЛЕНИЕ

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

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Киреев И. В., Оробец В. А.
Антиоксидантный статус крупного рогатого скота абердин-ангусской породы 3

ГИСТОЛОГИЯ

Пограновский С. Н., Прусаков А. В., Яшин А. В.
Гистоморфологические изменения легочной ткани у телят при катаральной неспецифической бронхопневмонии 7

МИКРОБИОЛОГИЯ

Закрепина Е. Н., Носкова В. И., Муллагалиева О. А.
Определение антагонистической активности микроорганизмов пробиотической пищевой добавки Life 9 11

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

Филатова А. В., Сандакчи Д. Н., Губернаторова В. А., Никитина А. А.
Изменения в крови и моче у больных коз после окота с воспалением вымени и осложнением мочевыделительной системы 15

ВИРУСОЛОГИЯ

Доронин М. И., Малыгин М. П., Михалишин Д. В., Мороз Н. В., Борисов А. В., Чвала И. А.
Современные молекулярно-биологические методы исследования возбудителя злокачественной катаральной горячки 20

Сейсенбаева М. С., Наханова Г. Д., Оразымбетова Н. К., Умуралиев Б. К., Нурабаев С. Ш., Абеуов Х. Б., Жугунисов К. Д., Кондибаева Ж. Б., Кошематов Ж. К.
Параметры культивирования изолята вируса оспы верблюдов 32

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

Лохмачёва С. В.
Экотипы паразитарной системы бешенства в Бразилии 41

ПАЗИТОЛОГИЯ

Беспалова Н. С.
Краевые особенности эпизоотического процесса при аскариозе свиней в Воронежской области 45

Марюшина Т. О., Крюковская Г. М., Давыдов Е. В., Ананьев Л. Ю., Дианова П. О., Арсеньева Е. В.
К вопросу биоэкологического мониторинга кишечных паразитозов водных птиц на природной территории национального парка «Лосиный остров» 48

Трухина Т. И., Бондаренко Г. А., Соловьева И. А.
Зараженность трихинеллезом среди диких и домашних животных в Амурской области 52

ДИАГНОСТИКА

Кожабергенов Н. С., Адилова Г. С., Шыныбекова Г. О., Абаева М. Р., Султанкулова К. Т.
Разработка тест-системы для диагностики вируса чумы мелких жвачных животных методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени 60

ТЕРАПИЯ

Чуваев И. В., Дарков П. Ю., Будник Ж. С., Березина О. Н.
Импульсная магнитотерапия при лечении мочекаменной болезни собак и кошек (клиническое исследование) 64

ФАРМАКОЛОГИЯ

Онищук Ф. Д., Семенов М. П., Онищук А. А., Лагунина Н. А., Катарская Т. В., Иванова А. Н.
Экспериментальные исследования по оценке безвредности кормовой добавки «Лозекорм» и ее производственные испытания в условиях птицеводческих хозяйств 72

Шафиев А. П., Токарев А. Н.
Меры борьбы с архаэнтомозами крупного рогатого скота 77

КОРМЛЕНИЕ

Карпенко Л. Ю., Махнин И. А., Беренев Ю. Е., Лукина И. А.
Определение острой токсичности комбикормов для лабораторных грызунов на тест-объекте *Paramecium caudatum* 84

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Федоров Н. М.
Ветеринарно-санитарная оценка леща при паразитарных заболеваниях 88

Издательство Института Ветеринарной Биологии

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

Подписано в печать 09.09.2023. Дата выхода: 16.09.2023. 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, 2023

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

CONTENTS

Editor-in-Chief

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

Computer design Kondrashenkov S.V.

Editorial Board

Aliev A. A.,
Dr. Vet. Sci., Professor
Andreeva N. L.,
Dr. Biol. Sci., Professor
Belova L. M.,
Dr. Biol. Sci., Professor
Georgiev B. A.,
Associate Professor, Ph.D

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

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

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

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

BIOLOGICAL CHEMISTRY

Kireev I.V., Orobets V.A.
Antioxidant status of Aberdeen angus cattle..... 3

HISTOLOGY

Pogranovsky S.N., Prusakov A.V., Yashin A.V.
Histomorphological changes in lung tissue in calves with catarrhal nonspecific bronchopneumonia..... 7

MICROBIOLOGY

Zakrepina E.N., Noskova V.I., Mullagalieva O.A.
Determination of antagonistic activity of microorganisms of probiotic foodadditive "Life 9" 11

PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY

Filatova A.V., Sandakchi D.N., Gubernatorova V.A., Nikitina A.A.
Changes in blood and urine in sick goats after lambing with inflammation of the udder and urinary system 15

VIRUSOLOGY

Doronin M.I., Malygin M.P., Mikhailishin D.V., Moroz N.V., Borisov A.V., Chvala I.A.
Modern molecular-biological methods for investigation of the causer of malignant catarrhal fever 20

Seisenbayeva M.S., Nakhanova G.D., Orazymbetova N.K., Umuraliyev B.K., Nurabaev S.Sh., Abeuov K.B., Zhugunisov K.D., Kondibayeva Zh.B., Koshemetov Zh.K.
Cultivation parameters of the camel pox virus isolate 32

EPIZOOTOLOGY

Lokhmacheva S.V.
Ecotypes of the parasitic system of rabies in Brasil 41

PARASITOLOGY

Bespalova N.S.
Regional features of the epizootic process in pig ascariasis in the Voronezh region 45

Maryushina T.O., Kryukovskaya G.M., Davydov E.V., Ananyev L.Yu., Dianova P.O., Arseneva Ye.V.
On the issue of bioecological monitoring of intestinal parasitosis of aquatic birds in natural area of the national park "Losiny ostrov" 48

Trukhina T.I., Bondarenko G.A., Solovyova I.A.
Infection with trichinosis among wild and domestic animals in the Amur region 52

DIAGNOSTICS

Kozhabergenov N.S., Adilova G.S., Shynybekova G.O., Abayeva M.R., Sultankulova K.T.
Development of a test system for the diagnosis of peste des petits ruminants virus by real-time RT-PCR 60

THERAPY

Chuvaev I.V., Darkov P.Yu., Budnik Zh.S., Berezina O.N.
Pulsed magnetotherapy in the treatment of urolithiasis of dogs and cats (clinical trial) 64

PHARMAKOLOGY

Onishchuk Ph.D., Semenenko M.P., Onishchuk A.A., Lagunina N.A., Katarskaya T.V., Ivanova A.N.
Experimental studies to assess the safety of the feed additive "Losekorm" and its production tests in the conditions of poultry farms 72

Shafiev A.P., Tokarev A.N.
Analysis of the literature review on measures to combat arachnoentomoses of cattle 77

FEEDING

Karpenko L.Yu., Makhnin I.A., Berenev Yu.E., Lukina I.A.
Determination of acute toxicity of compound feeds for laboratory rodents at the *Paramecium caudatum* test facility 84

VETERINARY AND SANITARY EXPERTISE

Fedorov N.M.
Veterinary and sanitary assessment of bream with parasitic diseases 88

Publishing of Institute of Veterinary Biology

Address of the editorial office/publisher: 197198, St.-Petersburg, Oranienbaumskaya st., 3-5. Tel. +7 (812) 232-55-92, fax: 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Site: invetbio.spb.ru
Signed for press on 09.09.2023. Issue date: 16.09.2023. 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, 2023

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-3-6

УДК 619:636.2.033:577.121.7

Ключевые слова: крупный рогатый скот, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, микроэлементы, витамины

Key words: cattle, antioxidant system, lipid peroxidation, trace elements, vitamins

Киреев И.В., Оробец В.А.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА АБЕРДИН-АНГУССКОЙ ПОРОДЫ *ANTIOXIDANT STATUS OF ABERDEEN ANGUS CATTLE*

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Адрес: 355017, Российская Федерация, город Ставрополь, переулок Зоотехнический, 12

Stavropol State Agrarian University

Address: 355017, Russian Federation, Stavropol, 12 Zootechnicheskij Ln

Киреев Иван Валентинович, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры
терапии и фармакологии, kireev-iv@mail.ru

*Kireev Ivan Valentinovich, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Professor of the Department
of Therapy and Pharmacology, kireev-iv@mail.ru*

Оробец Владимир Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой
терапии и фармакологии, orobets@yandex.ru

*Orobets Vladimir Aleksandrovich, Doctor of Veterinarian Sciences, Professor, Chef of the Department
of Therapy and Pharmacology, orobets@yandex.ru*

Аннотация. Нарушения в функционировании системы антиоксидантной защиты организма являются одной из значимых проблем современного животноводства. Оценка антиоксидантного статуса животных в различные периоды их выращивания и эксплуатации имеет важное значение в оценке метаболических процессов и, при необходимости, дает основание для их коррекции. Данное исследование направлено на оценку антиоксидантного статуса телят абердин-ангусской породы на различных этапах постнатального развития. В процессе его выполнения установлено, что у новорожденных животных не полностью сформированы механизмы антиоксидантной защиты и наблюдается низкий уровень активности глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы, что связано, в том числе, с дефицитом селена, меди, витаминов А и Е. Установлено, что в последующем при откорме увеличивается концентрация малонового диальдегида и диеновых конъюгатов до уровня значений, создающих предпосылки для развития окислительного стресса. Происходит это на фоне низкой активности ферментативного звена антиоксидантной системы и недостаточности селена, меди и токоферола. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости изучения возможности применения различных методов и средств профилактики нарушений течения антиоксидантных и свободнорадикальных процессов в мясном скотоводстве.

Summary. *Violations in the functioning of the body's antioxidant defense system are one of the significant problems of modern animal husbandry. Assessment of the antioxidant status of animals in different periods of their cultivation and exploitation is important in assessing metabolic processes and, if necessary, provides a basis for their correction. This study is aimed at assessing the antioxidant status of Aberdeen Angus calves at various stages of postnatal development. In the process of its implementation, it was found that antioxidant defense mechanisms are not fully formed in newborn animals and a low level of activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase is observed, which is associated, among other things, with a deficiency of selenium, copper, vitamins A and E. The concentration of malondialdehyde and diene conjugates to the level of values that create prerequisites for the development of oxidative stress. This happens against the background of low activity of the enzymatic link of the antioxidant system and insufficiency of selenium, copper and tocopherol. The results obtained indicate the need to study the possibility of using various methods and means of preventing disorders of the course of antioxidant and free radical processes in beef cattle breeding.*

Введение

Обеспечение продуктами питания населения страны – одна из важнейших задач агропромышленного комплекса, которая решается в том числе путем интенсификации производства говядины. Ее достижение обеспечивается путем внедрения инновационных технологий и повышения их эффективности в мясном скотоводстве.

При этом важнейшим аспектом успешного развития отрасли является контроль за состоянием здоровья животных и повышение его качества. На сегодняшний день значимой проблемой для ветеринарии, которая не позволяет в полной мере реализовать генетический и продуктивный потенциал, является нарушение метаболического статуса крупного рогатого скота мясного направления.

Одним из важнейших обменных процессов в организме животных является свободнорадикальное окисление. Данные реакции протекают в физиологических условиях, но их чрезмерная интенсификация под влиянием различных этиологических факторов провоцирует развитие множества патологий [3, 6]. Доказано, что окислительный стресс, развивающийся при патологическом увеличении уровня свободных радикалов в организме, входит в число основных причин возникновения акушерско-гинекологических заболеваний, маститов, почечной и респираторной патологии, воспалительных процессов, гепатозов и множества других болезней [1, 2].

Контроль за течением свободнорадикальных процессов в организме осуществляет многоступенчатая система антиоксидантной защиты, реализующая ферментативные и неферментативные механизмы снижения уровня избыточных метаболитов данных реакций [7]. Ее функциональное состояние во многом определяет антиоксидантно-прооксидантный статус организма [5]. Таким образом, одной из важнейших задач в системе лечебно-профилактических ветеринарных мероприятий является оценка антиоксидантного статуса сельскохозяйственных животных и при необходимости его коррекция [4]. Это позволит предотвратить или облегчить течение множества болезней и повысить продуктивность.

Целью данного исследования явилась оценка функционального состояния антиоксидантной системы в сопоставлении с уровнем продуктов перекисного окисления липидов у крупного рогатого скота абердин-ангусской породы в различные периоды выращивания.

Материалы и методы

Исследования по изучению антиоксидантного статуса крупного рогатого скота проведены с использованием животных абердин-ангусской породы. В эксперименте были задействованы бычки в количестве десяти животных в различные возрастные периоды: новорожденные, трехмесячного возраста, полугодовалые, годовалые и полуторагодовалые. В крови животных определяли уровень активности глутатионпероксидазы (ГПО), супероксиддисмутазы (СОД), концентрацию малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), селена, меди, железа, витаминов А и Е. Для выполнения научной работы применяли спектрофотометр UNICO 2800 UV/VIS (United Products & Instruments, Inc., США), автоматический биохимический анализатор ACCENT-200 (Cormay, Польша). Статистический анализ проводили с помощью пакета статисти-

стических и прикладных программ STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, США).

Результаты исследований

Анализ данных, полученных при проведении биохимического исследования крови крупного рогатого скота (Таблица), указывает на низкую активность основных антиоксидантных ферментов у новорожденных телят. Так, уровень активности ГПО в первые сутки постнатального развития составил в среднем $2,11 \text{ мкМ G-SH/л мин} \cdot 10^3$, а уровень активности СОД – 0,28 ед. акт. / мг гемоглобина. К трехмесячному возрасту значения данных показателей значительно увеличились. При этом, активность ГПО в крови телят возросла в 2,49 раз ($P \leq 0,05$), а стабилизация этого маркера отмечена в шестимесячном возрасте с достоверным увеличением на 18,1 % ($P \leq 0,05$) от предыдущего уровня, но в промежутке от одного года до пятнадцати месяцев происходило незначительное снижение – на 5,3 % ($P \geq 0,05$). Активность СОД за первые девяносто суток жизни возросла в крови телят на 75 % ($P \leq 0,05$), а к ста восьмидесяти суткам – еще на 28,6 % ($P \leq 0,05$). На данном этапе эксперимента разница по анализируемому показателю составляла 2,25 раз по сравнению с новорожденными животными. В завершение опыта отмечено снижение активности СОД ($P \geq 0,05$) за последние пять месяцев на 15,9 %.

Уровень восстановленного глутатиона у животных в первые сутки жизни, также, был на низком уровне – всего 0,17 ммоль/л. В последующие периоды наблюдения было отмечено прогрессивное увеличение его количества, вплоть до годовалого возраста: от первоначальных значений – к девяностым суткам на 35,3 % ($P \leq 0,05$), к ста восьмидесятым суткам – на 70,6 % и к триста шестидесятым суткам – на 94,1 %. Далее установили снижение по этому параметру на 6,1 % ($P \geq 0,05$).

Несмотря на низкую активность системы антиоксидантной защиты организма новорожденных телят, в их крови наблюдалась минимальная за весь период исследования концентрация продуктов перекисного окисления липидов. Концентрация ДК на протяжении эксперимента повысилась более чем в 2 раза к достижению животными возраста в четыреста пятьдесят суток: за первые девяносто суток жизни увеличение составило 37,9 % ($P \leq 0,05$) от первоначальных значений, за сто восемьдесят суток – 51,7 % ($P \leq 0,05$), за триста шестьдесят суток – 58,6 %. Количество МДА также прирастало на протяжении пятнадцати месяцев жизни крупного рогатого скота, но интенсивность увеличения была более высокая. В первые девяносто суток зафиксировано повы-

Таблица 1

Биохимические показатели крови крупного рогатого скота (n=10)

Показатель	1 сутки	90 суток	180 суток	360 суток	450 суток
ГПО, мкМ G-SH/л мин · 10 ³	2,11±0,16	5,26±0,31*	6,21±0,29**	6,40±0,37**	5,93±0,24*
СОД, ед. акт./мг гемоглобина	0,28±0,02	0,49±0,03*	0,63±0,04**	0,69±0,04**	0,58±0,04*
Глутатион, ммоль/л	0,17±0,02	0,23±0,02*	0,29±0,02*	0,33±0,02*	0,31±0,02**
ДК, ед. опт. пл. / мг липидов	0,29±0,03	0,40±0,03*	0,44±0,03*	0,46±0,03*	0,59±0,04**®©
МДА, мкмоль/л	0,75±0,05	1,49±0,11*	1,69±0,13*	1,81±0,15*	2,16±0,18**®
Селен, мкмоль/л	0,19±0,02	0,61±0,03*	0,92±0,06**	0,98±0,07**	0,90±0,06**
Железо, мкмоль/л	7,70±0,43	12,52±0,92*	19,14±1,25**	23,95±1,46*	24,52±1,81**
Медь, мкмоль/л	4,56±0,24	9,52±0,56*	10,05±0,68*	9,61±0,52*	9,43±0,48*
Витамин А, мкмоль/л	0,88±0,09	1,86±0,12*	1,95±0,14*	2,15±0,17*	2,34±0,16**
Витамин Е, мкмоль/л	5,41±0,48	8,64±0,39*	10,23±0,51**	11,36±0,73**	10,66±0,57**

* P≤0,05 – Разница статистически достоверна относительно данных на 1 сутки жизни;

** P≤0,05 – Разница статистически достоверна относительно данных на 90 сутки жизни;

® P≤0,05 – Разница статистически достоверна относительно данных на 180 сутки жизни;

© P≤0,05 – Разница статистически достоверна относительно данных на 360 сутки жизни.

шение на 98,6 % (P≤0,05), в конце опыта разница составила 2,8 раза (P≤0,05) относительно значений новорожденных телят.

Содержание минералов в крови телят, имеющих значение для стабильности антиоксидантного статуса, при рождении было на низком уровне. В процессе постнатального развития их количество стабилизировалось. Уровень селена в крови составил всего 0,19 мкмоль/л в крови новорожденных животных, что значительно ниже референсных значений. Несмотря на то что уровень этого микроэлемента за время наблюдения увеличился более чем в 4 раза, нижних границ физиологической нормы он так и не достиг. Максимальные значения на уровне 0,98 мкмоль/л зафиксированы на триста шестидесятые сутки жизни. Концентрация меди после рождения у телят в среднем составляла 4,56 мкмоль/л, увеличилась за первые три месяца жизни в 2,1 раза, и в дальнейшем данный показатель значимых изменений не претерпевал. Уровень железа в крови животных в первые сутки постнатального периода был низким и составлял всего 7,7 мкмоль/л в среднем. В дальнейшем отмечена стабилизация по этому параметру и увеличение на протяжении всего периода наблюдения с максимальным средним значением на завершающем этапе в 24,52 мкмоль/л.

В начале эксперимента при лабораторном исследовании крови новорожденных телят было отмечено дефицитное содержание ретинола и токоферола. За первые девяносто суток жизни концентрация витамина А достоверно возросла в 2,1 раза (P≤0,05) и в дальнейшем наблюдалось ее постепенное прогрессирующее возрастание еще на 25 % (P≤0,05) к возрасту пятнадцати месяцев. Количество витамина

Е в первые сутки после рождения было на уровне 5,41 мкмоль/л, что значительно ниже референсных показателей, и к возрасту в девяносто суток его значения увеличились на 59,7 % (P≤0,05), а к возрасту одного года – еще на 31,5 % (P≤0,05).

Обсуждение результатов

Установлено, что у телят в постнатальном развитии происходит постепенное становление механизмов антиоксидантной защиты организма. При рождении отмечается низкая функциональная активность основных компонентов ферментативного звена антиоксидантной системы, которая возрастает, вероятно, по мере воздействия на животных экзогенных факторов. Это косвенно подтверждается тем, что в начале жизни в крови телят зафиксированы не высокие значения по концентрации продуктов перекисного окисления липидов, которые по мере увеличения возраста увеличивались. При сопоставлении динамики увеличения концентрации метаболитов свободнорадикальных реакций и уровня активности антиоксидантных ферментов (рисунки 1, 2) можно проследить определенную взаимосвязь. Следует отметить, что уровень активности ГПО и СОД за период наблюдения так и не возрос до уровня референсных показателей, в то время как концентрация МДА и ДК уже к полугодовому возрасту превысила верхнюю границу средних справочных данных. Это свидетельствует о том, что с возрастом у животных развивался окислительный стресс.

Известно, что в обеспечении стабильности антиоксидантного статуса определенную роль играют некоторые витамины, макро- и микроэле-

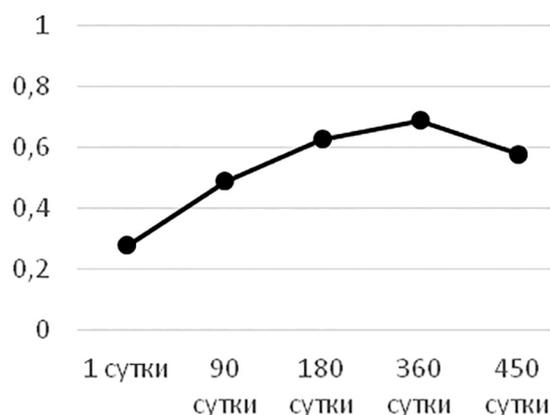


Рис. 1. Уровень активности супероксиддисмутазы, ед. акт./мг гемоглобина

менты. Анализ полученных результатов лабораторного исследования дает основание говорить о том, что количество важнейшего в поддержании функций антиоксидантной системы микроэлемента – селена – у новорожденных телят находилось на крайне низком уровне и даже его многократное увеличение не привело к достижению нижних границ физиологической нормы для данного вида животных. Также отмечен низкий уровень железа и меди у подопытных новорожденных особей. При этом уровень железа восстановился до нормативных значений к ста восьмидесятым суткам, а уровень меди, несмотря на более чем двукратное увеличение, оставался за пределами нижнего предела. Стоит отметить, что селен и медь входят в активные центры ГПО и СОД, соответственно, и низкая активность данных ферментов может быть связана, в том числе, и с дефицитом данных химических элементов. Также интерес вызывает динамика ретинола и токоферола, концентрации которых у телят в первые сутки постнатального развития, аналогично ранее проанализированным параметрам, были ниже физиологических. Нормализация уровня витамина А зарегистрирована на девяностые сутки, а количество витамина Е, даже с учетом значительного увеличения, начиная со ста восьмидесятих суток и до конца проводимого эксперимента, была на уровне нижних границ средних справочных данных. Не лишним будет упомянуть, что витамин Е – это один из самых важных факторов в реализации неферментативных механизмов антиоксидантной защиты.

Заключение

Подводя итог проведенным исследованиям, можно сделать следующие выводы: у новорожденных телят абердин-ангусской породы наблюдается низкий уровень функциональной активности антиоксидантной системы и ее не-

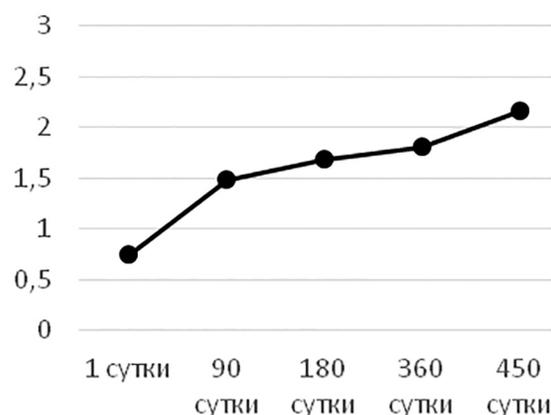


Рис. 2. Концентрация малонового диальдегида, мкмоль/л

достаточность отмечается на протяжении всего периода выращивания; в процессе откорма у них развивается окислительный стресс, о котором свидетельствует чрезмерное накопление продуктов перекисного окисления липидов; данные изменения происходят на фоне недостаточности уровня селена, меди и токоферола в организме животных данного вида; учитывая полученные результаты, актуальными представляются исследования по испытанию эффективности различных средств коррекции анализируемых показателей на различных этапах постнатального развития.

Список литературы

1. Бадмаева С. Е. Активность антиоксидантных систем и интенсивность процессов перекисидации у животных на фоне бальнеотерапии / С. Е. Бадмаева, Д. Л. Теплый // Астраханский медицинский журнал. 2019. Т. 14. № 3. С. 58–66.
2. Евстратова О. Р. Роль процессов свободнорадикального окисления в развитии патологий / О. Р. Евстратова, А. С. Харитонова, М. В. Луцки // Международный студенческий научный вестник. 2016. № 4–2. С. 146–147.
3. Зимников В. И. Система перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у клинически здоровых и больных маститом коров / В. И. Зимников // Ученые записки учреждения образования «Витебская орден Знак почета государственная академия ветеринарной медицины». 2023. Т. 59. № 1. С. 14–17.
4. Зимников В. И. Динамика показателей системы ПОЛ – АОЗ при применении рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у коров / В. И. Зимников, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // Ветеринарный фармакологический вестник. 2022. № 3 (20). С. 82–91.
5. Листов М. В. Организм как биосистема, адаптированная к использованию квантованной энергии транспорта электрона свободными радикалами / М. В. Листов, А. И. Мамыкин // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2016. № 4 (56). С. 200–201.
6. Остапчук П. С. Роль антиоксидантов и использование их в животноводстве и птицеводстве (Обзор) / П. С. Остапчук, Д. В. Зубоченко, Т. А. Куевда // Аграрная наука Северо-Востока. 2019. Т. 20. № 2. С. 103–117.
7. Сурай П. Ф. Концепция витагенов в молочном и мясном скотоводстве / П. Ф. Сурай, В. И. Фисинин, И. И. Кочиш // Молочное и мясное скотоводство. 2020. № 5. С. 11–18.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-7-10

УДК: 611.24-018:616.24-002-053.2:636.2

Ключевые слова: респираторные заболевания, болезни молодняка, бронхопневмония, катаральное воспаление, легочная ткань

*Key words: respiratory diseases, diseases of young animals, bronchopneumonia, catarrh, lung tissue***Пограновский С. Н., Прусаков А. В., Яшин А. В.**

**ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ У ТЕЛЯТ
ПРИ КАТАРАЛЬНОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ БРОНХОПНЕВМОНИИ**
*HISTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN LUNG TISSUE IN CALVES WITH CATARRHAL
NONSPECIFIC BRONCHOPNEUMONIA*

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

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

*Saint-Petersburg State University of Veterinary Medicine**Address: 196084, Russia Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5*Пограновский Святослав Николаевич, аспирант кафедры внутренних болезней
животных им. А. В. Синева, e-mail: pogranovskiy-sn@yandex.ru*Pogranovsky Svyatoslav Nikolaevich, Post-Graduate Student of the Department of Internal Diseases
of Animals named after A. V. Sinev, e-mail: pogranovskiy-sn@yandex.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, PhD in Veterinary Science, Associate Professor, Head of the Department of Internal
Diseases of Animals named after A. V. Sinev, e-mail: prusakovv-av@mail.ru*Яшин Анатолий Викторович, д. вет. н., профессор, профессор кафедры внутренних болезней
животных им. А. В. Синева, e-mail: anatoliy-yashin@yandex.ru*Yashin Anatoly Viktorovich, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Professor of the Department of Internal Diseases
of Animals named after A. V. Sinev, e-mail: anatoliy-yashin@yandex.ru*

Аннотация. Среди патологий молодняка, имеющих незаразную этиологию, наиболее часто встречается катаральная бронхопневмония. Грамотные диагностика и лечение данного заболевания крайне затруднительны без знаний о морфологических изменениях тканей легких при его развитии. Учитывая последнее и степень распространения указанной патологии, цель проведенного исследования – установить гистоморфологические изменения легочной ткани у телят при катаральной неспецифической бронхопневмонии. Гистоморфологическому исследованию подвергали образцы легочной ткани, полученные при диагностическом забое клинически больных телят. Отбор образцов ткани для исследования осуществляли на границе лобулярного воспаления и здоровой ткани из краниальной, средней и каудальной долей правого и левого легких. Из каждой доли отбирали не менее пяти образцов. Материал фиксировали в течение суток в 10,0 %-ном растворе нейтрального формалина. Дальнейшую обработку отобранных образцов до получения гистологических срезов проводили по общепринятым методикам. Гистосрезы окрашивали гематоксилином и эозином и трихромом по Массону с целью выявления коллагеновых волокон. Часть срезов окрашивали альциановым синим (рН 2,5) с последующей докраской гематоксилином Майера. При отборе проб было установлено, что очаги поражения тканей легких преимущественно располагались в дистальных частях их долей. Наибольшее поражение наблюдалось в краниальных долях, в особенности в правой краниальной доле, а наименьшее в каудальных и добавочной долях легких. При этом, в отличие от здоровой легочной ткани, пораженные участки имели серую окраску. Установлено, что на микроуровне при неспецифической бронхопневмонии регистрируются морфологические изменения, характерные для серозного воспаления. Выявляются очаги ателектаза, воспалительная гиперемия, сопровождающаяся выпотом экссудата, заполняющего полости структур бронхиального и альвеолярного дерева, на фоне серозного отека превазкулярной и перибронхиальной соединительной ткани.

Summary. Among the pathologies of young animals with non-infectious etiology, catarrhal bronchopneumonia is most common. Competent diagnosis and treatment of this disease is extremely difficult without knowledge of morphological changes in lung tissue during its development. Taking into account the latter and the extent of the spread of this pathology, the purpose of the study was to establish histomorphological changes in lung tissue in calves with catarrhal nonspecific bronchopneumonia. Histomorphological examination was performed on lung tissue samples obtained during diagnostic slaughter of clinically ill calves. Tissue samples for the study were taken at the border of lobular inflammation and healthy tissue from the cranial, middle and caudal lobes of the right and left lungs. At least five samples were taken from each

lobe. The material was fixed during the day in a 10.0 % solution of neutral formalin. Further processing of the selected samples before obtaining histological sections was carried out according to generally accepted methods. Histosections were stained with hematoxylin and eosin and trichrome by Masson in order to identify collagen fibers. Part of the sections were stained with Alcyan blue (pH 2.5), followed by Mayer's hematoxylin. When sampling, it was found that the foci of lung tissue lesions were mainly located in the distal parts of their lobes. The greatest lesion was observed in the cranial lobes, especially in the right cranial lobe, and the smallest in the caudal and accessory lobes of the lungs. At the same time, unlike healthy lung tissue, the affected areas had a gray color. It has been established that morphological changes characteristic of serous inflammation are recorded at the microlevel in nonspecific bronchopneumonia. Foci of atelectasis, inflammatory hyperemia, accompanied by effusion of exudate filling the cavities of the structures of the bronchial and alveolar tree, are revealed against the background of serous edema of the prevascular and peribronchial connective tissue.

Введение

В условиях промышленного типа ведения животноводства заболевания незаразной этиологии имеют широкое распространение. Наибольший удельный вес среди них занимают незаразные болезни молодняка [1]. К ним в первую очередь следует отнести бронхопневмонию [2]. Бронхопневмония – воспалительное заболевание бронхов и отдельных долек легкого, характеризующееся накоплением экссудата в альвеолах [3]. Несвоевременная диагностика и лечение бронхопневмонии приводят к тяжелейшим последствиям, проявляющимся у животных глубоким нарушением обмена веществ на фоне респираторно-циркуляторной гипоксии и эндогенной интоксикации, в сочетании с развитием вторичных иммунодефицитов [4]. В зависимости от вида протекающего воспаления наблюдаются различные формы заболевания (катаральная, катарально-геморрагическая, гнойно-катаральная, фиброзно-некротизирующая) [5]. Вид воспаления обуславливает тяжесть течения бронхопневмонии [6]. Наиболее часто встречается катаральная бронхопневмония [7]. Диагностика и лечение данного заболевания крайне затруднительны без знаний о морфологических изменениях тканей легких при его развитии. Учитывая последнее и степень распространения катаральной неспецифической бронхопневмонии, мы поставили цель – установить гистоморфологические изменения легочной ткани у телят при катаральной неспецифической бронхопневмонии.

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.

Гистоморфологическому исследованию подвергали образцы легочной ткани, полученных при диагностическом убое телят с клинически выраженными признаками катаральной неспецифической бронхопневмонии. Отбор образцов ткани для исследования осуществляли на границе лобулярного воспаления и здоровой ткани из краниальной, средней и каудальной долей правого и левого легких. Из каждой доли отбирали не менее пяти образцов. Материал фиксировали в течение суток в 10,0 %-ном растворе нейтрального формалина и далее по общепринятой методике заливали в парафин. Из полученных блоков изготавливали срезы толщиной 5,0–7,0 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином и трихромом по Массону с целью выявления коллагеновых волокон. Часть срезов окрашивали альциановым синим (pH 2,5) с последующей докраской гематоксилином Майера. Анализ гистологических препаратов проводился при помощи светоптического микроскопа Carl Zeiss AxioSkop 2 plus (Германия) при увеличениях 40, 100, 200 и 400. Микрофотографирование проводили цифровой фотокамерой AxioCam ERc5s и программного обеспечения AxioVision Rel. 4.8 (Германия). Морфометрические измерения осуществляли вручную при помощи программного обеспечения AxioVision Rel. 4.8.

Результаты исследований

При отборе проб для проведения гистологического исследования нами было установлено, что очаги поражения тканей легких преимущественно располагались в дистальных частях их долей. Наибольшее поражение наблюдалось в краниальных долях, в особенности в правой краниальной доле, а наименьшее – в каудальных и добавочной долях легких. При этом, в отличие от здоровой легочной ткани, пораженные участки имели серую окраску.

Установлено, что изученные образцы имели типичную гистологическую организацию, свойственную для легких млекопитающих. В их составе, исходя из выполняемых функций,

выявлялись два отдела – воздухоносный и респираторный. Воздухоносный отдел был представлен бронхами различного калибра, формирующими в совокупности бронхиальное древо. Респираторный отдел – дыхательными бронхиолами, формирующими альвеолярные выпячивания, а также альвеолами.

При изучении полученных гистологических срезов на малых увеличениях в легочной ткани выявлялись очаги ателектаза. Большая часть альвеол была заполнена экссудатом, представляющим однородную массу, которая на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, имела бледно-розовый цвет (Рисунок 1). На их фоне были видны отдельные альвеолы с расширенным просветом, свободные от серозного выпота. В окружающей их септальной ткани выявлялись сильно инъецированные кровью капилляры. Местами они имели узловатые утолщения, вдающиеся в полость альвеол. Капилляры, окружающие сильно заполненные выпотом альвеолы, были практически бескровны, что объясняется давлением экссудата на их стенку.

Полость пораженных альвеол была покрыта набухшим, часто слущенным и некротизированным альвеолярным эпителием. Его отдельные клетки выявлялись в экссудате вместе с лейкоцитами, мигрирующими из кровеносного русла в результате увеличения порозности и деструкции сосудистых стенок.

В просвете бронхиол и малых бронхов также регистрировалось наличие экссудата, схо-

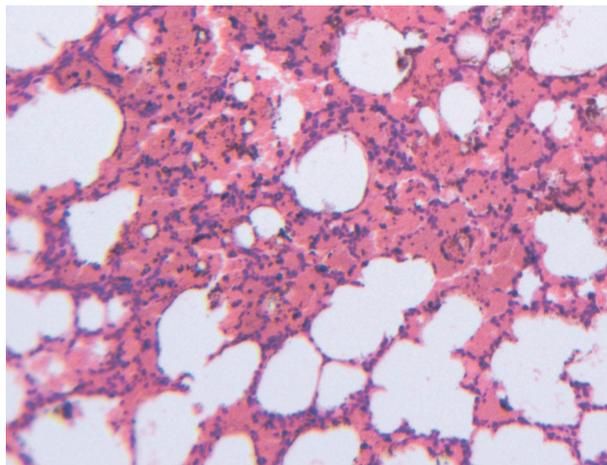


Рис. 1. Гистологический срез тканей легкого теленка больного неспецифической катаральной бронхопневмонией. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение $\times 100$). Выявляются заполненные экссудатом альвеолы и утолщенные в результате серозного отека соединительнотканые межальвеолярные трабекулы

жего по составу с экссудатом, содержащимся в бронхиолах. В участках превазкулярной и перибронхиальной соединительной ткани отмечаются признаки, характерные для серозного отека. Об этом свидетельствует разрыхление соединительнотканых волокон и наличие в составе тканей экссудата, схожего по окраске с экссудатом, заполняющим полости структур бронхиального и альвеолярного древа (Рисунок 2).

На гистологических срезах собственной пластинки бронхов выявлялись концевые отделы

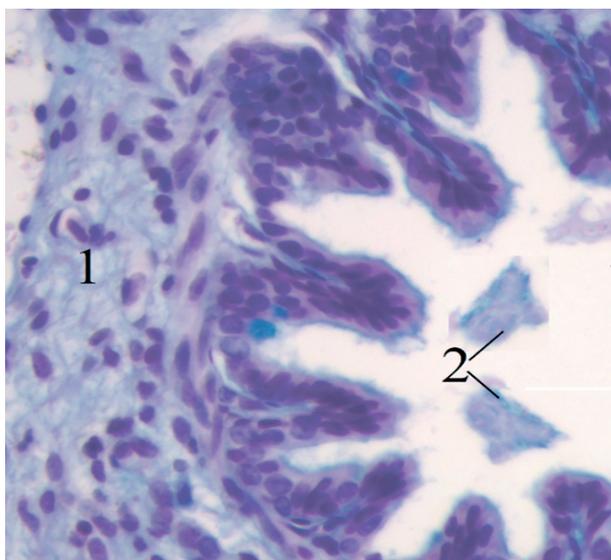


Рис. 2. Гистологический срез стенки малого бронха теленка больного неспецифической катаральной бронхопневмонией. Окраска альтиановым синим (увеличение $\times 400$): 1 – серозный отек соединительной ткани; 2 – свернувшийся слизистый экссудат в просвете бронха

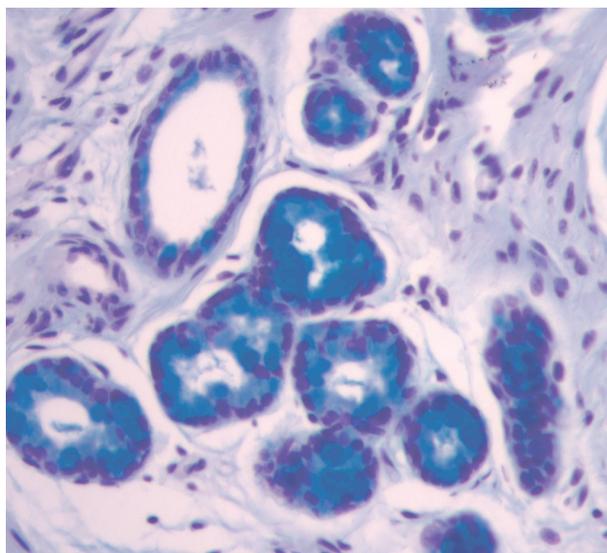


Рис. 3. Гистологический срез концевых отделов бронхиальных желез больного неспецифической катаральной бронхопневмонией теленка, заполненных слизистым секретом. Окраска альтиановым синим (увеличение $\times 400$)

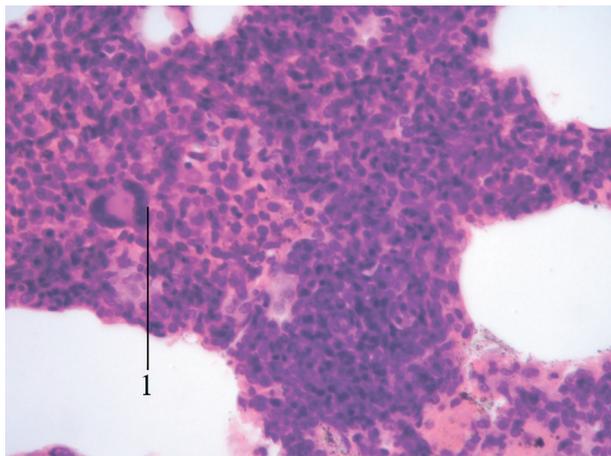


Рис. 4. Участок перибронхиальной соединительной ткани с выраженной мононуклеарной воспалительной инфильтрацией. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение $\times 200$): 1 – многоядерный макрофаг

бронхиальных желез, плотно заполненные слизистым экссудатом (Рисунок 3), что свидетельствует о их гиперсекреторной активности.

В некоторых очагах воспалительной инфильтрации выявлялись многоядерные макрофаги (рисунок 4).

Выводы

Таким образом, на основании проведенных гистоморфологических исследований было установлено, что в тканях легких при неспецифической бронхопневмонии регистрируются изменения, характерные для серозного воспаления.

Выявляются очаги ателектаза, воспалительная гиперемия, сопровождающаяся выпотом экссудата, заполняющего полости структур бронхиального и альвеолярного дерева, на фоне серозного отека превазкулярной и перибронхиальной соединительной ткани.

Список литературы

1. Абламейко С. В. Обработка оптических изображений клеточных структур в медицине / С. В. Абламейко, А. М. Недзведь. Мн.: ОИПИ НАН Беларуси, 2005. 156 с.
2. Анисимова К. А. Гистологические особенности печени новорожденных поросят породы ландрас / К. А. Анисимова, Н. В. Зеленецкий, М. В. Щипакин // Международный вестник ветеринарии. 2021. № 1. С. 316–319.
3. 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.
4. Дроздова Л. И. Печень птицы — живая лаборатория оценки качества кормления и содержания / Л. И. Дроздова, У. И. Кундюкова // Аграрный вестник Урала. 2010. № 5 (71). С. 68–70.
5. Коржевский Д. Э. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии / Д. Э. Коржевский. СПб.: СпецЛит, 2010. 124 с.
6. Мужикян А. А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных / А. А. Мужикян, М. Н. Макарова, Я. А. Гуцин // Международный вестник ветеринарии. 2014. № 2. С. 103–109.
7. 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. Калужный, С. П. Ковалев, С. Н. Копылов, В. Н. Динисенко, В. Д. Раднатаров, А. А. Эленшлегер, Г. В. Куляков. СПб.: Лань, 2021. 220 с.

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 4070381040000000022 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 2024 г. согласно инф. письму б/н от 03.09.18 г. НДС не облагается. Адрес подписки: ...»

Стоимость редакционной подписки на 2024 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

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-11-14

УДК: 579.61

Ключевые слова: пробиотик, пробиотический препарат, дисбактериоз, микробиологическое исследование, Life 9, лактобактерии, бифидобактерии, бактерицидное действие, антагонистическая активность, условно-патогенные микроорганизмы, антимикробное действие

Key words: probiotic, probiotic drug, dysbiosis, microbiological examination, Life 9, lactobacilli, bifidobacteria, bactericidal action, antagonistic activity, conditionally pathogenic microorganisms, antimicrobial action

¹Закрепина Е.Н., ¹Носкова В.И., ²Муллагалиева О.А.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ LIFE 9 *DETERMINATION OF ANTAGONISTIC ACTIVITY OF MICROORGANISMS OF PROBIOTIC FOOD ADDITIVE "LIFE 9"*

¹ФГБОУ ВО Вологодская государственная молочно-хозяйственная академия им. Н. В. Верещагина

Адрес: Россия, Вологодская область, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2

Vologda State Dairy Academy named after N. V. Vereshchagin

Address: Vologda region, Vologda, Molochnoye village, Schmidt str., 2, Russia

²АО «Племзавод Родина»

Адрес: 160503, Вологодский район, п. Огарково, д. 37

JSC "Plemzavod Rodina"

Address: 160503, Vologda district, Ogarkovo settlement, 37

Закрепина Елена Николаевна, кандидат ветеринарных наук,

доцент кафедры эпизоотологии и микробиологии, e-mail: elena.zakrepina@mail.ru

Zakrepina Elena Nikolaevna, PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Epizootology and Microbiology, e-mail: elena.zakrepina@mail.ru

Носкова Вера Ивановна, кандидат технических наук, доцент кафедры микробиологии и эпизоотологии, e-mail: noskovaarev@mail.ru

Noskova Vera Ivanovna, PhD of Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology and Epizootology, e-mail: noskovaarev@mail.ru

Муллагалиева Оксана Андреевна, ветеринарный врач, e-mail: mullagalieva.lady-oksana@yandex.ru

Mullagalieva Oksana Andreevna, veterinarian, e-mail: mullagalieva.lady-oksana@yandex.ru

Аннотация. Целью работы стало микробиологическое исследование антагонистической активности микроорганизмов пробиотического препарата Life 9 по отношению к культурам условно-патогенных микроорганизмов *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. В результате проведенного исследования обнаружен антагонизм бактерий, входящих в состав пробиотической пищевой добавки Life 9, по отношению к условно-патогенному грамположительному микроорганизму *St. aureus*. Кроме того, установлено, что при совместном культивировании с пробиотическим микроорганизмом условно-патогенная грамотрицательная *E. coli* сохраняет свою биохимическую активность. Использование пробиотических препаратов показало их явное клинико-микробиологическое преимущество перед антибиотиками, усугубляющими дисбиотические явления кишечника.

Summary. The aim of the work was a microbiological study of the antagonistic activity of microorganisms of the probiotic preparation "Life 9" in relation to cultures of opportunistic microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. As a result of the study, the antagonism of bacteria that are part of the probiotic food supplement "Life 9" in relation to the opportunistic gram-positive microorganism *St. aureus*. In addition, it was found that when co-cultivated with a probiotic microorganism, the opportunistic gram-negative *E. coli* retains its biochemical activity. The use of probiotic preparations showed their clear clinical and microbiological advantage over antibiotics, which exacerbate intestinal dysbiotic phenomena.

Введение

Применение пробиотических культур микроорганизмов обусловлено и подкрепляется постоянно растущим пониманием механизма действия этих веществ и разработкой молекулярных методов анализа и выявления сложных сообществ бактерий в кишечнике млекопитающих. Пробиотики обладают антагонистической активностью,

иммуномодулирующим действием, улучшают барьерную функцию слизистой оболочки кишечника. Антагонизм осуществляется за счет бактерицидного или бактериостатического действия пробиотических бактерий. Они продуцируют сероводород, перекись водорода и различные кислоты, которые обуславливают снижение pH в просвете кишечника и выделяют антимикробные

вещества (бактериоцины) [1, 7, 10]. Основой для производства пробиотических препаратов и премиксов являются производственные штаммы микроорганизмов. Именно свойства используемых при производстве штаммов определяют эффективность пробиотиков [6].

Пробиотики, пребиотики и синбиотики занимают определенное место в базисной терапии заболеваний, применяются в профилактических целях. Их выделяют из различных источников человеческого, животного и микробного происхождения, получают с использованием живых биологических систем, тканей организмов и их производных, применяя средства биотехнологии [1, 8]. Препарат Life 9 является пробиотиком третьего поколения (симбиотиком), т. к. в его состав входит 17 миллиардов живых культур из девяти штаммов полезных бактерий (лактобактерий, бифидобактерий и других микроорганизмов): *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*. [9].

Объект исследования – пробиотическая добавка Life 9.

Предмет исследования – микроорганизмы (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*), заявленные на упаковке добавки, условно-патогенные микроорганизмы (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) [8, 9].

Цель: микробиологическое исследование антагонистической активности микроорганизмов пробиотического препарата Life 9 по отношению к культурам условно-патогенных микроорганизмов *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Задачи:

1) Провести посев пробиотика на питательные среды и выделить чистую культуру микроорганизмов.

2) Провести совместное культивирование пробиотической культуры и условно-патогенных микроорганизмов (*St. aureus*, *E. coli*).

3) Оценить результаты исследования.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы проводилась на кафедре эпизоотологии и микробиологии Вологодской ГМХА. При исследовании использована пробиотическая добавка Life 9 американской компании Young Living (Рис. 1).

Для выделения чистой культуры пробиотических микроорганизмов приготовили пятикратные

разведения капсулы препарата стерильным физиологическим раствором. Для опыта взяли 2-е, 3-е, 4-е и 5-е разведения. Посевы проводили на простую и специальную питательную среды (МПА (на чашку Петри, штрихом на скошенный МПА), молоко стерильное обезжиренное); культивировали в термостате при 37 °С в течение 24–96 ч. В результате, на скошенном МПА смогли выделить чистую культуру молочнокислых микроорганизмов (Рис. 2). Для исследования антагонистической активности выращенной культуры пробиотиков был использован метод сплошного газона [3, 5]. Изучали рост чистой культуры пробиотика в присутствии тест-штаммов *St. aureus* и *E. coli*. Культуры, которые не были подавлены ростом тест-штаммами *St. aureus* и *E. coli*, считаются антагонистическими в отношении данного вида микроорганизма [2, 3].

Провели посев на МПА в двух чашках Петри:

– первую чашку Петри разделили на 2 части и посеяли с одной стороны *St. aureus*, с другой – смесь *St. aureus* и пробиотика;

– вторую чашку Петри разделили на части и посеяли с одной стороны *E. coli*, с другой – смесь *E. coli* и пробиотика.

Также для выявления антагонистической активности пробиотических культур на рост условно-патогенной микрофлоры засеяли чистые культуры и различные варианты сочетаний условно-патогенных микроорганизмов с пробиотической культурой в стерильное обезжиренное молоко в следующих вариантах:

– в первую пробирку провели посев золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*);

– во вторую пробирку – кишечной палочки (*Escherichia coli*);

– в третью пробирку – смесь пробиотика и *St. aureus*;

– в четвертую – смесь пробиотика и *E. coli*;

– в пятую – чистую культуру пробиотиков [2, 4, 6].

После культивирования провели визуальную оценку состояния молока, приготовили, окрасили по Граму и микроскопировали мазки. Результаты представлены на фото 3 и 4, а также в таблице 1.

Результаты исследований

1. Результаты посева на МПА:

При учете признаков роста на первой чашке Петри (совместный посев пробиотика и *E. coli*) мы не наблюдаем заметных отличий роста чистой культуры *E. coli* и смеси ее с пробиотом (рис. 5).

При учете признаков роста на второй чашке Петри (совместный посев пробиотика и *St. aureus*) мы наблюдаем заметные отличия: на половине, засеянной чистой культурой *St. aureus*, рост



Рис. 1. Пищевая добавка Life 9



Рис. 2. Питательная среда МПА с признаками роста

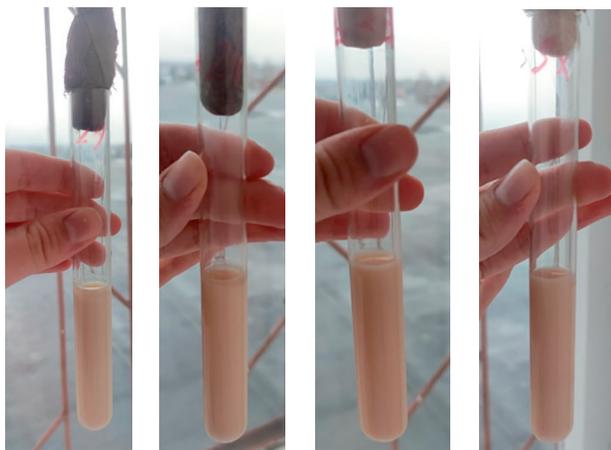


Рис. 3. Учет посева в стерильное обезжиренное молоко

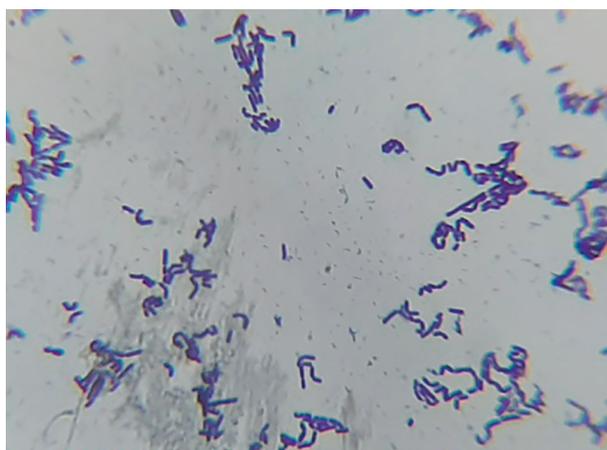


Рис. 4. Микроскопия мазка чистой пробиотической культуры



Рис. 5. Выросшие культуры: слева – *E. coli*, справа – *E. coli* с пробиотиком



Рис. 6. Выросшие культуры: слева – *St. aureus*, справа – *St. aureus* с пробиотиком

Результаты посева в стерильное обезжиренное молоко

Культура	Внешний вид	Вкус и запах	Консистенция
<i>St. aureus</i>	Отсутствие сгустка	Отсутствие запаха диацетила и ацетоина (кисломолочного)	Жидкая, однородная
<i>E. coli</i>	Отделение сыворотки, наличие неоднородного сгустка	Отсутствие запаха диацетила и ацетоина (кисломолочного)	Вверху хлопьевидная масса, пузырьки по объему сгустка
Пробиотик и <i>St. aureus</i>	Однородная жидкость без осадка и хлопьев	Отсутствие запаха диацетила и ацетоина (кисломолочного)	Жидкая, однородная, отсутствие сгустка
Пробиотик и <i>E. coli</i>	Отделение сыворотки, наличие сгустка, вверху газообразование в виде столбика	Отсутствие запаха диацетила и ацетоина (кисломолочного)	Сгусток более плотный (держит форму)
Пробиотик	Плотный сгусток, легкое отделение сыворотки на поверхности	Выраженные кисломолочные вкус и запах	Сгусток плотный

обильнее, чем на половине, засеянной смесью с пробиотиком (рис. 6).

2. Результаты посева в стерильное обезжиренное молоко.

Обсуждение результатов

В ходе работы была выделена чистая культура микроорганизма-пробионта при посеве на МПА. Выявлено снижение активности роста условно-патогенного *St. aureus* при совместном культивировании с пробиотическим микроорганизмом. При этом антагонистическое действие пробиотика на *E. coli* на среде МПА не установлено. Однако, совместное культивирование *E. coli* и пробиотика на стерильном обезжиренном молоке показало сохранение способности обоих микроорганизмов проявлять признаки роста с выделением молочной кислоты и коагуляцией белка.

Заключение

В результате проведенного исследования обнаружен антагонизм бактерий, входящих в состав пробиотической пищевой добавки Life 9, по отношению к условно-патогенному грамположительному микроорганизму *St. aureus*. Кроме того, установлено, что при совместном культивировании с пробиотическим микроорганизмом условно-патогенная грамотрицательная *E. coli* сохраняет свою биохимическую (сахаролитическую) активность. Опыт дифференцированного применения пробиотических препаратов неоспоримо свидетельствует о том, что их использование наиболее физиологично. Более того, использование пробиотических препаратов показало их явное клинико-микробиологическое преимущество перед антибиотиками, усугубляющих дисбиотические явления кишечника.

Список литературы

1. Антимикробные свойства пробиотиков. ООО «Пропионикс, официальный сайт»: Текст: электронный. – URL: <https://propionix.ru/antimikrobnyue-veshchestva-sinteziruemyue-probiotikami>
2. Афонюшкин В. Н., Юшков Ю. Г., Шкред О. В. Способ определения антагонистически активных штаммов бактерий. Патент на изобретение RU 2328734 C1, 10.07.2008. Заявка № 2006133049/15 от 14.09.2006.
3. Госманов Р. Г. Практикум по ветеринарной микробиологии и микологии: учебное пособие / Р. Г. Госманов, Н. М. Колычев, А. А. Барсков. СПб.: Лань, 2022. 384 с. Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. URL: <https://e.lanbook.com/book/211544>
4. Рябцева С. А. Микробиология молока и молочных продуктов: учебное пособие для вузов / С. А. Рябцева, В. И. Ганина, Н. М. Панова. 4-е, стер. СПб.: Лань, 2021. 192 с. Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. URL: <https://e.lanbook.com/book/162387>
5. Садуллоева Т. И. Определение антагонистической активности пробиотических штаммов микроорганизмов / Т. И. Садуллоева, В. Р. Чичерина // Материалы IX Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». Текст: электронный. URL: <https://scienceforum.ru/2017/article/2017039197>
6. Явников Н. В. Отбор штаммов молочнокислых бактерий для создания пробиотической кормовой добавки. / Н. В. Явников // Ветеринария и кормление. 2020, № 5. С. 55–57.
7. Guarner F. Глобальные практические рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации. Пробиотики и пребиотики / F. Guarner, M. E. Sanders, R. Eliakim, R. Fedorak, A. Gangl, J. Garisch. 2017. 37с. Текст: электронный. – URL: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-russian-2017.pdf>
8. Life 9 – пробиотическая добавка. Текст: электронный. URL: https://www.youngliving.com/ru_RU/products/life-9
9. Life 9 Probiotic Supplement Young Living Essential Oils. Текст: электронный. URL: <https://www.youngliving.com/us/en/product/life-9>
10. Servin A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens / A. L. Servin [Text] // FEMS Microbiol. Rev. 2004 Oct. 28(4). 405–40. PMID: 15374659.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-15-19

УДК УДК 619:616.61

Ключевые слова: мастит, заболевания мочевыделительной системы, козы, вымя, морфобioхимические показатели крови и мочи

Key words: mastitis, diseases of the urinary system, goats, udder, morphobiochemical parameters of blood and urine

¹Филатова А. В., ¹Сандакчи Д. Н., ²Губернаторова В. А., ²Никитина А. А.

ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВИ И МОЧЕ У БОЛЬНЫХ КОЗ ПОСЛЕ ОКОТА С ВОСПАЛЕНИЕМ ВЫМЕНИ И ОСЛОЖНЕНИЕМ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ *CHANGES IN BLOOD AND URINE IN SICK GOATS AFTER LAMBING WITH INFLAMMATION OF THE UDDER AND URINARY SYSTEM*

¹ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова»
Адрес: 410012, Россия, Саратов, пр. им. Петра Столыпина, зд. 4, стр. 3

FGBOU VO "Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov"

Address: 410012, Russia, Saratov, pr. im. Peter Stolypin, h. 4, bld. 3

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

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

FGBOU VO "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

Address: 196084, St. Petersburg, Chernigovskaya str., 5

Филатова Алена Владимировна, канд. биол. наук, доцент кафедры «Болезни животных и ВСЭ»,
e-mail: avdeenko8686@mail.ru

Filatova Alyona Vladimirovna, PhD of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary and Veterinary and Sanitary Expertise, e-mail: avdeenko8686@mail.ru

Сандакчи Дарья Николаевна, аспирант кафедры «Болезни животных и ВСЭ», e-mail: oxi694@mail.ru

Sandakchi Darya Nikolaevna, Postgraduate student of the Department of Animal Diseases and Veterinary and Sanitary Expertise, e-mail: oxi694@mail.ru

Губернаторова Виктория Александровна, студентка 4-го курса факультета ветеринарной медицины,
e-mail: potatovi@mail.ru

Gubernatorova Victoriia Aleksandrovna, 4th year student of the Faculty of Veterinary Medicine, e-mail: potatovi@mail.ru

Никитина Анастасия Александровна, канд. вет. наук, доцент кафедры Клинической диагностики,
e-mail: nikitin.g.s007@mail.ru

Nikitina Anastasia Aleksandrovna, PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Clinical Diagnostics, e-mail: nikitin.g.s007@mail.ru

Аннотация. В процессе маммологической диспансеризации молочных коз после окота в различных домохозяйствах и на крупном предприятии в 27,691,79 % случаев выявили субклинические и клинические формы мастита. В крови животных установили снижение буферных оснований в 1,23 раза, альбуминов в 1,35 раза и концентрацию глюкозы в 1,22 раза. По результатам исследований установлены симптомы патологии мочевыделительной системы в 59,8 % случаев у коз с маститом. У коз с клиническим маститом при симптоматике поражения мочевыделительной системы у 44,0 % обнаружены кетоновые тела в моче. Для коз с субклиническим маститом протеинурия превышала уровень 0,3–1 г/л, а у коз с клиническим маститом в 50,7 % случаев от общего числа больных животных с симптоматикой патологического процесса в мочевыделительной системе. У таких животных в плазме крови активность супероксиддисмутазы становится ниже на 14,93 %, чем в группе сравнения. У 3,4 % коз с субклиническим маститом имеется положительная реакция на гемоглобин в моче и у 17,9 % больных клиническим маститом. Таким образом мониторинг крови и мочи у больных коз после окота установил изменения воспалительного характера в вымени и мочевыделительной системе, поэтому рекомендуем ветеринарным специалистам обратить внимание на выявленный нами факт и ввести в протокол лечения мастита лекарственные средства, восстанавливающие функцию мочевыделительной системы.

Annotation. In the process of mammological medical examination of dairy goats after lambing in various households and a large dairy goat enterprise, subclinical and clinical forms of mastitis were detected in 27.691.79 % of cases. In the blood of such animals, a decrease in buffer bases by 1.23 times, albumins by 1.35 times and glucose concentration by 1.22 times was found. According to the results of the studies, symptoms of pathology of the urinary system were established in 59.8 % of cases in the examined patients with goat mastitis. Thus, in goats with clinical mastitis, with symptoms of urinary system damage, 44.0 % had ketone bodies in the urine. For goats with subclinical mastitis, proteinuria exceeded the level of 0.3–1 g/l, and in goats with clinical mastitis in 50.7 % of cases, out of the total number of sick animals with symptoms of a pathological process in the urinary system. In such animals, the activity of superoxide dismutase in blood plasma

becomes 14.93 % lower than in the comparison group. 3.4 % of goat patients with subclinical mastitis have a positive reaction to hemoglobin in the urine and 17.9 % of patients with clinical mastitis. Thus, monitoring of blood and urine in sick goats after lambing has established similar inflammatory changes in the udder and urinary system, therefore, we recommend that veterinary specialists pay attention to the fact we have identified and introduce drugs that restore the function of the urinary system into the mastitis treatment protocol.

Введение

Козоводство, как одна из отраслей животноводства по данным [2, 3] дает народному хозяйству ценную продукцию: диетические продукты питания – молоко, молочнокислые продукты, мясо, пух, однородную шерсть и шкуры.

Однако, как отмечают [1, 5], в современных условиях ведения молочного козоводства, включая робототехнику, отмечаются различные репродуктивные патологии, особенно заболевания коз после окота. Наиболее часто по сведениям ряда авторов [10], у коз после окота происходит развитие различных субклинических форм воспаления вымени, что является основным механизмом нарушения маммогенеза в начальный период лактации с ухудшением качества молока. Кроме того, заболевание коз маститом, по материалам исследований [8, 11], развивается на фоне локального или общего иммунодефицитного состояния под влиянием отрицательного воздействия факторов внешней и внутренней среды.

Некоторыми исследователями [12, 14] было установлено, что при развитии мастита у животных активизируется фермент АлАТ и наоборот угнетается активность фермента АсАТ и щелочной фосфатазы, кроме того они фиксировали повышение концентрации кортизола, инсулиноподобного фактора и тиреоидных гормонов. До последнего времени многие вопросы функционирования системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» и роли мочевыделительной системы у жвачных животных после родов по данным [7, 13] у лактирующих коз еще не изучены.

Ряд зарубежных исследователей [9] считают, что проблема недостаточно освещена в научной литературе, несмотря на ее теоретическую и практическую значимость.

Цель работы. Установить характер изменений в крови и мочи у молочных коз, после окота больных маститом и осложнениями мочевыделительной системы.

Материал и методы

Отбирали образцы крови до кормления животных из-под хвостовой вены коз, принадлежащих различным (ЛПХ) домохозяйствам Ленинградской и Саратовской областей и козьему молочному предприятию Ставропольского края.

Общее содержание кетоновых тел и их фракций определяли йодометрическим методом, описанным в [6].

Для гематологического скрининга применяли методы, описанные в [4]. Иммунотурбиметрическим методом с использованием автоматического планшетного анализатора ИФА (Германия, Human GmbH) проводили определение уровня церулоплазмينا. Методом латекс-агглютинации при помощи набора реагентов (Россия, ООО «Ольвекс-диагностикум») проводили качественное определение содержания С-реактивного белка.

Для анализа мочи использовали тест-полоски Nona phan (Pliva-Lachema), чтобы определить удельный вес, содержание глюкозы, уробилиногена, кетоновых тел и протеина. Кроме того, в крови больных животных проводили исследование по определению первичных и промежуточных продуктов перекисидации липидов по методикам, описанным в публикации [11].

Всего в исследовании было задействовано 26 больных лактирующих коз различными формами проявления мастита с поражением мочевыделительной системы.

При оценке значимости количественных показателей использовали непараметрический аналог t-теста – тест Манна-Уитни с использованием пакета программ Statistica (StatSoft Inc., США, версия 7.0). Для статического анализа полученных данных использовался стандартный пакет программ Microsoft Excel 2000 SPSS 10.0.5 для Windows.

Результаты исследований

Данные исследования мочи, полученной от больных маститом и здоровых коз в результате маммологической диспансеризации после окота, изображены графически на рисунке 1.

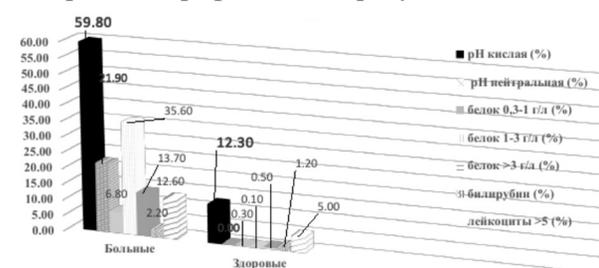


Рис. 1. Графические цифровые показатели исследования мочи больных коз с воспалением вымени и мочевыделительной системы

Таблица 1

Сегментация показателей протеинограммы крови у больных коз после окота

Показатели	Альбумины, мкмоль/л	α -глобулины	β -глобулины	γ -глобулины
Клинически здоровые, (n=17)	58,310,21	0,120,01	0,110,03	0,360,02
Субклинический мастит, (n=13)	57,9 \pm 0,12	0,11 \pm 0,02	0,09 \pm 0,04	0,37 \pm 0,03
Клинический мастит, (n=7)	54,12 \pm 0,31*	0,03 \pm 0,48*	0,13 \pm 0,03	0,39 \pm 0,08
Клинический мастит, осложненный почечной недостаточностью, (n=6)	53,7 \pm 0,22*	0,09 \pm 0,03	0,17 \pm 0,02*	0,46 \pm 0,02*

Примечание: * p<0,05; ** p<0,01.

По результатам исследований получили данные, так удельный вес мочи у больных коз субклиническим маститом составил 1,007–1,030, а у коз с клинической формой течения мастита 1,003–1,045. У 59,8 % обследуемых больных субклиническим маститом коз была выявлена кислая реакция среды, у 21,9 % – нейтральная, у 18,3 % – щелочная. У коз с клиническим маститом были получены такие показатели: 44,0 % – кислая реакция, 19,4 % – нормальная, 36,6 % – щелочная. Получается, что у коз с клинической формой течения мастита сдвиг рН мочи в направлении щелочной реакции. Кроме того, в моче больных коз с воспалением вымени и мочевыделительной системы обнаружены кетоновые тела в 19,7 % случаев от общего числа животных, а наличие глюкозы в 16,7 % случаев.

Протеинурия является одним из основных симптомов наличия болезней почек у больных маститом животных. Для больных субклиническим маститом коз эти превышения уровня составили 0,3–1 г/л, что обычно наблюдается у 50,7 %, свыше 1–3 г/л – у 49,3 %. Для больных клиническим маститом коз эти превышения составляют 0,3–1 г/л в 56,7 % случаев, свыше 1–3 г/л – в 43,3 % случаев от общего количества больных животных. Таким образом, было обнаружено, что умеренная протеинурия есть у большинства больных коз клиническим маститом с

воспалительным процессом в мочевыделительной системе (56,7 %).

Так в 12,2 % случаев у больных субклиническим маститом коз обнаружен билирубин в моче и у 27,4 % коз, больных клиническим маститом. В тех случаях, когда содержание билирубина в моче высокое, образец был коричневого окраса у коз, больных клиническим маститом, – 12,6 % от общего количества. У 38,0 % коз, больных клиническим маститом, выявлена лейкоцитурия.

Полученный цифровой материал динамики протеинограммы у коз, больных клиническим маститом с симптомами воспаления вымени и мочевыделительной системы, отражены в данных Таблицы 1.

Уровень альбуминов у больных коз снижен в 1,27 раза, данные статистически достоверны, p<0,01. Практически у всех больных коз после окота (85,71 %) содержание АЛТ было повышено (p<0,01), а АСТ понижено (p<0,05) – данные представлены в Таблице 2.

Происходящие изменения в организме больных коз после окота свидетельствует о включении в патологический процесс дестабилизации обмена метаболитов при нарушении функционирования почек.

Полученный цифровой материал динамики прогестерона и кортизола отражен в показателях плазмы крови и представлен графически в цифрах на рисунке 2. Индекс соотношения прогесте-

Таблица 2

Цифровая картина содержания АСТ и АЛТ в крови у при заболевании коз маститом

Группы заболевших животных	АСТ, Ед./л	АЛТ, Ед./л
Клинически здоровые животные, (n=17)	119,93 \pm 10,6	45,23 \pm 1,15
Субклинический мастит, (n=13)	100,23 \pm 9,67	43,54 \pm 0,87
Клинический мастит, (n=7)	84,12 \pm 2,31*	38,33 \pm 0,48*
Клинический мастит, осложненный почечной недостаточностью, (n=6)	86,02 \pm 2,32*	37,63 \pm 0,93*

Примечание: * p<0,05; ** p<0,01.

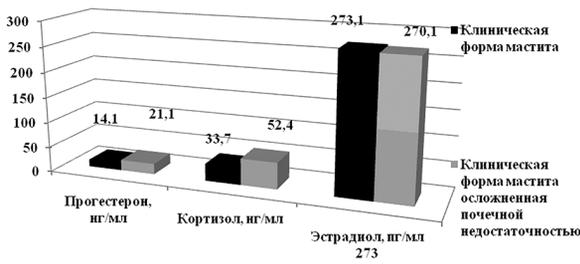


Рис. 2. Графическое изменение прогестерона, эстрадиола и кортизола в плазме крови больных коз после окота

рона с эстрадиолом, у которых мастит протекал сочетанно с поражением в мочевыделительной системе, оказался ниже в 1,8–2,2 раза, чем у больных коз, у которых мастит протекал без каких-либо осложнений, а уровень кортизола был достоверно повышен в 1,43 раза, $p < 0,01$.

У больных коз отмечали повышение концентрации в крови промежуточного продукта перекисидации липидов – ГПО и снижение витамина С на 16,6 %, а витамина Е на 15,6 %. Полученный цифровой материал показателей ферментативного звена перекисидации промежуточного продукта представлен графически в цифрах рисунка 3.

Полученные данные статистически обработаны методом рангового однофакторного анализа Крускала-Уоллиса и отражены графически в цифрах рисунка 4.

Уровень α -токоферола в крови достоверно снижается в 1,67 раза, $p < 0,05$. Содержание в крови больных коз ретинола также достоверно снижено до $3,41 \pm 0,38$ мкмоль/л, $p < 0,01$. Очень важным информативным показателем у больных коз оказался фермент супероксиддисмутаза, параметры которого снижались с $8,541 \pm 0,23$ до $4,26 \pm 0,37$, данные достоверны у 80,0 % больных животных, $p < 0,01$. Уровень церулоплазмينا в крови больных коз клиническим маститом находился в пределах $74,28 \pm 7,97$ мг/дл, в то время как субклиническим маститом находился в пределах $47,94 \pm 6,74$ мг/дл от 25 % до 75 % центри-



Рис. 4. Графическое изменение α -токоферола, ретинола и супероксиддисмутазы в крови больных коз после окота, (n=20)

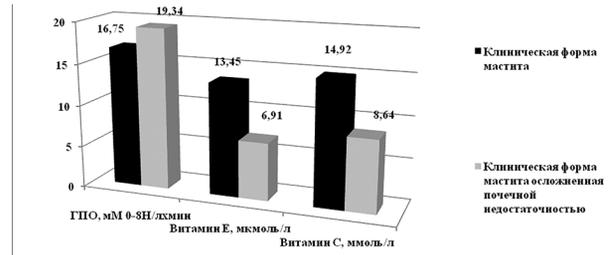


Рис. 3. Графическое изображение цифровых показателей промежуточного продукта перекисидации липидов ГПО, витамина Е и С у больных коз после окота

оли, а в группе контроля (клинически здоровых) $27,73 \pm 2,32$ мг/дл.

Применение метода рангового однофакторного анализа Крускала-Уоллиса в группах больных серозным маститом коз в сравнении с группой коз, больных катаральным маститом, было выявлено статистически достоверное различие между больными козами с выявленными маркерами церулоплазмينا, который характеризует состояние коз после окота ($p < 0,05$). При проведении сравнительного анализа оценки значимости количественных показателей использовали непараметрический тест Манна-Уитни, установил во всех трех группах достоверное межгрупповое отличие ($p < 0,01$). Представленные данные дают прогноз неблагоприятного исхода течения мастита у коз, когда их биохимические параметры показывают снижение кортизола менее 20,0 нг/мл, Jg G и ЛДГ менее 80,0 ед./л. Положительный результат был получен в 80 % случаев, в сравнении с контрольной группой животных, где не было выявлено ни одной положительной реакции на С-реактивный белок при проведении исследований в обеих подгруппах основной группы больных коз после окота. Средний уровень церулоплазмينا в основных группах больных коз с нарушением функции почек на фоне воспаления молочной железы было выявлено статистически достоверное различие между больными животными с выявленными маркерами острого патологического процесса ($p < 0,05$).

Заключение

В послеродовой период в $27,69 \pm 1,79$ % случаях у коз установлен мастит в вымени различных форм проявления и патологический процесс в мочевыделительной системе, у таких животных в крови и моче отмечается снижение концентрации глюкозы в 1,13–1,22 раза и содержания альбуминов в 1,21–1,51 раза соответственно. У коз, больных после окота маститом и осложнением в мочевыделительной системе, установлен достоверный повышенный уровень церулоплазмينا

и получен положительный тест на С-реактивный белок. В 59,8 % случаях обследуемых больных коз после окота с воспалением вымени и осложнением в мочевыделительной системе установлена протеинурия, в 38,0 % случаях лейкоцитурия, а у 27,4 % обнаружен билирубин в моче.

Список литературы

1. Абдессемед Д. Диагностика и терапия субклинического мастита у лактирующих коров / Д. Абдессемед, В. С. Авдеенко, А. В. Авдеенко, С. В. Новикова, А. А. Сазонов // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н. И. Вавилова. 2014. № 3. С. 3–6.
2. Алиев А. Ю. Влияние субклинической формы мастита на качественный состав молока / А. Ю. Алиев, С. В. Федотов, Н. С. Белозерцева // Кормление и ветеринария. 2021. №6. С. 4–7.
3. Новопашина С. И. Перспективы развития и научного обеспечения молочного и мясного козоводства в России / С. И. Новопашина, М. Ю. Санников // Овцы, козы, шерстяное дело. 2013. №2. С. 61–65.
4. Карпенко Л. Ю. Оценка химического состава козьего молока. / Л. Ю. Карпенко, А. А. Баха, А. Б. Балыкина // Современные проблемы пищевой безопасности. Матер. Межд. науч. Конф. СПб., 2020. С. 118–119.
5. Племяшов К. В. Метаболические индикаторы в диагностике и прогнозе течения субклинического и клинического мастита у коз после окота / К. В. Племяшов, А. В. Филатова, Д. Н. Сандакчи, В. С. Авдеенко // Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии №4 (2022). С. 72–77.
6. Семиволос А. М. Рекомендации по диагностике, терапии и профилактике маститов у коров. / А. М. Семиволос, В. С. Авдеенко, В. Г. Гавриш. Саратов. 2009. с. 89.

7. Федотов С. В. Биотехника воспроизводства с основами акушерства / С. В. Федотов, В.С. Авдеенко. ИНФО-М. 2022. 432 с.

9. Fedotov S. V. The qualitative composition of milk from cow with sub-clinical mastitis. / S. V. Fedotov, V. S. Avdeenko, N. S. Belozhercheva, I. M. Yahaev, A. V. Filatova // Reproduction in domestic animals. 2019. vol. 54. s. 3. P. 138–139.

8. Fedotov S. V. Enhancements in the diagnosis of mastitis in cows, held in an intensive farming system. / S. V. Fedotov, R. R. Gade, N. I. Sidnev, F. Sakr, I. S. Zhrebtsov // The Indian veterinary journal. July 2022: 99 (7)

10. Fouda T. A. Serum Copper Concentration and Immune Status of Sheep: Clinical and Laboratory Study / T. A. Fouda, M. A. Youssef, W. M. El-Deeb // Veterinary Research. 2012. № 5. P. 16–21.

11. Filatova A. V. Milk quality and its technological suitability for processing after the disinfection of the udder teats in cows / A. V. Filatova, M. V. Nistratova, Yu. V. Bibaeva, S. V. Kozlov // Conference on Agricultural Science and Engineering IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 845 (2021) 012101IOP. Publishing doi:10.1088/1755-1315/845/1/012101.

12. Filatova A. V. Functional state of the udder of cows after the treatment of the udder nipples with hygiene products during milking / A. V. Filatova, M. V. Nistratova, Yu. V. Bibaeva, S. V. Kozlov // BIO Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference. 2021. С. 06035.

13. Liesegang A. Effect of vitamin E supplementation of sheep and goats fed diets supplemented with polyunsaturated fatty acids and low in Se. / A. Liesegang, T. Staub, B. Wichert, M. Wanner, M. Kreuzer // Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2008. № 92(3). P. 292–302.

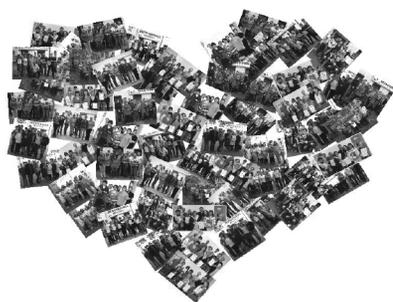
14. Traber M. G. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective / M. G. Traber, J. F. Stevens // Free Radical Biology and Medicine. 2011. V. 51. №5. С.1000–1013.

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: 10.24412/2074-5036-2023-3-20-32

УДК: 619:616.98:578.825.1:578.823.1:616-076:577.2:599.735

Ключевые слова: подсемейство γ -*Herpesvirinae*, злокачественная катаральная горячка (ЗКГ), консенсусная ПЦР на пангерпесвирус, вырожденные гибридные праймеры, олигонуклеотидные дезоксиинозин-замещенные праймеры, секвенирование нового поколения

Key words: subfamily γ -*Herpesvirinae*, malignant catarrhal fever (MCF), panherpesvirus consensus PCR, degenerate hybrid primers, oligonucleotide deoxyinosine-substituted primers, next generation sequencing

¹Доронин М. И., ²Малыгин М. П., ¹Михалишин Д. В., ¹Мороз Н. В.,
¹Борисов А. В., ¹Чвала И. А.

СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ КАТАРАЛЬНОЙ ГОРЯЧКИ MODERN MOLECULAR-BIOLOGICAL METHODS FOR INVESTIGATION OF THE CAUSER OF MALIGNANT CATARRHAL FEVER

¹ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ВНИИЗЖ)

Адрес: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец

Federal Center for Animal Health (ARRIAH)

Address: 600901, Vladimir, md. Yurievets

²ОБУЗ «Ивановский областной наркологический диспансер»

Адрес: 153000, г. Иваново, ул. Постышева, 54/1

Ivanovo regional narcological dispensary

Address: 153000, Ivanovo, st. Postysheva, 54/1

Доронин М. И., доктор биологических наук, заведующий сектором, e-mail: doronin@arriah.ru

Doronin M. I., Doctor of Biological Sciences, Head of Sector, e-mail: doronin@arriah.ru

Малыгин М. П., заведующий отделением, e-mail: ivreg@doctor-malygin.ru

Malygin M.P., Head of Department, e-mail: ivreg@doctor-malygin.ru

Михалишин Д. В., доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией, e-mail: mihalishin_dv@arriah.ru

Mikhalishin D. V., Doctor of Veterinary Sciences, Head of Laboratory, e-mail: mihalishin_dv@arriah.ru

Мороз Н. В., кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по производству, e-mail: moroz@arriah.ru

Moroz N. V., PhD of Veterinary Sciences, Deputy Director for Production, e-mail: moroz@arriah.ru

Борисов А. В., кандидат ветеринарных наук, начальник отдела профилактики ящура, e-mail: borisov_av@arriah.ru

Borisov A. V., PhD of Veterinary Sciences, Head of the FMD Prevention Department, e-mail: borisov_av@arriah.ru

Чвала И. А., кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР, e-mail: chvala@arriah.ru

Chvala I. A., PhD of Veterinary Sciences, Deputy Director for Research, e-mail: chvala@arriah.ru

Аннотация. Вирусы семейства *Herpesviridae* обнаружены у большинства животных, в том числе у млекопитающих. Геном герпесвирусов состоит из крупной линейной двухцепочечной ДНК, окруженной белковым икосаэдрическим капсидом с дополнительной билипидной оболочкой. В связи с непрерывными процессами давления эволюционного отбора в популяциях и быстрым ростом генетической изменчивости возникают новые штаммы герпесвирусов, в частности, γ -герпесвирусов, которые вызывают злокачественную катаральную горячку (ЗКГ, *Malignant Catarrhal Fever* (MCF)). Вирусы ЗКГ у домашнего скота и диких животных провоцируют развитие спорадической болезни, приводящей к смерти в течение нескольких дней после появления клинических признаков и, как следствие, к серьезным экономическим потерям. Идентификация и характеристика герпесвирусов, адаптированных к новым зоологическим хозяевам, требует применения современных молекулярно-биологических методов. В условиях отсутствия на сегодняшний день доступных коммерческих вакцинных препаратов против данного заболевания важным шагом к улучшению ситуации являются разработка и применение современных молекулярных подходов для индикации и филогенетической характеристики γ -герпесвирусов, а также их эволюционного взаимодействия с хозяевами. Существующий в настоящее время ПЦР-тест на пангерпесвирусы с вырожденными праймерами, основанный на консервативном гене ДНК-полимеразы, с последующим секвенированием, по-прежнему является предпочтительным методом для дифференциации возбудителей герпесвирусных инфекций. При этом данный тест имеет существенный недостаток – реакция амплификации проводится относительно короткой нуклеотидной последовательности, что делает филогенетическое исследование менее строгим. Учитывая данное ограничение в применении указанного метода, в настоящей статье мы представили результаты анализа доступных в настоящее время способов индикации ДНК γ -герпесвирусов, обнаруживая преимущества и недостатки, а также задачи, которые необходимо разрешить в области молекулярно-биологических исследований. В представленном обзоре

отражены также возможные подходы к усовершенствованию генетических приемов в отношении исследованных герпесвирусов.

Summary. *Viruses of the Herpesviridae family are found in most animals, including mammals. The genome of herpesviruses consists of a large linear double-stranded DNA surrounded by a proteinaceous icosahedral capsid with an additional bilipid shell. Due to the continuous processes of evolutionary selection pressure in populations and the rapid increase in genetic variability, new strains of herpes viruses, in particular, γ -herpesviruses, which cause malignant catarrhal fever (MCF), are emerging. MCF-viruses cause sporadic disease in livestock and wild animals, resulting in death within days of onset of clinical signs, resulting in severe economic losses. The identification and characterization of herpesviruses adapted to new zoological hosts requires the use of modern molecular biological methods. In the absence of currently available commercial vaccine preparations against this disease, an important step to improve the situation is the development and application of modern molecular approaches for the indication and phylogenetic characterization of γ -herpesviruses, as well as their evolutionary interaction with hosts. The current PCR-test for panherpesviruses with degenerate primers based on a conserved DNA polymerase gene followed by sequencing is still the preferred method for differentiating herpesvirus infections. At the same time, this test has a significant drawback — the amplification reaction is carried out with a relatively short nucleotide sequence, which makes the phylogenetic study less rigorous. Given this limitation in the application of this method, in this article we presented the results of the analysis of currently available methods for indicating the DNA of γ -herpesviruses, revealing the advantages and disadvantages, as well as the tasks that need to be solved in the field of molecular biological research. The present review also reflects possible approaches to improve genetic techniques in relation to research on herpesviruses.*

Введение

Злокачественная катаральная горячка (ЗКГ) – системное, инфекционное заболевание домашних и диких парнокопытных животных во всем мире с летальным исходом [1, 2]. К сожалению, в настоящее время данная болезнь недооценивается, отсутствуют доступные коммерческие вакцины и эффективные методы лечения, а также во многих странах отмечается ограничение средств лабораторной диагностики ЗКГ [3, 4]. Первичные мероприятия по борьбе с распространением данного заболевания заключаются в изоляции восприимчивых животных [5, 6], чтобы предотвратить передачу вируса на зоологические виды и внутри них, а также распространение вируса от резервуаров и животных-носителей к восприимчивым видам [7, 8].

Экологи всего мира отмечают явную угрозу от ЗКГ в отношении серьезного влияния на сокращение генетического разнообразия пораженных видов животных, особенно находящихся под угрозой исчезновения [9–11]. Следует отметить, что на сегодняшний день информация о новых генотипах возбудителя злокачественной катаральной горячки, а также о филогенетических отношениях и эволюционных связях с видами-хозяевами ограничена [12, 13]. Получение новых знаний о генетической характеристике герпесвирусов могло бы помочь в разработке современных вакцинных препаратов и улучшенных диагностических тест-систем, идентификации новых адаптированных хозяев [14–17]. При проведении серологических и молекулярно-биологических исследований на ЗКГ возникают проблемы с интерпретацией диагностических тестов [18]. Так, у видов-резервуаров часто бывает положительный результат на вируснейтрализующие антитела, а положительный результат ПЦР

встречается реже и может быть прерывистым у одной и той же особи, и наоборот [19–21].

Исходя из этого, первым шагом на пути к улучшению эпизоотической ситуации в отношении ЗКГ должно быть усовершенствование молекулярно-биологических инструментов для генетической характеристики представителей β -герпесвирусов. В настоящее время для подобного анализа применяют молекулярно-биологические методы, основанные на консенсусной ПЦР для пангерпесвирусов с дегенеративными и дезоксиинозинзамещенными олигонуклеотидными праймерами [22–27]. Данная статья направлена на описание и обсуждение современных подходов в области исследования генетики герпесвирусов, выявление проблем диагностики и попытку найти их возможные разрешения.

Основная часть

Краткая генетическая характеристика представителей семейства Herpesviridae

Вирусы семейства *Herpesviridae* обнаружены у большинства животных, в том числе у млекопитающих. Вирион состоит из линейной двухцепочечной ДНК размером 131 000–132 000 п. н., окруженной икосаэдрическим капсидом, который покрыт белковым матриксом (тегументом), связанным с оболочкой, содержащей гликопротеины [28–30]. Наружная поверхность тегумента связана с липидной двухслойной оболочкой, которая содержит интегральные гликопротеины: тример гликопротеина В, мономер гликопротеина С, гомодимер гликопротеина D, гликопротеин Н обеспечивают проникновение вириона в клетку-хозяина (рис. 1). При электронной микроскопии обнаруживают вирионы диаметром 140–280 нм с внешней оболочкой и центральным капси-

дом, а также вирионы диаметром 100 нм, состоящие из сетчатого капсида [2, 31, 32].

На основании молекулярно-филогенетического анализа пришли к выводу, что семейство *Herpesviridae* далее делится на три подсемейства: *α-Herpesvirinae*, *β-Herpesvirinae* и *γ-Herpesvirinae*, которые в последующем сформировались в роды, виды и генетические линии [10, 33, 34, 35]. Вирусы, принадлежащие к подсемейству *γ-Herpesvirinae*, имеют ограниченный круг хозяев и вызывают пожизненную латентную инфекцию в лимфоцитах. Данное подсемейство включает в себя семь родов: *Macavirus* (например, птичий *herpesvirus-2*), *Percavirus* (например, герпесвирус-1 куньих), *Lymphocryptovirus* (например, герпесвирус-4 человека), *Rhadinovirus* (например, герпесвирус-8 человека), *Bosavirus* (например, герпесвирус-1 дельфинов), *Manticavirus* (например, герпесвирус-1 вомбатов, сумчатых из Австралии) и *Patagivirus* (например, герпесвирус-3 летучих мышей) [8, 32, 36, 37].

Характеристика возбудителя катаральной злокачественной горячки и болезни

Впервые катаральную злокачественную горячку под названием «тиф крупного рогатого скота» описал в 1832 г. Анкер. Вирусную природу ЗКГ определил Меттам (1923 г.), а сам вирус выделил Пирси (1953 г.). Амстронг описал и отнес его к семейству *Herpesviridae* роду *Macavirus* (1964 г.) [38–40]. При этом следует отметить, что возбудителей данного заболевания внутри рода несколько, а именно выделяют различные виды вируса, представленные в таблице 1. Вирусы катаральной злокачественной горячки (ВКЗГ) антигенно и генетически родственны, характеризуются наличием антигенного пептида 15-А в составе гликопротеина В и высокой гомологичностью нуклеотидной последовательности вирусной ДНК-полимеразы [5, 41–43].

ЗКГ – лимфопролиферативное заболевание, течение которого зачастую завершается летальным исходом. Основными клиническими признаками являются лихорадка, обильные выделения из носа, офтальмит, помутнение роговицы, генерализованная лимфаденопатия, эрозии верхних дыхательных путей и лейкопения желудочно-кишечного тракта, неврологические проявления и диарейные симптомы. Как правило, пораженные животные погибают в течение нескольких дней после появления первых клинических признаков. При этом следует отметить, что вспышки заболевания КРС обычно носят спорадический характер, причины чего неизвестны. Некоторые виды оцениваются особенно восприимчивыми, например, олень отца Давида [7], балийский крупный рогатый скот [32] и бизоны [14]. В литературе описаны факты, что многие олени умирают в течение 48 часов после появления первых симптомов, а бизоны – в течение трех дней [44], напротив, КРС после заражения обычно выживает в течение недели или более [45, 46].

ЗКГ является важным заболеванием, при котором происходит смешивание резервуарных видов и восприимчивых животных. Особые проблемы возникают с балийским скотом в Индонезии [15, 47], бизонами в США [16, 19] и пастбищными стадами в Восточной и Южной Африке [48].

Патогенными вирусами являются *Alcelaphine-herpesvirus 1 (AlHV-1)*, *Ovine-herpesvirus 2 (OvHV-2)*, *Caprine-herpesvirus 2 (CpHV-2)*, *Ibex-MCFV*, *Caprine-herpesvirus-3 (CpHV-3)* и *Alcelaphine-herpesvirus 2 (AlHV-2)*, которые поражают многие виды копытных. Вирус секретируется в выделениях из глаз и носа и может передаваться непосредственно восприимчивому хозяину или загрязнять окружающую среду [49–52].

Таблица 1

Виды вирусов, которые вызывают симптомы катаральной злокачественной горячки у животных

Наименование вида вируса	Наименование резервуарного вида	Наименование восприимчивого вида-хозяина
<i>Ovine-herpesvirus-2</i>	Овца, муфлон	Домашние козы, олень, бизон, свинья, КРС
<i>Caprine-herpesvirus-2</i>	Коза	Пятнистый олень, белохвостый олень
<i>Caprine-herpesvirus-3</i>	Коза	Красный олень, северный олень
<i>Alcelaphine-herpesvirus-1</i>	Гну	КРС, олень
<i>Alcelaphine-herpesvirus-2</i>	Зверобой, топи	Берберийский красный олень, бизон
<i>Ibex-Malignant Catarrhal Fever Virus</i>	Козерог	Бонго антилопы, вилорог, дукеры

Примечание: жирным шрифтом обозначены наиболее изученные возбудители КЗГ.

В настоящее время наиболее изученными вирусами КЗГ являются *AiHV-1* и *OvHV-2*, для которых в базе данных Genbank представлены полногеномные последовательности нуклеотидов (*AiHV-1*: KX905134.1, KX905136.2, KX905135.1, *OvHV-2*: NC_007646.1, AY839756.1, DQ198083.1).

По данным многих исследователей для проведения филогенетического анализа возбудителей КЗГ используют гены, кодирующие главный ДНК-связывающий белок, ген упаковки ДНК, каталитическую субъединицу ДНК-полимеразы, гликопротеин В (gB), главный капсидный белок и гены ДНК-геликазы и урацил-ДНК-гликозилазы [8, 53–55]. Для большинства этих генов доступны полные последовательности нуклеотидов и аминокислот [56]. Таким образом, филогенетический анализ проводится путем выравнивания достаточно консервативных аминокислотных последовательностей, кодируемых этими генами [12, 57].

Эпизоотическая ситуация по КЗГ хорошо известна только для этих двух вариантов вирусов [15, 58–60]. *AiHV-1* переносится синими и черными антилопами гну и вызывает заболевание у крупного рогатого скота и оленей. Данный вирус чаще всего встречается в Африке во время сезона отела антилоп гну, хотя спорадические случаи регистрируют на охотничьих фермах во всем мире [61–65]. *OvHV-2* переносится домашними и дикими овцами и вызывает заболевание у крупного рогатого скота, оленей, бизонов, домашних коз и иногда у свиней и жирафов. Данный вирус распространен по всему миру [64, 66–69]. Во многих европейских странах проводится исследование овец на *OvHV-2* и антилоп гну на *AiHV-1* перед перемещением. При этом не оценивают возможное наличие иных вирусов, которые вызывают симптомы КЗГ. По причине вышеупомянутых диагностических проблем в мире очень мало данных о молекулярной эпидемиологии болезни. Таким образом, необходимы новые диагностические тесты для более детального генетического анализа возбудителей КЗГ [20, 70–74].

Методы молекулярно-биологического исследования для детекции и филогенетического анализа вирусов

В последние десятилетия были разработаны методики для идентификации и филогенетической характеристики вирусов. Ниже представлены различные используемые методы, а также новые подходы для преодоления ограничений разработанных ранее тестов.

Полимеразная цепная реакция

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – современный инструмент, который можно исполь-

зовать для амплификации последовательностей генов-ортологов родственных организмов, которые эволюционировали вертикально от одного предкового гена, принадлежащего общему предку сравниваемых организмов. Следует также отметить, что ПЦР позволяет идентифицировать новые виды или штаммы патогенов с помощью филогенетического анализа [69].

Олигонуклеотидные праймеры конструируют из высококонсервативных областей, присутствующих в ортологичных последовательностях, которые сначала обнаруживают с помощью множественного выравнивания известных последовательностей, эволюционно связанных с целевым ортологичным. Дизайн олигонуклеотидов основан на двух известных стратегиях [75, 76].

Первая стратегия заключается в синтезе пула различных олигонуклеотидных последовательностей, называемых вырожденными праймерами, на основе известных нуклеотидных последовательностей высококонсервативных областей, причем каждый праймер содержит возможный нуклеотидный вариант консервативной нуклеотидной области [56, 77–81]. Считается, что создавать вырожденные праймеры с использованием низкоконсервативных участков нецелесообразно, поскольку это приведет к непропорционально низкому выходу специфического продукта в ПЦР и высокому синтезу неспецифических ампликонов. Кроме того, олигонуклеотиды с разным содержанием или длиной нуклеотидов АТ/СГ могут вызвать проблемы с поиском оптимальной температуры отжига праймеров, что снижает чувствительность и специфичность реакции амплификации [5, 21, 82–88]. При этом важным преимуществом консенсусной ПЦР с вырожденными праймерами является возможность амплифицировать последовательности неизвестных и отдаленно родственных штаммов вирусов.

Вторая стратегия реализуется в создании единой олигонуклеотидной последовательности, называемой консенсусным праймером, которая содержит наиболее распространенный нуклеотид в каждом положении кодона в консервативных областях. Такой вариант праймеров позволяет идентифицировать высококонсервативные гомологичные гены, но пропускает менее родственные последовательности [4, 89–92] или новые вирусы. Нужно отметить, что ПЦР, разработанная на стратегии вырожденных или консенсусных праймеров, в отдельности важны для конкретных целей, таких как обнаружение высокородственных генов, но при этом они демонстрируют низкую специфичность и чувствительность для обнаружения отдаленно родственных генов [65, 93, 94].

ПЦР с использованием вырожденных гибридных олигонуклеотидов

Для повышения диагностических показателей ПЦР можно объединить характеристики консенсусного и вырожденного олигонуклеотидов, получив консенсусно-вырожденные гибридные олигонуклеотидные праймеры [74, 95, 96]. Они представляют собой пул праймеров, где каждый олигонуклеотид состоит из 30 коротких вырожденных сердцевинных участков и длинных 50 консенсусных зажимных участков [80, 97, 98]. Такие олигонуклеотиды разработаны на основе последовательностей, кодирующих консервативные аминокислотные области, которые идентифицируются путем множественного выравнивания известных протеиновых последовательностей, которые эволюционно связаны с мишенями. Консервативные области содержат мотив, состоящий из нескольких высококонсервативных аминокислот, которые кодируются вырожденными кодонами [25]. Короткая 30-нуклеотидная дегенеративная область будет содержать все возможные кодоны, кодирующие высококонсервативные аминокислотные мотивы, в то время как длинная 50-нуклеотидная консенсусная «зажимная» область будет содержать наиболее распространенные нуклеотиды, кодирующие консервативные аминокислотные остатки. Такой подход позволяет уменьшить количество индивидуальных праймеров и увеличить концентрацию более специфических олигонуклеотидов в пуле [14, 99, 100].

Таким образом, специфичность реакции амплификации повышается на начальных циклах ПЦР, когда праймеры, содержащие короткую 30-нуклеотидную вырожденную область, гибридизуются без какого-либо несовпадения с ДНК-матрицей. Отжиг стабилизируется длинной 50-нуклеотидной консенсусной «зажимной» областью, что позволяет использовать более высокую температуру отжига. В итоге на ранних циклах амплификации в результате реакции получают высокий выход специфических продуктов, содержащих последовательности праймеров, а в последующих циклах гибридизация между праймерами и специфическими продуктами будет контролироваться длинной консенсусной областью зажима [47, 101]. Следовательно, применение ПЦР с использованием консенсусных вырожденных гибридных олигонуклеотидов при исследовании сложных смесей генетического материала различных видов патогенов дает возможность повысить специфичность и чувствительность молекулярно-биологического анализа для выявления и амплификации отдаленно

родственных генов, кодирующих консервативные области [54, 65, 78, 101, 102].

Методы молекулярно-биологического исследования для детекции и филогенетического анализа возбудителей КЗГ

Для идентификации потенциально неизвестных представителей КЗГ некоторыми исследователями использовалась ПЦР с применением олигонуклеотидных праймеров для детекции отдельных белковых доменов [15], поскольку семейство *Herpesviridae* характеризуется гораздо большим количеством синонимичных замен в геноме [1]. Авторами был идентифицирован основной набор ортологичных генов, содержащий нуклеотидные консервативные последовательности для всех герпесвирусов млекопитающих, включая гены, представленные выше [9, 31]. Рассмотрим отдельные тесты, которые в настоящее время используются для характеристики возбудителей КЗГ.

Консенсусная ПЦР для обнаружения вирусов КЗГ

A. Galvão et al. провели выравнивание 40 нуклеотидных последовательностей ДНК-полимеразы возбудителей КЗГ и впервые выявили наличие в них нескольких консервативных участков [32]. В последующем Van Devanter et al. использовали A-, B- и C-последовательности данных участков для создания комбинации вырожденных праймеров и консенсусных вырожденных гибридных олигонуклеотидов для ПЦР (DFA, ILF, TGV, IYG и KG1), способных амплифицировать короткие (от 215 до 315 п. н.) ампликоны, расположенные между B- и C-областями ДНК-полимеразы герпесвирусов [33].

Олигонуклеотидный праймер DFA полностью вырожден, в то время как праймеры ILF, TGV, IYG и KG1 разработаны с применением технологии создания консенсусных вырожденных гибридных олигонуклеотидов [28]. Первичная реакция амплификации выполняется с двумя прямыми олигонуклеотидами (DFA и ILK) и одним обратным (KG1) праймером. Вторичную ПЦР проводят с одним прямым (TGV) и одним обратным праймером IYG (таблица 2). Вторичные ампликоны секвенируют с применением праймеров TGVseq и IYGseq или тех же праймеров, которые применяются во вторичной реакции амплификации [33]. Преимущество этих универсальных праймеров заключается в том, что они способны обнаруживать практически любой представитель герпесвирусов пресмыкающихся, птиц и млекопитающих (рисунок 2).

Таблица 2

Дизайн олигонуклеотидных праймеров, применяемых для вырожденной реакции амплификации (по данным Van Devanter et al.) для идентификации и филогенетического анализа возбудителей КЗГ

Этап анализа	Дизайн олигонуклеотидных праймеров		Размер ПЦР-продукта, п. н.
	прямой праймер	обратный праймер	
Первичная ПЦР	DFA: 5'-GAY TTY GCN AGY YTN TAY CC-3' ILK: 5'-TCC TGG ACA AGC AGC ARN YSG CNM TNA A-3'	KG1: 5'-GTC TTG CTC ACC AGN TCN ACN CCY TT-3'	215-315
Вторичная ПЦР	TGV: 5'-TGT AAC TCG GTG TAY GGN TTY ACN GGN GT-3'	IYG: 5'-CAC AGA GTC CGT RTC NCC RTA DAT-3'	
Секвенирование	TGVseq: 50-CAT CTG ATG TAA CTC GGT GTA-30 bottom line	IYGseq: 50-GAC AAA CAC AGA GTC CGT-30	-

Примечание: Ia — дезоксиинозин.

Представленная консенсусная ПЦР — мощный инструмент для идентификации различных изолятов/штаммов герпесвирусов в исследуемых образцах. Так, S. A. Headley et al. провели филогенетический анализ 7 известных и 14 неизвестных видов семейства *Herpesviridae* [36]. Другие исследователи охарактеризовали новые γ-герпесвирусы, выделенные от парнокопытных, применяя также данную методику [28].

ПЦР с использованием консенсусных вырожденных гибридных олигонуклеотидов для характеристики возбудителей КЗГ

V. Ehlers et al. с помощью использования дезоксиинозин-замещенных праймеров и благодаря введению дезоксиинозина в праймеры усовершенствовал первоначальный вариант консенсусной ПЦР [23, 24]. Дезоксиинозин (Ia) — это универсальное основание, которое может соединяться со всеми четырьмя нуклеотидами без дестабилизации химической связи. Остатки Ia могут быть введены в положения праймеров с максимальной вырожденностью, чтобы уменьшить сложность пула вырожденных праймеров.

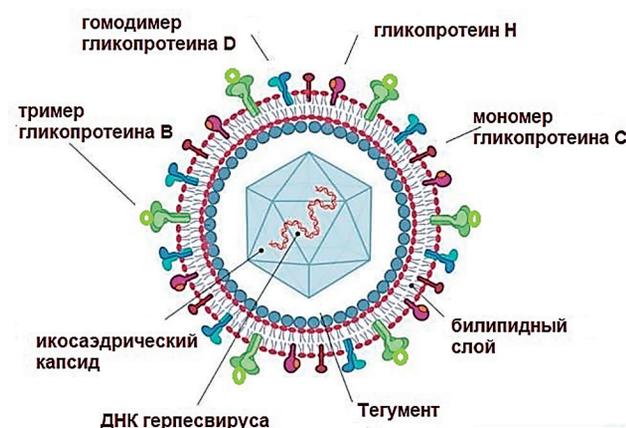


Рис. 1. Схематическое изображение вириона герпесвирусов (выполнен с помощью компьютерной программы Microsoft Visio)



Рис. 2. Схематическое изображение вириона герпесвирусов (выполнен с помощью компьютерной программы Microsoft Visio). Ген ДНК-полимеразы возбудителей КЗГ, содержащий три консервативных участка (A, B и C), присутствует в геномах всех представителей семейства *Herpesviridae*. Данные области кодируют высококонсервативные аминокислотные домены (DFA, ILK, TGV, IYG и KG1). Направления праймеров для ПЦР, разработанные Van Devanter et al., показаны пунктирными линиями. Направления праймера указаны пунктирными стрелками. Продукт, полученный с помощью вложенной ПЦР, находится между B- и C-областями

Так, например в вырожденном праймере ILK проведена тройная замена (рисунок 3). Данный подход обеспечивает более высокий выход специфических ампликонов. При этом следует отметить, что эффективность подобных праймеров определяется соотношением остатков Ia и длины праймера, а также природой матрицы, что ограничивает амплификацию вырожденных последовательностей всех видов вирусов [47, 70].

V. Ehlers, K. Borchers, C. Grund et al., используя смесь вырожденных и дезоксиинозин-замещенных праймеров (таблица 3) во вложенном формате, идентифицировали и предложили филогенетическую характеристику 16 известных и 3 неизвестных видов герпесвирусов животных [22–24].

Данный вариант реакции амплификации называется консенсусной ПЦР на пангерпесвирус, является подходом для универсального обнаружения неизвестных герпесвирусов, в том числе КЗГ [77]. Однако данный вариант ПЦР также имеет ограничения. Во-первых, он позволяет амплифицировать относительно короткую последовательность ДНК

примерно из 215–315 н. п. в зависимости от того, какие праймеры оказались подходящими. Исходя из этого, точный филогенетический анализ проводить довольно сложно, поскольку коротких последовательностей недостаточно для построения филогенетических деревьев, выявляющих приемлемые вероятности для всех клад. Во-вторых, консенсусная ПЦР на пангерпесвирус может амплифицировать ДНК не всех штаммов герпесвируса, присутствующих в одном и том же образце, если один или несколько штаммов преобладают над другими. Данное явление было показано при анализе свиного лимфотропного γ -герпесвируса 3 (PLHV-3) [69]. Следовательно, представленный вариант ПЦР может не обнаруживать неизвестные варианты герпесвируса, если они присутствуют в исследуемых образцах в малом количестве по причине конкуренции матриц и ампликонов, накапливающихся экспоненциально в ходе реакции амплификации.

Реакция амплификации большеразмерных фрагментов ДНК при исследовании возбудителей КЗГ

Chmielewicz et al. (2001) проводили исследования с геномом вируса *Caprine-herpesvirus-2*, который вызывает КЗГ у коз и оленей, используя дистанционную ПЦР, или реакцию амплификации для синтеза большеразмерных фрагментов ДНК. В этом случае получали непрерывные ампликоны размером 3600 п. н., которые являются фрагментами нуклеиновой кислоты вируса, соединяющими сегменты гена гликопротеина В (gB) и ДНК-полимеразы (рисунок 4) [9–10].

Ген gB в ДНК β - и γ -герпесвирусов расположен левее гена ДНК-полимеразы. При этом следует отметить, что ген гликопротеина В менее консервативен по сравнению с геном ДНК-полимеразы [80]. В результате ученые пришли к заключению, что для обнаружения гена gB необходимо разработать более специфичные вырожденные или консенсусные праймеры, которые будут амплифицировать последовательности одного подсемейства или рода герпесвирусов. Исходя из этого, в будущем перед исследователями стоит задача создать олигонуклеотидные праймеры разного дизайна для получения с помощью ПЦР ампликонов большой длины [81].

Синтез подобных ПЦР-продуктов осуществляют с помощью двух параллельных реакций амплификации: консенсусной ПЦР на пангерпесвирус для гена ДНК-полимеразы [37] и консенсусной ПЦР для гена гликопротеина В, где вырожденные и дезоксиинозинзамещенные родоспецифические праймеры часто используют во вложенных или полувложенных последователь-

Дегенеративный прямой праймер ILK

ILK: 5'-TCC TGG ACA AGC AGC ARN YSG CNM TNA A-3'



ILK: 5'-TCC TGG ACA AGC AGC AR^{Ia} YSG Cl^{aM} Tl^{aA}-3'

Дезоксиинозин-замещенный эквивалент

Рис. 3. Представление дезоксиинозин-замещенных праймеров, созданных Ehlers et al., модифицируя исходные вырожденные праймеры и вводя дезоксиинозин во все положения праймеров с 3- и 4-кратной дегенерацией на примере прямого праймера ILK

ностях [84, 95]. В результате реакций получают две последовательности, а затем их лигируют с помощью вложенной ПЦР с использованием прямых праймеров, специфичных для гена gB, и обратных праймеров, специфичных для гена ДНК-полимеразы [97]. В заключении полученные непрерывные ампликоны секвенируют. Chmielewicz et al. (2001) [9–10] в рамках данного исследования предложили три вырожденных и замещенных дезоксиинозином праймеров в формате полугнездовой ПЦР для обнаружения гена гликопротеина В, как показано в таблице 4.

Данные олигонуклеотидные праймеры были разработаны на основе последовательностей гена gB *Alcelaphine-herpesvirus-1*, и они специфичны только ему и наиболее родственным герпесвирусам [86].



Рис. 4. Электрофореграмма ПЦР-продукта вируса *Caprine-herpesvirus-2* (размер 3600 п. н.). М – маркер длины (100–5000 п. н.).

Таблица 3

Дизайн олигонуклеотидных дезоксинозин-замещенных праймеров, применяемых для консенсусный ПЦР на пангерпес для идентификации и филогенетического анализа возбудителей КЗГ

Этап анализа	Дизайн олигонуклеотидных праймеров	
	прямой праймер	обратный праймер
Первичная ПЦР	DFA: 5'-GAY TTY GCN AGY YTN TAY CC-3' ILK: 5'-TCC TGG ACA AGC AGC ARN YSG CNM TNA A-3'	KG1: 5'-GTC TTG CTC ACC AGN TCN ACN CCY TT-3'
	Дезоксинозин-замещенный эквивалент: DFA: 5'-GAY TTY GCIa AGY YTIa TAY CC-3' ILK: 5'-TCC TGG ACA AGC AGC ARIa YSG CIaM TIaA-3'	Дезоксинозин-замещенный эквивалент: KG1: 5'-GTC TTG CTC ACC AGIa TCIa ACIa CCY TT-3'
Вторичная ПЦР	TGV: 5'-TGT AAC TCG GTG TAY GGN TTY ACN GGN GT-3'	IYG: 5'-CAC AGA GTC CGT RTC NCC RTA DAT-3'
	Дезоксинозин-замещенный эквивалент: TGV: 5'-TGT AAC TCG GTG TAY GGIa TTY ACIa GGIa GT-3'	Дезоксинозин-замещенный эквивалент: IYG: 5'-CAC AGA GTC CGT RTC IaCC RTA IaAT-3'

Примечание: Ia – дезоксинозин.

Таблица 4

Дизайн олигонуклеотидных праймеров, применяемых для синтеза ампликонов большой длины (по данным Chmielewicz et al.) для идентификации и филогенетического анализа возбудителей КЗГ

Этап анализа	Дизайн олигонуклеотидных праймеров		Размер ПЦР-продукта, п. н.
	прямой праймер	обратный праймер	
Первичная ПЦР	702 Gb: 5'-CAR IaTIa CAR TWT GCM TAY GAC-3' 734 gB: 5'-GCA AAA TCA ACC CTA CVA GYG TNA TG-3'	702 Gb: 5'-GTA RTA RTT RTA YTC YCT RAA-3'	515
Вторичная ПЦР	734 gB: 5'-GCA AAA TCA ACC CTA CVA GYG TNA TG-3'	702 gB: 5'-CAC AGA GTC CGT RTC NCC RTA DAT-3'	

Примечание: Ia – дезоксинозин.

Таблица 5

Дизайн олигонуклеотидных праймеров, применяемых для синтеза ампликонов большой длины (по данным В. Ehlers et al.) в nested ПЦР на ген gB возбудителя КЗГ

Этап анализа	Дизайн олигонуклеотидных праймеров	
	прямой праймер	обратный праймер
Первичная ПЦР	GH1 2759: 5'-CCT CCC AGG TTC ART WYG CMT AYG A-3I GH2 3029: 5'-CCC AGT TGC ART WYG GC(N/Ia) TAY GA-3'	GH1 2762: 5'-CCG TTG AGG TTC TGA GTG TAR TAR TTR TAY TC-3' GH2 3033: 5'-GCC AGG CGT TGC GT(N/ Ia) TAR TAR TTR TA-3'
	GH1 2760: 5'-AAG ATC AAC CCC AC(N/Ia) AG(N/Ia) GT(N/Ia) ATG-3' GH2 3031: 5'-CAA GAT TAA CCC CAC (N/Ia) AG (N/Ia)GT (N/Ia)AT G-3'	GH1 2761: 5'-GTG TAG TAG TTG TAC TCC CTR AAC AT(N/Ia) GTY TC-3' GH2 3032: 5'-TTG CGT GTA GTA GTT GTA YTC (N/Ia)CT RAA CAT-3'

Примечание: Ia – дезоксинозин, размер ПЦР-продукта для системы GH1 составляет 500 п. н., для GH2 – 350 п. н.

Ehlers B. et al. (2008) использовали в своих исследованиях аналогичные подходы, но при этом создали модифицированные варианты праймеров и с их помощью идентифицировали 14 новых представителей подсемейства *γ-Herpesvirinae* [46, 81]. Дизайн оригинальных олигонуклеотидных вырожденных и родоспецифических праймеров, замещенных дезоксиинозином, в формате nested ПЦР, отражен в таблице 5.

Таким образом, В. Ehlers et al. впервые разработали уникальные универсальные праймеры для nested реакции амплификации, которые позволили выявлять многих представителей подсемейства *γ-Herpesvirinae* млекопитающих и проводить подробный филогенетический анализ на основе длинноразмерного ПЦР-продукта [9, 22, 81]. Тем не менее, применение данного подхода на сегодняшний день ограничивается специфичностью используемых олигонуклеотидных праймеров, которые не могут применяться для амплификации ДНК всех представителей герпесвирусов.

Секвенирование нового поколения для проведения филогенетического анализа возбудителей КЗГ

Секвенирование нового поколения (next generation sequencing, NGS) в настоящее время все в большей степени становится востребованной технологией для идентификации генома разных организмов, в том числе вирусов, вызывающих КЗГ. Технология методов NGS, в частности, с помощью технологии NT (Nanopore technology), позволяет одновременно проанализировать несколько участков генома, что является главным отличием от более ранних методов секвенирования. Реакция осуществляется с помощью повторяющихся циклов элонгации или многократного лигирования олигонуклеотидов. Новый подход к секвенированию имеет преимущества, а именно позволяет сократить количество анализов, необходимых для идентификации вируса, сокращает время исследования и дает возможность получать результаты с высокой точностью [80].

При этом следует отметить, что зачастую амплификация геномов вирусов, вызывающих КЗГ, присутствующих в исходном материале, не позволяет получить достаточное количество ДНК хорошего качества для анализа. Сложность обработки образцов для секвенирования нового поколения, а также высокая стоимость и сложные вычислительные ресурсы, необходимые для аннотации получаемых данных, являются дополнительными препятствиями, которые необходимо устранить. Считается, что секвенирование для вирусов с большим размером генома, в частно-

сти, для герпесвирусов, с помощью технологии NT может быть затруднено из-за размера ДНК, высокого содержания GC и вариаций нуклеотидов, полученных в результате репликации [54, 66]. Таким образом, можно сделать вывод, что при секвенировании герпесвирусов еще потребуются дополнительные стратегии для повышения эффективности и снижения вероятности ошибок в процессе анализа.

Заключение

В результате анализа сведений о проводимой индикации и филогенетической характеристике представителей подсемейства *γ-Herpesvirinae*, вызывающих КЗГ у животных, наиболее подходящим молекулярно-биологическим инструментом является консунсусная ПЦР на пангерпесвирус. Данная тест-система предполагает применение универсальных праймеров, которые амплифицируют ген ДНК-полимеразы всех герпесвирусов. При этом выявлено, что недостатком предложенного анализа является небольшой размер ампликонов, что может привести к менее точному филогенетическому анализу.

Для решения данной проблемы в последние годы исследователи разработали варианты реакции амплификации с олигонуклеотидными праймерами, которые позволяют получать ПЦР-продукты большого размера (в частности, для представителей подсемейства *γ-Herpesvirinae* размер составил 3600 п. н., фрагмент захватывает участок от гена гликопротеина В до гена ДНК-полимеразы включительно). Данный вариант ПЦР обеспечивает более точную идентификацию и корректный филогенетический анализ. Однако, в последующем исследователи обнаружили, что предложенный подход, несмотря на свою эффективность и специфичность, может давать ложноотрицательные результаты для образцов с низким содержанием вируса, поскольку оказался менее чувствительным, по сравнению с консенсусной ПЦР на пангерпесвирус. Секвенирование нового поколения, как новый подход для решения задач по проведению детального филогенетического анализа герпесвирусов, в настоящее время является перспективным.

В итоге хотелось бы заключить, что несмотря на значительные шаги, сделанные в отношении разработки тест-систем на основе современных методов молекулярной биологии для анализа вирусов, вызывающих КЗГ, необходимы дополнительные исследования для проверки новых подходов. Несомненно, предстоящая работа крайне важна, поскольку это позволит расширить представления о новых генетических ва-

риантах герпесвирусов, их филогенетических и эволюционных взаимосвязях и, как следствие, даст возможность разработать эффективные вакцинные препараты из актуальных для того или иного региона штаммов, а также создать диагностические тест-системы, улучшив, тем самым, эпизоотическую ситуацию по ЗКГ.

Благодарности

Работа выполнена в рамках реализации исследовательской программы по теме «Создание комплекса средств защиты против экономически и социально значимых болезней животных на основе отобранных методами геномного секвенирования производственных штаммов микроорганизмов» относительно реализации отдельных мероприятий федерального проекта «Развитие масштабных научных и научно-технических проектов по приоритетным исследовательским направлениям» национального проекта «Наука и университеты» Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы.

Список литературы

1. Azab W., Dayaram A., Greenwood A.D., Osterrieder N. Azab W. How host specific are herpesviruses? Lessons from herpesviruses infecting wild and endangered Mammals. / W. Azab, A. Dayaram, A.D. Greenwood, N. Osterrieder // *Ann. Rev. Virol.* 2018;5:53–68. doi: 10.1146/annurev-virology-092917-043227.
2. Baptista A. L. Bovine respiratory disease complex associated mortality and morbidity rates in feedlot cattle from southeastern Brazil. / A. L. Baptista, A. L. Rezende, P. A. Fonseca et al. // *J Infect Dev Ctries.* 2017;11:791–799.
3. Bovo S. Mining livestock genome datasets for an unconventional characterization of animal DNA viromes. / S. Bovo, G. Schiavo, M. Bolner, M. Ballan, L. Fontanesi // *Genomics.* 2022;114:110312. doi: 10.1016/j.ygeno.2022.110312.
4. Boyce R. ICODEHOP: A new interactive program for designing CONsensus-DEgenerate hybrid oligonucleotide primers from multiply aligned protein sequences. / R. Boyce, P. Chilana, T. M. Rose // *Nucleic Acids Res.* 2009;37:W222–W228. doi: 10.1093/nar/gkp379.
5. Campos M. J. Strategies to improve efficiency and specificity of degenerate primers in PCR. / M. J. Campos, A. Quesada // Domingues L., editor. *PCR. Volume 1620.* Springer New York; New York, NY, USA: 2017. pp. 75–85. *Methods in Molecular Biology.*
6. Carmo P. M. S. Malignant catarrhal fever in a calf in Espírito Santo State, Brazil: report of the first case. / P. M. S. Carmo, K. D. Oliveira, G. Barioni, J. C. Oliveira-Filho, T. D. Souza // *Braz J Vet Pathol.* 2011;4(1):44–46.
7. Carvallo F. R. Ibex-associated malignant catarrhal fever in Duikers (*Cephalophus* spp.) / F. R. Carvallo, F.A. Uzal, J. D. Moore, K. Jackson, A. C. Nyaoke, L. Naples, J. Davis-Powell, C. K. Stadler, B. A. Boren, C. Cunha et al. // *Vet. Pathol.* 2022;57:577–581. doi: 10.1177/0300985820918313.
8. Caswell J. L. Respiratory system. / J. L. Caswell, K. J. Williams // Maxie M. G., editor. *Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals.* Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2016. pp. 465–591.
9. Chmielewicz B. Detection and multigenic characterization of a novel gammaherpesvirus in goats. / B. Chmielewicz, M. Goltz, B. Ehlers // *Virus Res.* 2001;75:87–94. doi: 10.1016/S0168-1702(00)00252-5.
10. Chmielewicz B. A novel porcine gammaherpesvirus. / B. Chmielewicz, M. Goltz, T. Franz, C. Bauer, S. Brema, H. Ellerbrok, S. Beckmann, H.-J. Rziha, K.-H. Lahrmann, C. Romero et al. // *Virology.* 2003;308:317–329. doi: 10.1016/S0042-6822(03)00006-0.
11. Constable P. Malignant catarrhal fever (ed). / P. Constable, K. W. Hinchcliff, S. Done, W. Gruenberg // *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats.* St. Louis, Missouri: Elsevier; 2017. pp. 2076–2080.
12. Cornejo Castro E. M. Dual infection and recombination of Kaposi sarcoma herpesvirus revealed by whole-genome sequence analysis of effusion samples. / E. M. Cornejo Castro, V. Marshall, J. Lack, K. Lurain, T. Immonen, N. Labo, N. C. Fisher, R. Ramaswami, M. N. Polizzotto, B. F. Keele et al. // *Virus Evol.* 2020;6:veaa047. doi: 10.1093/ve/veaa047.
13. Costa E. A. An outbreak of malignant catarrhal fever in Murrah buffaloes in Minas Gerais. / E. A. Costa, E. Bastianetto, A. C. Vasconcelos, M. R. Q. Bomfim, F. G. Fonseca, A. D. Gomes, R. C. Leite, M. Resende // *Brazil Pesq Vet Bras.* 2009;29(5):395–400.
14. Costa E. A. Ovine herpesvirus 2 infection in Foal / E. A. Costa, M. R. Bomfim, F. G. Fonseca et al. // *Brazil. Emerg Infect Dis.* 2009;15(5):844–845.
15. Costa É. A. Transmission of ovine herpesvirus 2 from asymptomatic boars to sows. / E. A. Costa, A. M. Viott, G. S. Machado et al. // *Emerg Infect Dis.* 2010;16(12):2011–2012.
16. Cunha C. W. Domestic sheep and bighorn sheep carry distinct gammaherpesviruses belonging to the genus *Macavirus*. / C. W. Cunha, O. M. Slater, B. Macbeth, P. J. Duignan, A. Warren, M. A. Highland, H. Li // *Virus Res.* 2019;272:197729. doi: 10.1016/j.virusres.2019.197729.
17. Cunha C. W. Ovine herpesvirus 2 infection in American bison: virus and host dynamics in the development of sheep-associated malignant catarrhal fever. / C. W. Cunha, K. L. Gailbreath, D. O'Toole, D. P. Knowles, D. A. Schneider, S. N. White, N. S. Taus, C. J. Davies, W. C. Davis, H. Li // *Vet Microbiol.* 2012;159(3):307–319.
18. Cunha C. W. Are rabbits a suitable model to study sheep-associated malignant catarrhal fever in susceptible hosts? / C. W. Cunha, D. O'Toole, N. C. Taus, D. P. Knowles, H. Li // *Vet Microbiol.* 2013;163(3–4):358–363.
19. Cunha C. W. Development of a multiplex real-time PCR for detection and differentiation of malignant catarrhal fever viruses in clinical samples. / C. W. Cunha, L. Otto, N. S. Taus, D. P. Knowles, H. Li // *J Clin Microbiol.* 2009;47(8):2586–2589.
20. Cunha C. W. Domestic sheep and bighorn sheep carry distinct gammaherpesviruses belonging to the genus *Macavirus*. / C. W. Cunha, O. M. Slater, B. Macbeth, P. J. Duignan, A. Warren, M. A. Highland, H. Li // *Virus Res.* 2019;272:197729.
21. Davison A. J. Evolution of the herpesviruses. / A. J. Davison // *Vet. Microbiol.* 2002;86:69–88. doi: 10.1016/S0378-1135(01)00492-8.
22. Davison A. J. The order Herpesvirales / A. J. Davison, R. Eberle, B. Ehlers, G. S. Hayward, D. J. McGeoch, A. C. Minson, P. E. Pellett, B. Roizman, M. J. Studdert, E. Thiry // *Arch. Virol.* 2009;154:171–177. doi: 10.1007/s00705-008-0278-4.
23. Ehlers B. Novel mammalian herpesviruses and lineages within the Gammaherpesvirinae: Cospeciation and interspecies transfer. / B. Ehlers, G. Dural, N. Yasmum, T. Lembo, B. de

- Thoisy, M.-P. Ryser-Degiorgis, R. G. Ulrich, D. J. McGeoch // *J. Virol.* 2008;82:3509–3516. doi: 10.1128/JVI.02646-07.
24. Ehlers B. Identification of novel rodent herpesviruses, including the first gammaherpesvirus of *Mus Musculus*. / B. Ehlers, J. Kuchler, N. Yasmum, G. Dural, S. Voigt, J. Schmidt-Chanasit, T. Jäkel, F.-R. Matuschka, D. Richter, S. Essbauer et al. // *J. Virol.* 2007;81:8091–8100. doi: 10.1128/JVI.00255-07.
25. Eloi R. S. A. Taxa de infecção pelo Herpesvírus ovino tipo 2 (OvHV-2) em rebanhos de ovinos no Distrito Federal. / R. S. A. Eloi, T. G. Marçola, G. R. Paludo. R. R. Araújo, E. M. Colodel, E. M. M. Lima, M. B. Castro // *Pesqui Vet Bras.* 2017;37:657–661.
26. Epp T. An observational study of mortality on bison farms in Saskatchewan with special emphasis on malignant catarrhal fever. / T. Epp, C. Waldner, M. Woodbury // *Can Vet J.* 2016;57(1):37–45.
27. Flach E. J. Gamma-herpesvirus carrier status of captive artiodactyls. / E. J. Flach, H. Reid, I. Pow, A. Klemt // *Res. Vet. Sci.* 2002;73:93–99. doi: 10.1016/S0034-5288(02)00094-2.
28. Franzo G. Porcine gammaherpesviruses in Italian commercial swine population: Frequent but harmless. / G. Franzo, M. Drigo, M. Legnardi, L. Grassi, M. L. Menandro, D. Pasotto, M. Cecchinato, C. M. Tucciarone // *Pathogens.* 2021;10:47. doi: 10.3390/pathogens10010047.
29. Frontoso R. An acute multispecies episode of sheep-associated malignant catarrhal fever in captive wild animals in an Italian zoo. / R. Frontoso, G. L. Autorino, K. G. Friedrich, H. Li, C. Eleni, C. Cocumelli, P. di Cerbo, G. Manna, M. T. Scicluna // *Transbound Emerg Dis.* 2016;63(6):621–627.
30. Furlan F. H. Febre catarral maligna em bovinos no norte de Mato Grosso. / F. H. Furlan, T. M. Amorim, R. V. Justo et al // *Brasil Acta Sci Vet.* 2012;40(2):1043.
31. Gagnon C. A. Whole genome sequencing of a Canadian bovine Gammaherpesvirus 4 strain and the possible link between the viral infection and respiratory and reproductive clinical manifestations in dairy cattle. / C. A. Gagnon, C. K. Traesel, N. Music, J. Laroche, N. Tison, J. P. Auger, S. Music, C. Provost, C. Bellehumeur, L. Abrahamyan et al. // *Front. Vet. Sci.* 2017;4:92. doi: 10.3389/fvets.2017.00092.
32. Galvão A. Febre catarral maligna em bovino no estado do Rio de Janeiro – Relato de caso. / A. Galvão, C. F. Galvão, S. A. Caldas et al. // *Rev Bras Med Vet.* 2016;38(Supl.1):108–114.
33. Gauger P. C. An outbreak of porcine malignant catarrhal fever in a farrow-to-finish swine farm in the United States. / P. C. Gauger, A. R. Patterson, W. I. Kim et al. // *J Swine Health Prod.* 2010;18(5):244–248.
34. He Y. Gut-lung axis: the microbial contributions and clinical implications. / Y. He, Q. Wen, F. Yao, D. Xu, Y. Huang, J. Wang // *Crit Rev Microbiol.* 2017;43(1):81–95.
35. Headley S. A. Histophilus somni-induced thrombotic meningoencephalitis in cattle from northern Paraná, Brazil. / S. A. Headley, A. P. F. R. L. Bracarense, V. H. S. Oliveira, G. R. Queiroz, W. Okano, A. F. Alfieri, K. K. M. C. Flaiban, J. A. N. Lisboa, A. A. Alfieri // *Pesqui Vet Bras.* 2015;35(2):329–336.
36. Headley S. A. A review of the epidemiological, clinical, and pathological aspects of malignant catarrhal fever in Brazil. / S. A. Headley, T. E. S. de Oliveira, C. W. Cunha // *Braz J Microbiol.* 2020 Sep;51(3):1405–1432. doi: 10.1007/s42770-020-00273-6. Epub 2020 Jun 15. PMID: 32542424; PMCID: PMC7455687.
37. Headley S. A. Molecular characterization of encephalitic bovine listeriosis from southern Brazil. / S. A. Headley, J. T. Fritzen, G. R. Queiroz et al. // *Trop Anim Health Prod.* 2014;46(1):19–25.
38. Headley S. A. Ovine herpesvirus type 2-induced malignant catarrhal fever in a heifer. / S. A. Headley, J. A. N. Lisboa, J. T. Fritzen et al. // *Semin: Cenc-Agrar.* 2013;34(6,S2): 3903–3908.
39. Headley S. A. Immunohistochemical detection of intralesional antigens of ovine gammaherpesvirus-2 in cattle with sheep-associated malignant catarrhal fever. / S. A. Headley, T. E. S. Oliveira, H. Li, J. A. N. Lisboa, G. R. Queiroz, J. T. T. Fritzen, E. F. Flores, A. A. Alfieri, C. W. Cunha // *J Comp Pathol.* 2020;174:86–98.
40. Headley S. A. Histophilus somni-induced infections in cattle from southern Brazil. / S. A. Headley, V. H. Oliveira, G. F. Figueira et al. // *Trop Anim Health Prod.* 2013;45(7): 1579–1588.
41. Headley S. A. Transplacental transmission of ovine herpesvirus 2 in cattle with sheep-associated malignant catarrhal fever. / S. A. Headley, L. A. Pimentel, V. H. Oliveira et al. // *J Comp Pathol.* 2015;153(4):206–211.
42. Headley S. A. Molecular confirmation of ovine herpesvirus 2-induced malignant catarrhal fever lesions in cattle from Rio Grande do Norte, Brazil. / S. A. Headley, I. K. F. Sousa, A. H. H. Minervino, I. O. Barros, R. A. Barrêto Júnior, A. F. Alfieri, E. L. Ortolani, A. A. Alfieri // *Pesqui Vet Bras.* 2012;32(12):1213–1218.
43. Hussy D. Quantitative fluorogenic PCR assay for measuring ovine herpesvirus 2 replication in sheep. / D. Hussy, N. Stauber, C. M. Leutenegger, S. Rieder, M. Ackermann // *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(1):123–128.
44. International Committee on Taxonomy of Viruses Virus Taxonomy Report (10th Edition). - URL: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1> (дата обращения: 29.03.2023).
45. ISU (2019). High consequence livestock pathogens and toxins. Center for Food Security and Public Health, College of Veterinary Medicine, Iowa State University, Ames, Iowa, USA.
46. Jia J. Novel gammaherpesvirus functions encoded by Bovine Herpesvirus 6 (Bovine Lymphotropic Virus) / J. Jia, G. Delhon, E. R. Tulman, D. G. Diel, F. A. Osorio, X. Wen, G. F. Kutish, D. L. Rock D // *J. Gen. Virol.* 2014;95:1790–1798. doi: 10.1099/vir.0.066951-0.
47. Khudhair Y. I. Phylogenetic analysis of ovine herpes virus-2 (OHV-2) in malignant catarrhal fever infected cattle in Al-Qadisiyah governorate of Iraq. / Y. I. Khudhair, H. N. Ayyez, M. H. Hussain // *Iraqi J. Vet. Sci.* 2019;33:51–58. doi: 10.33899/ijvs.2019.125522.1044.
48. Lapp S. Malignant catarrhal fever in a Vietnamese potbellied pig. A potential threat to pigs in mixed-species exhibits? / S. Lapp, C. Forster, M. Kummrow, P. Wohlsein, V. Haist // *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere,* 2015, 43(3):165–168.
49. Lechmann J. Viral infections shared between water buffaloes and small ruminants in Switzerland. / J. Lechmann, M. Ackermann, V. Kaiser, C. Bachofen // *J. Vet. Diagn. Investig.* 2021;33:894–905. doi: 10.1177/10406387211027131.
50. Levy C. S. Novel virus-encoded microRNA molecules expressed by ovine herpesvirus 2-immortalized bovine T-cells. / C. S. Levy, J. Hopkins, G. C. Russell, R. G. Dalziel // *J Gen Virol.* 2012;93(Pt 1):150–154.
51. Li H. Experimental induction of malignant catarrhal fever in pigs with ovine herpesvirus 2 by intranasal nebulization. / H. Li, A. Brooking, C. W. Cunha, M. A. Highland, D. O'Toole, D. P. Knowles, N. S. Taus // *Vet Microbiol.* 2012;159(3):485–489.
52. Li H. Goats are a potential reservoir for the herpesvirus (MCFV-WTD), causing malignant catarrhal fever in deer. / H. Li, C. W. Cunha, B. Abbitt, T. W. de Maar, S. D. Lenz, J. R. Hayes, N. S. Taus // *J Zoo Wildl Med.* 2013;44(2):484–486.
53. Li H. Malignant catarrhal fever: inching toward understanding. / H. Li, C. W. Cunha, N. S. Taus, D. P. Knowles // *Annul Rev Anim Biosci.* 2014;2:209–233.

54. Li H. Malignant catarrhal fever: understanding molecular diagnostics in context of epidemiology. / H. Li, C. W. Cunha, N. S. Taus // *Int J Mol Sci.* 2011;12(10):6881–6893.
55. Li H. Malignant catarrhal fever-like disease in sheep after intranasal inoculation with ovine herpesvirus-2. / H. Li, D. O'Toole, O. Kim, J. L. Oaks, T. B. Crawford // *J Vet Diagn Investig.* 2005;17(2):171–175.
56. Li H. Evidence of three new members of Malignant Catarrhal Fever Virus group in Muskox (*Ovibos Moschatus*), Nubian Ibex (*Capra Nubiana*), and Gemsbok (*Oryx Gazella*) / H. Li, K. Gailbreath, L. C. Bender, K. West, J. Keller, T. B. Crawford // *J. Wildl. Dis.* 2003;39:875–880. doi: 10.7589/0090-3558-39.4.875.
57. Li H. A novel subgroup of Rhadinoviruses in ruminants. / H. Li, K. Gailbreath, E. J. Flach, N. S. Taus, J. Cooley, J. Keller, G. C. Russell, D. P. Knowles, D. M. Haig, J. L. Oaks et al. // *J. Gen. Virol.* 2005;86:3021–3026. doi: 10.1099/vir.0.81238-0.
58. Li H. Recognition of another member of the Malignant Catarrhal Fever Virus group: An endemic gammaherpesvirus in domestic goats. / H. Li, J. Keller, D. P. Knowles, T. B. Crawford // *J. Gen. Virol.* 2001;82:227–232.
59. Liu P. Direct sequencing and characterization of a clinical isolate of Epstein-Barr virus from nasopharyngeal carcinoma tissue by using next-generation sequencing technology. / P. Liu, X. Fang, Z. Feng, Y. M. Guo, R. J. Peng, T. Liu, Z. Huang, Y. Feng, X. Sun, Z. Xiong et al. // *J Virol.* 2011;85:11291–11299. doi: 10.1128/JVI.00823-11.
60. López A. Respiratory system, mediastinum, and pleurae. / A. López, S. A. Martinson // Zachary J. F., editor. *Pathologic basis of veterinary disease.* Missouri, Elsevier: St. Louis; 2017. pp. 471–560.
61. Luvizotto M. Malignant catarrhal fever-like lesions associated with ovine herpesvirus-2 infection in young calves (*Bos indicus*): a case report. / M. Luvizotto, H. Ferrari, T. Cardoso // *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* 2010;16:178–185.
62. MacLachlan N. J. Herpesvirales. / N. J. MacLachlan, E. J. Dubovi // *Fenner's veterinary virology.* 2017. San Diego, California, Elsevier: 190-216.
63. Malignant Catarrhal Fever. URL: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/malignant-catharral-fever.pdf> (Дата обращения: 24.03.2023).
64. Mana T. XNAs: A troubleshooter for nucleic acid sensing. / T. Mana, B. Bhattacharya, H. Lahiri, R. Mukhopadhyay // *ACS Omega.* 2022;7:15296–15307. doi: 10.1021/acsomega.2c00581.
65. Martins M. S. N. Malignant catarrhal fever in Brazilian cattle presenting with neurological syndrome. / M. S. N. Martins, A. M. M. G. Castro, M. S. Lima et al. // *Braz J Microbiol.* 2017;48:366–372.
66. McGeoch D. J. Molecular Evolution of the γ -*Herpesvirinae*. / D. J. McGeoch // *Philos. Trans. Royal Soc. Lond. Ser. B.* 2001;356:421–435. doi: 10.1098/rstb.2000.0775.
67. McGeoch D. J. Topics in herpesvirus genomics and evolution. / D. J. McGeoch, F. J. Rixon, A. J. Davison // *Virus Res.* 2006;117:90–104. doi: 10.1016/j.virusres.2006.01.002.
68. Mettenleiter T. C. Ovine herpesvirus 2 causing porcine malignant catarrhal fever. / T. C. Mettenleiter, B. Ehlers, T. Müller, K. J. Yoon, J. P. Teifke et al. // Zimmerman J. J., Karriker L. A., Ramirez A. et al., editors. *Diseases of swine.* Wiley-Blackwell: USA; 2019. pp. 569–571.
69. Ochirkhuu N. Molecular epidemiological survey and genetic characterization of ovine gammaherpesvirus-2 in Mongolian livestock. / N. Ochirkhuu, S. Konnai, R. Odbileg, S. Murata, K. Ohashi // *J Vet Med Sci.* 2017;79(12):2040–2042.
70. Oliveira M. C. An outbreak of malignant catarrhal fever in Sambar deer (*Rusa unicolor*) / M. C. Oliveira, G. O. Pereira, Y. Daoualibi, V. Dutra, M. F. Brito, S. A. Caldas, D. A. Balthazar, D. G. Ubiali // *Pesqui Vet Bras.* 2018;38:1675–1680.
71. Orono S.A. Field validation of clinical and laboratory diagnosis of wildebeest associated malignant catarrhal fever in cattle. / S. A. Orono, G. C. Gitao, J. P. Mpatwenumugabo, M. Chepkwony, C. Mutisya, E. Okoth, B. M. C. Bronsvort, G. C. Russell, V. Nene, E. A. J. Cook // *BMC Vet. Res.* 2019;15:69. doi: 10.1186/s12917-019-1818-8.
72. O'Toole D. The pathology of malignant catarrhal fever, with an emphasis on ovine herpesvirus 2. / D. O'Toole, H. Li // *Vet Pathol.* 2014;51(2):437–452.
73. Palmer M. V. Active and latent ovine herpesvirus-2 (OvHV-2) infection in a herd of captive white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) / M. V. Palmer, T. C. Thacker, R. J. Madison, L. G. Koster, S. L. Swenson, H. Li // *J Comp Pathol.* 2013;149(2):162–166.
74. Partin T. G. Herpesvirus surveillance and discovery in zoo-housed ruminants. / T. G. Partin, M. D. Schrenzel, J. Braun, C. L. Witte, S. V. Kubiski, J. Lee, B. A. Rideout // *PLoS ONE.* 2021;16:e0246162. doi: 10.1371/journal.pone.0246162.
75. Peixoto T. C. Febre catarral maligna em bovino no estado da Bahia – relato de caso. / T. C. Peixoto, V. A. F. Cunha, D. N. Silva, S. S. Farias, K. M. Madureira // *Encicl Biosf.* 2015, 11(21):1092-1101.
76. Pesavento P.A. In situ hybridization for localization of ovine herpesvirus 2, the agent of sheep-associated malignant catarrhal fever, in formalin-fixed tissues. / P. A. Pesavento, C. W. Cunha, H. Li, K. Jackson, D. O'Toole // *Vet Pathol.* 2019;56:78–86.
77. Pesavento P. A. Systemic necrotizing vasculitis in sheep is associated with ovine herpesvirus 2. / P. A. Pesavento, R. B. Dange, M. S. Ferreras, A. Dasjerdi, V. Pérez, A. LaRoca, J. B. Silván, S. Diab, K. Jackson, I. L. Phillips, H. Li, C. W. Cunha, M. Wessels // *Vet Pathol.* 2019;56:87–92.
78. Pfitzer S. Malignant catarrhal fever: an emerging disease in the African buffalo (*Syncerus caffer*) / S. Pfitzer, R. Last, I. Espie, M. van Vuuren // *Transbound Emerg Dis.* 2015;62(3):288–294.
79. Phillips I. L. High copy number of ovine gammaherpesvirus 2 DNA associated with malignant catarrhal fever-like syndrome in a lamb. / I. L. Phillips, C. W. Cunha, D. Galbraith, M. A. Highland, R. J. Bildfell, H. Li // *J Vet Diagn Investig.* 2018;30(4):623–627.
80. Pinheiro de Oliveira T. F. Quantification of ovine herpesvirus 2 by digital PCR in an outbreak of malignant catarrhal fever. / T. F. Pinheiro de Oliveira, M. Laguardia-Nascimento, F. G. Xavier, C. do Amaral Pinto, L. R. Ferreira, I. de Castro Campos de Souza, M. E. Hammerschmitt, R. M. Bianchi, J. G. Wronski, R. N. Etges, G. M. Rigon, M. F. Camargos, A. V. R. Júnior, A. A. Fonseca Junior // *Arch Virol.* 2019;164(12):3045–3050.
81. Prepens S. Discovery of herpesviruses in multi-infected primates using locked nucleic acids (LNA) and a bigenic PCR approach. / S. Prepens, K.-A. Kreuzer, F. Leendertz, A. Nitsche, B. Ehlers // *Virol. J.* 2007;4:84. doi: 10.1186/1743-422X-4-84.
82. Queiroz G. R. Diagnóstico diferencial das doenças neurológicas dos bovinos no estado do Paraná / G. R. Queiroz, R. A. de Oliveira, K. K. M. C. Flaiban et al. // *Pesqui Vet Bras.* 2018;38:1264–1277.
83. Rech R. R. Malignant catarrhal fever in cattle in Rio Grande do Sul, Brazil: epidemiology, clinical signs and pathology. / R. R. Rech, A. L. Schild, D. Driemeier, S. L. Garmatz, F. N. Oliveira, F. Riet-Correa, C. S. L. Barros // *Pesqui Vet Bras.* 2005;25:97–105.
84. Riaz A. Ovine herpesvirus-2-encoded microRNAs target virus genes involved in virus latency. / A. Riaz, I. Dry, C. S. Levy, J. Hopkins, F. Grey, D. J. Shaw, R. G. Dalziel // *J Gen Virol.* 2014;95(Pt 2):472–480.
85. Ribas N. L. K. S. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. / N. L. K. S. Ribas,

R. I. Carvalho, A. C. Santos et al. // *Pesqui Vet Bras.* 2013;33:1183–1194.

86. Rodda A. E. Extending circulating tumor DNA analysis to ultralow abundance mutations: Techniques and challenges. / A. E. Rodda, B. J. Parker, A. Spencer, S. R. Corrie // *ACS Sens.* 2018;3:540–560. doi: 10.1021/acssensors.7b00953.

87. Rose K. M. Selection of 2'-Deoxy-2'-fluoroarabino nucleic acid (FANA) aptamers that bind HIV-1 integrase with picomolar affinity. / K. M. Rose, I. Alves Ferreira-Bravo, M. Li, R. Craigie, M. A. Ditzler, P. Holliger, J. J. DeStefano // *ACS Chem. Biol.* 2019;14:2166–2175. doi: 10.1021/acsembio.9b00237.

88. Rose T. CODEHOP (COnsensus-DEgenerate Hybrid Oligonucleotide Primer) PCR primer design. / T. Rose // *Nucleic Acids Res.* 2003;31:3763–3766. doi: 10.1093/nar/gkg524. [PMC free article]

89. Rose T. M. CODEHOP-Mediated PCR—A powerful technique for the identification and characterization of viral genomes. / T. M. Rose // *Virology*. 2005;2:20. doi: 10.1186/1743-422X-2-20.

90. Russell G. Malignant catarrhal fever. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018.* / Russell G. // OIE-World Organisation Anim Health 1–12.

91. Russell G. C. Analysis of the genetic diversity of ovine herpesvirus 2 in samples from livestock with malignant catarrhal fever. / G. C. Russell, S. F. Scholes, D. F. Twomey, A. E. Courtenay, D. M. Grant, B. Lamond, D. Norris, K. Willoughby, D. M. Haig, J. P. Stewart // *Vet. Microbiol.* 2014;172:63–71. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.04.011.

92. Russell G. C. Malignant Catarrhal Fever: A review. / G. C. Russell, J. P. Stewart, D. M. Haig // *Vet. J.* 2009;179:324–335. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.11.007.

93. Sharma B. Malignant catarrhal fever (MCF): An emerging threat. / B. Sharma, S. Parul, G. Basak, R. Mishra // *J. Entomol. Zool. Stud.* 2019;7:26–32.

94. Silva Filho G. B. Febre catarral maligna em bovinos no Agreste de Pernambuco. / G. B. Silva Filho, H. A. Silva Chaves, L. D. A. Aires et al. // *Med Vet UFPRE.* 2017;11(3):192–196.

95. Sood R. Sheep associated malignant catarrhal fever: an emerging disease of bovinds in India. / R. Sood, D. Hemadri, S. Bhatia // *Indian J Virol.* 2013;24(3):321–331.

96. Sood R. Malignant Catarrhal Fever. / R. Sood, N. Kumar, S. Bhatia // Bayry J., editor. *Emerging and Re-Emerging Infectious Diseases of Livestock.* Springer International Publishing; Berlin/Heidelberg, Germany: 2017. pp. 347–362.

97. Staheli J. P. CODEHOP PCR and CODEHOP PCR primer design. / J. P. Staheli, R. Boyce, D. Kovarik, T. M. Rose // Park D. J., editor. *PCR Protocols. Volume 687.* Humana Press; Totowa, NJ, USA: 2011. pp. 57–73. *Methods in Molecular Biology.*

98. Taus N. S. Comparison of ovine herpesvirus 2 genomes isolated from domestic sheep (*Ovis aries*) and a clinically affected cow (*Bos bovis*) / N. S. Taus, D. R. Herndon, D. L. Traul, J. P. Stewart, M. Ackermann, H. Li, D. P. Knowles, G. S. Lewis, K. A. Brayton // *J Gen Virol.* 2007;88(Pt 1):40–45.

99. Taus N. S. Sheep (*Ovis aries*) airway epithelial cells support ovine herpesvirus 2 lytic replication in vivo. / N. S. Taus, D. A. Schneider, J. L. Oaks, H. Yan, K. L. Gailbreath, D. P. Knowles, H. Li // *Vet Microbiol.* 2010;145(1):47–53.

100. Wambua L. Wildebeest-associated malignant catarrhal fever: perspectives for integrated control of a lymphoproliferative disease of cattle in sub-Saharan Africa. / L. Wambua, P. N. Wambua, A. M. Ramogo, D. Mijeje, M. Y. Otiende // *Arch Virol.* 2016;161(1):1–10.

101. Wessels M. Malignant catarrhal fever in kune kune pigs in the UK. / M. Wessels, D. Harwood, M. Maley, K. Willoughby, C. Balfour // *Vet Rec.* 2011;169:156.

102. Zhu H. Caprine herpesvirus 2-associated malignant catarrhal fever of captive sika deer (*Cervus nippon*) in an intensive management system. / H. Zhu, Q. Huang, X. Hu, W. Chu, J. Zhang, L. Jiang, X. Yu, X. Zhang, S. Cheng // *BMC Vet Res.* 2018;14(1):38.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-32-40

УДК 57.08:614.87; 608.3; 581.5; 576.89; 591.69

Ключевые слова: антиген, вирус оспы верблюдов, тестикула ягненка, почка ягненка, сыворотка, развивающийся куриный эмбрион

Key words: antigen, camel pox virus, lamb testicle, lamb kidney, serum, developing chicken embryo

Сейсенбаева М. С., Наханова Г. Д., Оразымбетова Н. К., Умуралиев Б. К., Нурабаев С. Ш., Абеуов Х. Б., Жугунисов К. Д., Кондибаева Ж. Б., Кошематов Ж. К.

ПАРАМЕТРЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ИЗОЛЯТА ВИРУСА ОСПЫ ВЕРБЛЮДОВ CULTIVATION PARAMETERS OF THE CAMEL POX VIRUS ISOLATE

«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ Республики Казахстан
Адрес: 080409, Республика Казахстан, Жамбылская область, Кордайский р-н, пгт. Гвардейский, ул. Б. Момышулы, 15
“*Research Institute for 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

Сейсенбаева Мадина Сагдатовна, магистр биологии, научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных заболеваний, tnt-makosa@mail.ru
Seisenbayeva Madina Sagdatovna, Master of Biology, Researcher, Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases, tnt-makosa@mail.ru

Наханова Гульнур Джолдасбековна, магистр биологии, научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных заболеваний, gal.gulnur@mail.ru
Nakhanova Gulnur Dzholdasbekovna, Master of Biology, Researcher, Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases, gal.gulnur@mail.ru

Оразымбетова Нуркуль Калдыбайкызы, магистр биологии, научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных заболеваний, niki_taraz1991@mail.ru

Orazymbetova Nurkul Kaldybaykyzy, Master of Biology, Researcher, Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases, niki_taraz1991@mail.ru

Умуралиев Бакыт Кудайбергенович, младший научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных заболеваний, baha_umuraliev@mail.ru

Umuraliyev Bakyt Kudaibergenovich, Junior Researcher, Laboratory for Diagnostis of Infectious Diseases, baha_umuraliev@mail.ru

Нурабаев Сергазы Шуратбаевич, PhD, ведущий научный сотрудник лаборатории мониторинга инфекционных болезни, sergazy-75@mail.ru

Nurabaev Sergazy Shuratbayevich, PhD, Leading Researcher, Laboratory for Monitoring Infectious Diseases, sergazy-75@mail.ru

Абеуов Хайрулла Блялович, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории мониторинга инфекционных болезней, abeuov_khairulla@mail.ru.

Abeuov Khairulla Blyalovich, PhD of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher of the Laboratory for Monitoring Infectious Diseases, abeuov_khairulla@mail.ru.

Жугунисов Куандык Даулетбаевич, PhD, заведующий лабораторией коллекции микроорганизмов, kuandyk_83@mail.ru

Zhugunisov Kuandyk Dauletbaevich PhD, head of the laboratory of the collection of microorganisms, kuandyk_83@mail.ru

Кондибаева Жанат Буркитбаевна, PhD, ведущий научный сотрудник лаборатории технологии культивирования микроорганизмов, zhanat.kondybaeva@mail.ru

Kondibayeva Zhanat Burkitbaevna, PhD, Leading Researcher, Microorganism Cultivation Technology Laboratory, zhanat.kondybaeva@mail.ru

Кошметов Жумагали Каукарбаевич, д. б. н., профессор, заведующий лабораторией диагностики инфекционных заболеваний, koshemetov2008@mail.ru

Koshemetov Zhumagali Kaukarbayevich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases, koshemetov2008@mail.ru

Аннотация. В данной статье представлены результаты исследований по определению оптимальных параметров культивирования изолята вируса оспы верблюдов. Максимальная репродукция вируса оспы верблюдов отмечалась на культурах клеток ТЯ и ПЯ. Установлены следующие оптимальные параметры культивирования изолята вируса оспы верблюдов, множественность заражения – 0,025–0,075 ТЦД₅₀/кл, концентрация сыворотки КРС в составе поддерживающей питательной среды 2 %, температура инкубирования (32,5±0,5 °С), срок инкубирования 72 часа.

Summary. This article presents the results of studies that aimed to determine the optimal parameters for culturing the camel pox virus isolate. The maximum replication of the camel pox virus was observed in LT and LK cell cultures. The established optimal cultivation parameters include a multiplicity of infection of 0.025-0.075 CD₅₀/cell, a 2% concentration of cattle serum in the nutrient medium, an incubation temperature of 32.00 ± 0.5 °C, and an incubation period of 72 hours.

Введение

Своевременная и точная диагностика инфекционных заболеваний позволяет предотвратить или существенно сократить экономические потери в результате введения экстренных карантинных мероприятий. Диагностику оспы верблюдов проводят традиционными методами, требующими больших временных затрат. В настоящее время разработаны и внедрены в лабораторную практику быстрые, высокочувствительные и специфичные методы, позволяющие выявлять возбудитель на любой стадии болезни.

Оспа верблюдов – контагиозная болезнь, протекающая с образованием характерной узелково-пустулезной оспенной сыпи на коже и слизистых оболочках. Смертность при данной инфекции может варьировать от 4 до 30 % и зависит от возраста животных [4].

Возбудитель – крупный эпителиотропный вирус из группы поксвирусов. Верблюды, как и животные некоторых других видов и люди, вос-

приимчивы к возбудителям оспы коров и осповакцины, а также к оригинальному вирусу генуинной оспы верблюдов, не передающемуся человеку, крупному и мелкому рогатому скоту, лошадям, ослам, свиньям, зайцам, кроликам, сусликам, крысам, сирийским хомякам, белым мышам, курам и голубям. Лишь иногда в экспериментальных условиях этот вирус вызывает у животных отдельных видов в местах введения незначительные оспоподобные поражения [5, 7].

Вирусы оспы, выделяемые от больных верблюдов, еще мало исследованы. Известно лишь, что они проходят через свечи Беркефельда, устойчивы к высушиванию и вирионы их имеют среднегеометрическую величину 219×275 нм [8].

Диагноз базируется на анализе клинико-эпизоотических данных, патологоанатомических изменений, положительных результатов микроскопии (при обработке мазков из свежих папул методом серебрения по Морозову), а также биопробы на восприимчивых к оспе животных.

Удается выделить вирус из органов абортированных плодов больных оспой верблюдов. При диагностировании оспы рекомендуется пользоваться также реакцией диффузионной преципитации в агаровом геле и реакцией нейтрализации при наличии активных специфических сывороток или глобулинов [9, 2].

Цель и задачи. Одним из важных этапов в приготовлении диагностических препаратов является культивирование возбудителя. Изучение культуральных свойств и оптимизация условий культивирования вирусов актуальны в том плане, что полученные результаты дадут возможность в дальнейшем разработать эффективные профилактические и диагностические препараты.

Данная работа посвящена определению оптимальных условий культивирования изолята вируса оспы верблюдов в первичных и перевиваемых клеточных линиях с целью получения высокоактивного вирусодержащего материала, используемого при разработке технологии изготовления диагностических препаратов.

Материалы и методы

Исходным вирусодержащим материалом (ВСМ) послужил изолят, выделенный от больного животного оспой верблюдов на территории Западно-Казахстанской области.

Биологические системы культивирования. Вирус оспы верблюдов способен размножаться во многих культур клеток, таких как Vero, MA-104, клетки почки макаки-резус, клетки почки детеныша хомяка (ПДХ), клетки кожи дубайского верблюда (Dubca), а также следующие первичные культуры клеток: тестикул ягненка, почки ягненка, эмбриона верблюда, почки теленка и фибробласт эмбриона цыпленка [6].

В наших опытах в качестве системы культивирования использовали первично-трипсинизированные культуры клеток почки ягнят (ПЯ), тестикулу ягнят (ТЯ), также перевиваемые линии культуры клеток почки сирийского хомячка (ВНК-21), почки африканской зеленой марышки (VERO), почки бычка (MDVK) и почка марышки (MARK-145). На каждой культуре клеток культивирования проводили в трех последовательных пассажах.

Выбор питательной среды непосредственно влияет на возможность длительного поддержания клеток в культуре. Поэтому в качестве ростовых и поддерживающих сред использовали полусинтетическую пристеночную среду (ПСР), двойную модификацию среды Игла (DMEM) и Minimal Essential Medium с двойным набором аминокислот по рецептуре Eagles (Игла MEM)

с добавлением фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС) в конечной концентрации 1 %, 2 %, 5 % и 10 %.

Определение биологической активности изолята вируса оспы верблюдов в системах культивирования. Для изучения репродуктивных свойств изолята вируса оспы верблюдов в культуре клеток были проведены исследования по определению наибольшего накопления вируса при различных дозах инфицирования с использованием культуры клеток ТЯ при заражении в дозе от 0,0001 до 2 ТЦД₅₀/кл.

В технологии культивирования вирусов большую роль играют температура и срок культивирования. В связи с этим проведен опыт по определению оптимальной температуры и срока культивирования. Инкубацию зараженных культур проводили при температурах +28, +30, +32, +35, +37 и +39 °С длительностью до 7 суток. После достижения цитопатического действия до 85–90 % монослой клеток подвергали к трехкратной заморозке-оттаиванию в пределах температуры от минус 70 °С до комнатной температуры. Вирусодержащий материал собирали в стерильные флаконы. После определяли биологическую активность вирусодержащего материала.

Результаты исследований

Определение чувствительной культуральной системы для культивирования изолята вируса оспы верблюдов. Для изучения изолята вируса оспы верблюдов с целью получения высокоспецифического антигена необходимо использовать комплексный подход, которые требуют подбора оптимальных систем, срока и температуры при культивировании вируса.

Для определения наиболее чувствительной системой культивирования вируса использованы перевиваемые и первично-трипсинизованные линии культуры клеток, в монослоях данных культуры клеток производили по 3 последовательные пассажные уровни. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, изолят вируса оспы верблюдов в культурах клеток ТЯ, ПЯ, ВНК-21, VERO, MARK-145 и MDVK на 3 пассажном уровне.

ЦПД изолята вируса оспы верблюдов быстро выходит в монослое культуры клеток MARK-145, ПЯ, VERO и ТЯ. Равномерное появление ЦПД на 1 сутки – 50–60 %, на 2 сутки – поражение клеток 80–100 %. ЦПД в культуре клеток ВНК-21 выходит медленнее с 25–30 % поражением на 1 сутки и 80–100 % поражения культур клеток на 2 сутки. В культуре клеток MDVK проявление

Таблица 1

Адаптация ВОВ на разных культурах клеток

Наименование культуры клеток	Вирус/изолят	Пассажный уровень		
		1	2	3
ТЯ	ВОВ изолят	+++ -	++++	++++
ПЯ		+++ -	++++	++++
ВНК-21		++ - -	+++ -	++++
VERO		++ - -	+++ -	++++
MARK-145		++ - -	+++ -	++++
MDVK		----	+ - - -	++ - -

Примечание. 1 «+ - - -» – Наличие ЦПД 25 %. 2 «+ + - -» – Наличие ЦПД 50 %. 3 «+ + + -» – Наличие ЦПД 75 %. 4 «+ + + +» – Наличие ЦПД 100 %.

ЦПД мелкие, равномерные 25 % поражения клеток на 1 сутки, 50 % поражения клеток на 2, 3 и 4 сутки.

В результате проведенных исследований установлено, что репродукция изолята вируса оспы верблюдов отмечается во всех испытанных культурах. Из испытанных культур клеток наиболее чувствительной оказались первично-трипсинизированные линии культуры клеток ТЯ и ПЯ, где уже на втором пассаже удается получить высокоактивную вирусосодержащую суспензию с инфекционной активностью 6,5 lg ТЦД₅₀/см³. Также удовлетворительными характеристиками обладают перевиваемые линии культуры клеток VERO (4,5 lg ТЦД₅₀/см³), MARC-145 (3,75 lg ТЦД₅₀/см³), ВНК (3,50 lg ТЦД₅₀/см³). Культура клеток MDVK оказалась не чувствительной к вирусу оспы верблюдов.

Биологическая активность вируса оспы верблюдов на разных культурах клеток

Активность ВОВ определяли методом титрования в культуре клеток. Из ВСС готовили 10-кратные разведения от 10-1 до 10-10 на поддерживающей среде. Результаты титрования учитывали по наличию цитопатических изменений. Инфекционную активность выражали в lg ТЦД₅₀/см³. Результаты исследований представлены на рисунке 1.

По результатам наиболее активная вирусосодержащая суспензия получена в монослое культуры клеток ПЯ на 3 сутки, которая составила 6,5 lg ТЦД₅₀/см³, причем на других культурах активность вируса на порядок ниже, чем на культуре клеток ПЯ.

Для определения срока культивирования изолята вируса оспы верблюдов нами были инфицированы культуры клеток ПЯ в дозах от 0,0001 до 2 ТЦД₅₀/кл с дальнейшей инкубацией при температуре 37 °С.

Для изучения репродуктивных свойств изолята вируса оспы верблюдов проведены исследования

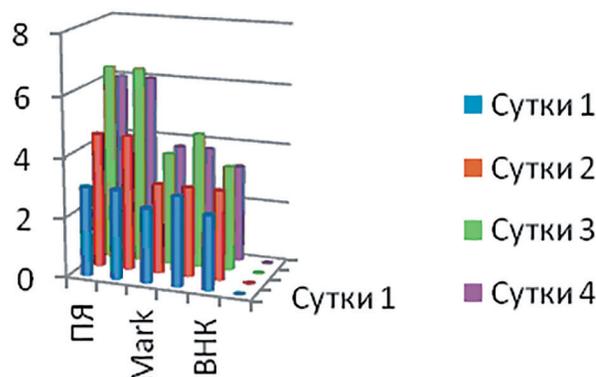


Рис. 1. Биологическая активность вируса оспы верблюдов на разных культурах клеток

по определению накопления вируса в различных дозах инфицирования с использованием культур клеток ПЯ. Специфичность вируса проверяли методом постановки реакции диффузионной преципитации (РДП) в агаровом геле. Результаты исследования представлены в таблице 2.

По результатам таблицы 2 установлено, что самой оптимальной заражающей дозой оказались 0,25, 0,05 и 0,75 ТЦД₅₀/кл. При этом активность вируса варьируется 6,25 ТЦД₅₀/см/кл, активность вируса в РДП к сыворотке специфической показала 1:4-1:8.

Для определения срока культивирования изолята вируса оспы верблюдов нами были инфици-



Рис. 2. Влияние разных питательных сред для культивирования изолята вируса оспы верблюдов

Дозы и активность в РДП вируса оспы верблюдов

№	Дозы вируса ТЦД ₅₀	Биологическая активность, lg ТЦД ₅₀ /см ³	Активность в РДП
1	0,0001	5,0	1:2
2	0,001	5,0	1:4
3	0,01	6,00	1:4
4	0,025	6,25	1:4
5	0,05	6,25	1:8
6	0,075	6,25	1:4
7	0,1	6,00	1:4
8	0,25	6,00	1:4
9	0,5	5,75	1:4
10	0,75	5,75	1:4
11	1	5,00	1:2
12	2	4,75	1:2

рована культура клеток ПЯ в дозе 0,05 ТЦД₅₀/кл с дальнейшей инкубацией. Результаты исследования представлены в таблице 3.

По результатам таблицы определено, что оптимальным сроком культивирования изолята вируса оспы верблюдов для получения высокоактивного антигена является 3 суток, причем биологическая активность составила 6,50 lg ТЦД₅₀/см³.

Подбор температуры культивирования изолята вируса оспы верблюдов

Инкубацию зараженных культур проводили при температурах +28, +30, +32, +35, +37 и +39 °С длительностью 7 суток. Результаты представлены в таблице 4.

По данным таблицы видно, что репродукция вируса наблюдается при температурах 28, 30, 32, 35 и 37 °С, где инфекционная активность колеблется от 3,5 до 7,0 lg ТЦД₅₀/см³, но наиболее подходящим для инкубации исследуемого изолята вируса оспы верблюдов является температура 32 °С. Инфекционная активность составляет в пределах 7,0 lg ТЦД₅₀/см³. При температуре 39 °С монослой клеток отслоился со стенок матраса, можно сказать, что данная температура непригодна для культивирования изолята вируса оспы верблюдов.

Подбор питательной среды для культивирования изолята вируса оспы верблюдов

Адаптация вируса проходит тем легче, чем ближе новая среда. Чтобы репродукция вируса прошла на лучшем уровне, используют чувствительную систему. Выбор питательной среды определяет успех культивирования клеток, вы-

бранных в качестве объекта исследования или модельной системы. Для получения высокоактивного антигена вируса оспы верблюдов нами были испытаны имеющиеся в РГП НИИПББ МЗ РК полусинтетическая пристеночная среда (ПСП), двойная модификация среды Игла (DMEM) и Minimal Essential Medium с двойным набором аминокислот по рецептуре Eagles (Игла MEM). Результаты представлены на рисунке 2.

В результате проведенных экспериментов выяснили, что питательная среда «Игла MEM» через 72 часа задерживает размножение вируса. Использование питательных сред «DMEM» и «ПСП» на протяжении 72–96 часов не влияло на монослой клеток. После 3 последовательных пассажей нами была определена биологическая активность вируса на разных средах. Исследования показали, что при использовании питательной среды «Игла MEM» биологическая активность изолята вируса оспы верблюдов составила 4,25 lg ТЦД₅₀/см³. В ходе исследований установлено, что самые оптимальные среды для культивирования изолята вируса оспы верблюдов являются питательные среды «DMEM» и «ПСП».

Подбор оптимальной концентрации фетальной сыворотки КРС для культивирования изолята вируса оспы верблюдов

Культуральная среда является наиболее важным аспектом работы с клеточными культурами. Одной из распространенных добавок для сред для культивирования клеток является фетальная бычья сыворотка (FBS). При подборе оптимальной концентрации FBS для культивирования изолята вируса оспы верблюдов использовали концентрации FBS: 1 %, 2 %, 5 % и 10 %. В конце

Таблица 3

Определение оптимального срока культивирования изолята вируса оспы верблюдов

Сроки культивирования, суток	Десятикратное разведение вируса										Биологическая активность, lg ЦПД ₅₀ /см ³
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	
1	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	5,50
	++	++	++	++	++	--	-	-	-	-	
	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	
2	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	5,75
	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	-	
	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	
3	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	6,50
	++	++	++	++	++	++	--	-	-	-	
	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	
4	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	5,75
	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	
	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	-	
5	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	3,50
	++	++	-	++	-	-	-	-	-	-	
	++	++	-	++	-	-	-	-	-	-	
6	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	2,00
	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	
	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	1,50
	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	
	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	

Примечание. «++++» – Проявление ЦПД на 100 %; «+++» – Проявление ЦПД на 75 %; «++-» – Проявление ЦПД на 50 %; «+-» – Проявление ЦПД на 25 %; «-» – Отсутствие ЦПД.

Температурно-временной режим для культивирования изолята вируса оспы верблюдов

Температура культивирования	Титр										Биологическая активность, lg ЦПД ₅₀ /см ³
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	
28°C	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	3,50
	++	++	++	--	-	-	-	-	-	-	3,50
	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	3,50
30°C	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	6,75
	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,75
	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,75
32°C	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	7,00
	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	7,00
	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	7,00
35°C	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,25
	++	++	++	++	++	++	--	-	-	-	6,25
	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,25
37°C	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	6,00
	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	6,00
	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	6,00
39°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

Примечание. «++++» – проявление ЦПД на 100 %; «+++» – проявление ЦПД на 75 %; «++» – проявление ЦПД на 50 %; «+» – проявление ЦПД на 25 %.

были проведены опыты по определению биологической активности вируса оспы верблюдов. Результаты изложены в таблице 5.

По данным таблицы 5 для культивирования изолята вируса оспы верблюдов оптимальной концентрацией фетальной сыворотки КРС, добавляемой в питательную среду, является 2 %.

Обсуждение

С момента открытия вирусов впервые в качестве объектов для культивирования вирусов

использовали животных. Известно, что вирусы способны репродуцироваться в клетках живых организмов. Существуют несколько биологических систем, в которых можно культивировать вирусы – организм животных, развивающиеся куриные эмбрионы и культуры клеток.

Для оптимизации процессов культивирования вирусов вирусологами были предложены в качестве объектов развивающиеся куриные эмбрионы (РКЭ). Преимуществом этого метода является высокая бактериологическая чистота получае-

Таблица 5

Биологическая активность изолята вируса оспы верблюдов, культивированного с разными концентрациями FBS

Концентрации FBS	Десятикратное разведение вируса										Биологическая активность, lg ТЦД ₅₀ /см ³
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	
1%	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	3,0
	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	3,0
	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	3,0
2%	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	6,75
	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	6,75
	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	6,75
5%	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,75
	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,75
	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,75
10%	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,25
	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,25
	++	++	++	++	++	++	+-	-	-	-	6,25

Примечание. «+ + + +» – Проявление ЦПД на 100 %. «+ + + -» – Проявление ЦПД на 75 %. «+ + - -» – Проявление ЦПД на 50 %. «+ - - -» – Проявление ЦПД на 25 %. «-» – Отсутствие ЦПД.

мых вирусных суспензий, поскольку замкнутая полость яйца служит надежной защитой от различной микрофлоры. Однако использование РКЭ заключало в себе недостатки (например, высокое содержание в экстраэмбриональных вирусосодержащих жидкостях неспецифического белка, а также возможность спонтанного инфицирования куриных эмбрионов вирусами). Позже, для культивирования вирусов были предложены клетки многоклеточных организмов. Культура клеток является биологической системой для культивирования вирусов.

В статье М. Мосадегхесари и соавт. [8] имеются данные об успешном культивировании вируса оспы верблюдов штаммы «CMS» и М-96 на культуре клеток Vero. В культуре клеток Vero цитопатический эффект (ЦПЭ) проявлялся через 2–5 дней после заражения. В статье К. Д. Жугунисова и соавт. имеются данные об

успешном культивировании вируса оспы верблюдов на культуре клеток ПЯ и РКЭ [3]. Аналогичный случай описан Е. А. Булатовым и соавт. при культивировании эпизоотического штамма «М-96» [1]. Учитывая эти данные, нами были подробно изучены оптимальные параметры культивирования изолята вируса оспы верблюдов на культуре клеток ТЯ. При этом биологическая активность вируса составила в пределах 7,0 lg ТЦД₅₀/см³.

Заключение

В результате проведенных серии экспериментов были выявлены оптимальные условия для культивирования изолята вируса оспы верблюдов.

В качестве культуры клеток необходимо использовать тестикулы ягненка, в качестве питательной среды для репродукции вируса оптимальным являются «DMEM» и «ПСР» с 2 %

SN KPC, при этом срок культивирования 3 суток, температура культивирования 32 °С. В указанном параметре культивирования биологическая активность вируса достигают до 7,00 Ig ТЦД₅₀/см³.

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.

Список литературы

1. Булатов Е. А. О циркуляции вируса оспы верблюдов в Мангыстауской области Республики Казахстан в скрытой форме / Е. А. Булатов, С. М. Мамадалиев, М. Мамбеталиев, Н. Т. Битов // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2010. Т. 3, № 7. С. 11–13.
2. Жигайлов А. В. Анализ рисков распространения оспы верблюдов в Казахстане / А. В. Жигайлов, А. С. Машжан, А. О. Бисенбай, Е. О. Остапчук, Ю. В. Перфильева, Э. Р. Мальцева, Д. А. Найзабекова, Ж. А. Бердыгулова, Ю. А. Скиба, С. М. Мамадалиев // Вестник КазНУ. Серия экологическая. 2022. Том 71. № 2. С. 94–102.

3. Жугунисов К. Д. Выделение нового штамма М-2020 вируса оспы верблюдов (Poxviridae: Orthopoxvirus: Camelpox virus) в Республике Казахстан и изучение его репродукции на различных биологических системах / К. Д. Жугунисов, М. А. Мамбеталиев, М. А. Азанбекова, М. К. Кенжебаева, С. С. Килибаев, М. С. Туысканова, А. С. Джашаева, А. Д. Омуртай, Ш. Т. Табыс // Вопросы вирусологии. 2022;67(1):77–86.

4. Султанкулова К. Т. Вирус оспы верблюдов: биологические свойства, структура генома и диагностика / К. Т. Султанкулова, В. Л. Зайцев. Алматы, 2017. С. 154.

5. Abdellatif M. M. Development and evaluation of a live attenuated camelpox vaccine from a local field isolate of the virus / M. M. Abdellatif, A. A. Ibrahim, A. I. Khalafalla // Rev. Sci. Tech. 2014. 33:831–838.

6. Al Falluji M. M. Isolation, Identification and Characterization of Camelpox Virus in Iraq / M. M. Al Falluji, H. H. Tantawi // Journal article. Oct 1979. Vol. 83. № 2. PP. 267–272.

7. Hafez S. M. Development of a live cell culture camelpox vaccine / S. M. Hafez, A. Al-Sukayran, D. M. Dela-Cruz, K. S. Mazloum, A. M. Al-Bokmy, A. Al-Mukayel, A. M. Amjad // Vaccine. 1992. 10:533–537.

8. Mosadeghesari M. Molecular investigation and cultivation of camelpox virus in Iran / M. Mosadeghesari, A. Oryan, S. Zibae, H. R. Varshovi // Arch Virol. 2014. 159(11):3005–11.

9. Wernery U. Production of an attenuated camelpox vaccine (Ducapox) Camel / U. Wernery // Pract. Res. 1992. 7:117–119.

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

НОВЫЙ ДИСТАНЦИОННЫЙ КУРС!
Работа с источниками ионизирующего излучения, ответственный за радиационную безопасность на предприятии, персонал группы «А»

Учитесь, когда удобно!

72 часа

Сертификат "Персонал группы А"

Удостоверение о повышении квалификации

new

Для лицензирования рентгенкабинета

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-41-44

УДК: 578.4:616-022.39

Ключевые слова: бешенство в Бразилии, эпизоотология, природная очаговость, паразитарные системы.
 Key words: rabies in Brazil, epizootology, natural nidality, parasitic systems.

^{1,2}Лохмачёва С. В.

ЭКОТИПЫ ПАРАЗИТАРНОЙ СИСТЕМЫ БЕШЕНСТВА В БРАЗИЛИИ ECOTYPES OF THE PARASITIC SYSTEM OF RABIES IN BRAZIL

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Адрес: 17198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Peoples' Friendship University of Russia",**Address: 17198, Moscow, st. Miklukho-Maklaya, 6.*²Ветеринарная клиника «É o Bicho».

Адрес: 11410-280, Бразилия, штат Сан-Пауло, г. Гуаружа.

*Veterinary clinic "É o Bicho".**Address: 11410-280, Brazil, State of Sao Paulo, Guaruja.*

Лохмачёва С.В., аспирант департамента ветеринарной медицины, sofialv99@gmail.com

Lokhmacheva S.V., Postgraduate Student of the Department of Veterinary Medicine, sofialv99@gmail.com

Научный руководитель Макаров В.В., доктор биологических наук, профессор, vvm-39@mail.ru

Makarov V.V., Scientific adviser, Doctor of Biological Sciences, Professor, vvm-39@mail.ru

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Адрес: 17198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Peoples' Friendship University of Russia",**Address: 17198, Moscow, st. Miklukho-Maklaya, 6.*

Аннотация. Настоящее информационно-аналитическое исследование посвящено рассмотрению вирусологических и общих биоэкологических элементов, определяющих проявление эпизоотического и эпидемического процессов бешенства на территории Бразилии. Охарактеризованы природная очаговость и паразитарные системы бешенства разных экотипов, приведены и проинтерпретированы современные данные относительно заражения людей и домашних животных от разных источников инфекции.

Summary. This information and analytical study is devoted to the consideration of virological and general bioecological elements that determine the manifestation of the epizootic and epidemic processes of rabies in Brazil. The natural nidality and parasitic systems of different ecotypes are characterized, modern data on the infection of humans and domestic animals with rabies from different sources are presented and interpreted.

Введение

Бешенство (Rabies) — широко распространенное смертельно опасное вирусное заболевание. Относится к числу древнейших зоонозных инфекций, все теплокровные животные, в том числе и человек, чувствительны к заражению. Является одним из наиболее злокачественных среди прочих инфекционных болезней, вызывает необратимые поражения ЦНС с высоким уровнем летальности. Рабическая инфекция до сих пор остается глобальной угрозой, поскольку ее распространенность охватывает порядка 150 стран, половина населения Земли проживает в эндемичных районах, ежегодная смертность составляет более 1 млн животных и до 70 тысяч человек. Во всем мире после травмирующих контактов с потенциально зараженными бешенством животными ежегодно от 9 до 12 млн человек подвергаются постэкспозиционным про-

филактическим антирабическим обработкам с затратами свыше 2 млрд \$ [1, 2]. В Бразилии профилактика бешенства среди людей входит в тройку болезней с наибольшим количеством регистраций в стране. В 2019 г. зарегистрировано 522 675 случаев постконтактного лечения бешенства с затратами 3 млн \$ [4].

Этиологическим агентом бешенства является РНК-содержащий вирус, относящийся к отряду *Mononegavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, роду *Lyssavirus*. Международный комитет по таксономии выделяет 17 видов лиссавирусов [17]:

– *Lyssavirus rabies* (rabies virus, RABV);– *Lyssavirus lagos* (Lagos bat virus, LBV);– *Lyssavirus mokola* (Mokola virus, MOKV);– *Lyssavirus duvenhage* (Duvenhage virus, DUVV);– *Lyssavirus hamburg* (European bat 1 lyssavirus, EBLV-1);

- *Lyssavirus helsinki* (European bat 2 lyssavirus, EBLV-2);
- *Lyssavirus australis* (Australian bat lyssavirus, ABLV);
- *Lyssavirus irkut* (Irkut virus, IRKV);
- *Lyssavirus caucasicus* (West Caucasian bat virus, WCBV);
- *Lyssavirus khujand* (Khujand virus, KHUV);
- *Lyssavirus aravan* (Aravan virus, ARAV);
- *Lyssavirus shimoni* (Shimoni bat virus, SHIBV);
- *Lyssavirus bokeloh* (Bokeloh bat lyssavirus, BBLV);
- *Lyssavirus ikoma* (Ikoma lyssavirus, IKOV);
- *Lyssavirus lleida* (Lleida bat lyssavirus, LLEBV);
- *Lyssavirus gannoruwa* (Gannoruwa bat lyssavirus, GBLV);
- *Lyssavirus formosa* (Taiwan bat lyssavirus, TBLV).

Наиболее распространенным, космополитичным является RABV, циркулирующий в Южной Америке в популяциях млекопитающих, главным образом, хищных (отряд *Carnivora*) и рукокрылых (отряд *Chiroptera*). Проблемы управления рабической инфекцией в регионе обусловлены ее чрезвычайной паразитосистемной вариабельностью и полигостальностью. Здесь потенциальными резервуарами и источниками инфекции являются домашние животные (собаки, кошки), рукокрылые (летучие мыши-вампиры и насекомоядные), дикие хищники (лисы автохтонных видов), приматы-мартышки, представляющие риск заражения людей [4, 10].

Целью настоящего сообщения является описание различных экотипов паразитарных систем рабической инфекции на территории Бразилии, играющих роль в прямой передаче RABV людям.

Материалы и методы исследований

Данное исследование проведено в формате систематического обзора, обобщения и анализа имеющихся материалов по бешенству на территории Бразилии. Проведен поиск литературы в национальных базах данных Министерства здравоохранения, секретариата по надзору за здоровьем (SVS/MS), на платформах Centers for Disease Control and Prevention (CDC) и Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) с целью получить соответствующую информацию и отчеты последних лет относительно эпизоотической ситуации по бешенству в стране. Источниками служили также доступные научные сведения из ряда современных отечественных и зарубежных публикаций, поиск которых проводился в базах данных

eLIBRARY.RU, PubMed, Web of Science, Scopus, Google Scholar. Иллюстрации заимствованы из открытых интернет-источников. В качестве методической основы использованы принципы и приемы дескриптивной эпизоотологии [1, 2, 3, 16].

Результаты исследований

В Южной Америке распространен RABV. В природных очагах Бразилии вирус циркулирует в популяциях диких псовых семейства *Canidae* (лисы автохтонных видов, еноты) и рукокрылых семейства *Phyllostomidae*. Необычным является циркуляция RABV в популяциях диких приматов-мартышек семейства *Callitrichidae* [10, 13, 15].

В Бразилии RABV имеет семь антигенных характеристик (AgV), признанных CDC и OPAS (таб.1).

Паразитарная система бешенства представлена городским, природно-очаговым, наземно-воздушным экотипами и их комбинациями (рис.1):

RABV + домашние плотоядные (главным образом, безнадзорные собаки, кошки) — классическое городское бешенство;

RABV + дикие плотоядные [лисы автохтонных видов – майконги (лисица-крабоед), енот-ракоед] — природно-очаговое бешенство диких и домашних животных, в частности, в северо-восточной части страны;

RABV + рукокрылые (в основном вампир-гематофаги и насекомоядные) — природно-очаговое паралитическое бешенство животных со смертельными случаями заражения людей;

RABV + приматы (игрунка обыкновенная) — природно-очаговое бешенство с зарегистрированными случаями заражения людей.

Нарастающую проблему контроля рабической инфекции представляет антигенный вариант вируса AgV3, выделенный от *Desmodus rotundus* (летучие мыши вампиры-гематофаги), являющийся основной детерминантой случаев бешенства человека и других животных. По данным SVS/MS с 2010 по 2022 г. было выявлено 24 случая заражения людей бешенством от летучих мышей. До ноября 2022 г. в Бразилии было подтверждено пять индекс-случаев бешенства человека, во всех из них был выявлен антигенный вариант вируса AgV3: четыре зарегистрированы в поселении коренных народов в муниципалитете Бертополис/Минас-Жерайс (два 12-летних подростка и двое детей в возрасте от 4 до 5 лет, подверженные укусам летучих мышей) и один в Федеральном округе (подросток в возрасте 15–19 лет) [7]. Кроме того, насекомоядные летучие мыши в городских районах, хотя и охраняются законом и играют важную

Таблица 1

Антигенные варианты RABV, встречающиеся на территории Бразилии [8, 10]

Антигенные варианты вируса RABV	Гостальность	
	Отряд	Вид
AgV1 и AgV2	Carnivora	<i>Canis familiaris</i> (собака)
AgV3	Chiroptera	<i>Desmodus rotundus</i> (обыкновенный вампир)
AgV4	Chiroptera	<i>Tadarida brasiliensis</i> (бразильский складчатогуб)
AgV6	Chiroptera	<i>Lasiurus cinereus</i> (серый волосатохвост)
AgV2*	Carnivora	<i>Cerdocyon thous</i> (майконг), <i>Procyon cancrivorus</i> (енот-ракоед)
AgVCN	Primates	<i>Callithrix jacchus</i> (обыкновенная игрунка)

экологическую роль, становятся угрозой для популяции домашних животных, а также человека, поскольку количество положительных на вирус бешенства видов растёт с каждым годом [10, 11].

Вследствие успеха программ контроля над городским циклом бешенства вполне вероятно, что заражение людей RABV в Бразилии приближается к уровню, который невозможно снизить без борьбы с дикими животными. Большинство случаев, встречающихся у наземных млекопитающих, являются результатом заражения вариантом вируса, который циркулирует в доминирующем резервуаре-хозяине дикой природы. Таковыми являются лисы автотонных видов, а именно майконги, и енот-ракоед.

Майконги – всеядные животные, и вследствие нарушения естественной среды обитания в результате человеческой деятельности их ареал постепенно смещается ближе к людям. Эти изменения увеличивают частоту контакта с людьми и домашними животными, и, следовательно, риск передачи возбудителя. Енот-ракоед широко распространён на территории Бразилии, особенно в северо-восточной части страны [10, 12]. Оба вида имеют сходные ареалы, биотопы, типы питания, что облегчает циркуляцию инфекции между ними. В 2010–2022 гг. выявлено 2 индекс-случая заражения человека бешенством от лис [7].

Исключительный интерес представляет эндемичный независимый цикл рабической инфекции с участием в качестве резервуара приматов семейства *Cebidae*, род *Callithrix*. Хотя шесть видов, принадлежащих к роду, являются эндемиками в Бразилии, только *Callithrix jacchus* (игрунка обыкновенная) характеризуется как природный паразито-

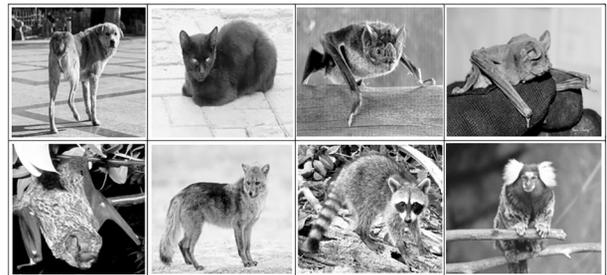


Рис. 1. Резервуары RABV на территории Бразилии – слева направо собака, кошка, обыкновенный вампир, бразильский складчатогуб, серый волосатохвост, майконг, енот-ракоед, обыкновенная игрунка

системный хозяин RABV. Согласно данным SVS/MS в период 1990–2016 гг. зарегистрировано не менее 19 случаев, в 2010–2022 гг. – 4 случая заражения людей, идентифицированных с этим источником инфекции. Среди представителей этого вида за тот же период было выявлено не менее 59 случаев бешенства [7, 13]. Важно, что сохранение генетической линии RABV обнаружено только у *C. jacchus* и только в северо-восточном регионе Бразилии [9, 13].

Городской экотип рабической инфекции в Бразилии находится под государственным контролем. Национальная программа профилактики бешенства, принятая в 1973 г., внедрила вакцинацию собак и кошек на всей территории страны [14]. Эта деятельность привела к значительному снижению случаев инфицирования у этих животных и таким образом позволила бороться с городским циклом бешенства (рис. 2). В отношении гидрофобии среди людей, по данным SVS/MS за период 2010–2022 гг., зарегистрировано 9 случаев заражения от собак, 4 случая — от кошек [7]. При рассмотрении от-

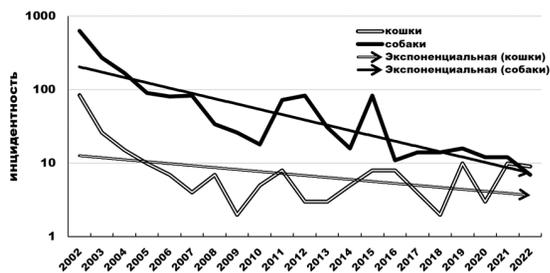


Рис. 2. Инцидентность бешенства собак и кошек в Бразилии в 2002—2022 гг. (по данным SVS/MS) носителем недавнего периода времени (2018—2022 гг.) бешенство среди собак и кошек было зарегистрировано в 95 случаях, антигенный вариант AgV3 зарегистрирован в 33 случаях, 29 случаев заражения от лис автохтонных видов. В остальных случаях вариант RABV не идентифицирован [6].

Заключение

1. На территории Бразилии RABV циркулирует в паразитарных системах четырех экотипов, представляющих собой комбинации классической наземной и воздушно-наземной природно-очаговой инфекции.

2. Городской экотип бешенства находится под государственным контролем посредством обязательной вакцинации собак и кошек, принятой Национальной программой профилактики бешенства в 1973 г. Благодаря действующим мерам в последние десятилетия число случаев заражения людей бешенством от собак и кошек значительно сократилось.

3. Нарастающую угрозу представляют рукокрылые, главным образом, летучие мыши вампиры-гематофаги, являющиеся основной детерминантой случаев бешенства среди людей и других животных. Контроль их популяции, информирование населения о возможной опасности являются обязательными мерами профилактики со стороны государства.

4. Особого внимания требует контроль циркулирующей инфекции среди диких хищников — майконгов и енотов-ракоедов, являющихся симпатрическими видами. Из-за сокращения ареала их обитания увеличивается число контактов с домашними животными и людьми, что повышает риск заражения последних.

5. Циркуляция вируса среди приматов (обыкновенных игрунок) представляет интерес в контексте расширения экотиповой гостальности и ареала бешенства, а также влечет за собой предупредительные меры со стороны правительства о возможном заражении людей, особенно туристов.

Список литературы.

1. Макаров В. В. Современные представления о бешенстве / В. В. Макаров // Вестник охотоведения. 2018. Т. 15. №. 3. С. 215–227.
2. Макаров В. В. Экодинамика бешенства / В. В. Макаров, О. Ю. Барсуков, Ю. И. Барсуков // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2023. №. 1 (57). С. 12–19.
3. Эпизоотологический метод исследования. / Макаров В. В., Рыжова Д. Д., Петров А. К., Куликов Е. В. М.: РУДН, 2022, 74 с.
4. Babboni S. D. Raiva: origem, importância e aspectos históricos / S. D. Babboni, J. R. Modolo // UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde. 2011. С. 349–356.
5. Brasil. Ministério da Saúde. BE Vol. 51 N° 16 - A vigilância da raiva no Brasil em 2019.pdf. [Brasília]: Ministério da Saúde, 28 mar. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/raiva/be-vol-51-no-16-a-vigilancia-da-raiva-no-brasil-em-2019.pdf/view>. Acesso em: 08 mar. 2023.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Raiva Animal. [Brasília]: Ministério da Saúde, 04 nov. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/r/raiva/raiva-animal>. Acesso em: 25 fev. 2023.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Raiva humana. [Brasília]: Ministério da Saúde, 04 nov. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/r/raiva/raiva-humana>. Acesso em: 28 fev. 2023.
8. Brasil. Parana Governo do estado. Secretaria de saúde. Raiva - Guia de vigilância em saúde 2021. Disponível em: https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2021-11/guia%20de%20vigila%CC%82ncia%20em%20saude_RAIVA%202021.pdf.
9. Favoretto S. R. et al. Rabies in marmosets (*Callithrix jacchus*), Ceará, Brazil // Emerging infectious diseases. 2001. Т. 7. №. 6. С. 1062.
10. Favoretto S. The emergence of wildlife species as a source of human rabies infection in Brazil. / S. Favoretto, C. de Mattos, A. Campos et al. // Epidemiol Infect. 2013;141:1552-1561.
11. Horta M. A. From dogs to bats: Concerns regarding vampire bat-borne rabies in Brazil / M. A. Horta et al. // PLOS Neglected Tropical Diseases. 2022. Т. 16. №. 3. С. e0010160.
12. Kotait I. Manual Técnico do Instituto Pasteur: raiva: aspectos gerais e clínica / I. Kotait, M. L. Carrieri, N. Y. Takaoka // Manual Técnico do Instituto Pasteur: raiva: aspectos gerais e clínica. – 2009. – С. 49-49.
13. Kotait I. Non-human primates as a reservoir for rabies virus in Brazil. / I. Kotait, R. Oliveira, M. Carrieri et al. // Zoonoses Public Health. (2019) 66:47-59. doi: 10.1111/zph.12527.
14. Medeiros K. R. C. A importância e os desafios das campanhas de vacinação antirrábica em cães e gatos: revisão de literatura. / K. R. C. Medeiros. 2022.
15. Morato F. Raiva: uma doença antiga, mas ainda atual / F. Morato F., C. Y. Ikuta, F. H. Ito // Revista de educação continuada em medicina veterinária e zootecnia do CRMV-SP. 2011. Т. 9. №. 3. С. 20–29.
16. Tartarotti A. L. Análise descritiva dos atendimentos antirrábicos humanos no Rio Grande do Sul entre 2012 a 2016. / A. L. Tartarotti. 2018.
17. Virus Taxonomy. The ICTV Report on Virus Classification and Taxon Nomenclature. Subfamily: Alpharhabdovirinae. Genus: Lyssavirus. Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/w/rhabdoviridae/795/genus-lyssavirus

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-45-47

УДК: 619:616.995.

Ключевые слова: эпизоотический процесс, возрастные границы, временные границы, свиньи, аскариоз, нематоды, интенсивность инвазии, экстенсивность инвазии

Key words: epizootic process, age limits, time limits, pigs, ascariasis, nematodes, intensiveness of invasion, extensiveness of invasion

Беспалова Н. С.

**КРАЕВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ АСКАРИОЗЕ
СВИНЕЙ В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ**
*REGIONAL FEATURES OF THE EPIZOOTIC PROCESS IN PIG ASCARIASIS
IN THE VORONEZH REGION*

ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I

Адрес: 394087 г. Воронеж, ул. Мичурина, д.1

*Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great**Address: 394087, Russian Federation, Voronezh, Michurina st., 1*

Беспалова Надежда Сергеевна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и паразитологии. E-mail: Nadezh.bespalova2014@yandex.ru

Bespalova Nadezhda Sergeevna, Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Veterinary and Sanitary Examination, Epizootology and Parasitology. E-mail: Nadezh.bespalova2014@yandex.ru

Аннотация. Эпизоотический процесс при аскариозе свиней в условиях Воронежской области характеризуется зимне-весенним подъемом заболеваемости с выраженными возрастными границами. Количественные параметры самые высокие у поросят в возрасте от 4 до 8 месяцев в зимне-весенний период. ЭИ варьируется в пределах 35,3–36,61 %, ИИ – 53,20±3,02 – 75,12±3,11 экз. яиц аскаридов в 1 г фекалий в зимнее время. В весеннее время показатели составляли 11,22–26,61 % и 11,40±1,03 – 44,40±2,50 экз. соответственно.

Summary. *The epizootic process in pig ascariasis in the conditions of the Voronezh Region is characterized by a winter-spring rise in morbidity with pronounced age boundaries. Quantitative parameters are highest in piglets aged 4 to 8 months in the winter-spring period. EoI varies in the range of 35.3–36.61 %, IoI – 53.20±3.02 – 75.12±3.11 copies ascaris eggs in 1g of faeces in winter. In spring, the indicators were 11.22–26.61 % and 11.40±1.03 – 44.40±2.50 copies accordingly.*

Введение

Аскариоз свиней – повсеместно распространенная инвазия, причиняющая экономический ущерб хозяйствам разных форм собственности и технологий содержания животных. Инвазия регистрируется даже в хозяйствах с высокой зоогигиенической культурой. В. П. Иванюк с соавт. (2022) приводит данные, что в Тверской области экстенсивность инвазии (ЭИ) аскариозом молодняка свиней достигает 100%, животные старших возрастов инвазированы от 16 до 34 %. Эпизоотический подъем инвазии установлен в осеннее время, а спад – в весеннее [2]. А. М. Никанорова с соавт. (2019) указывает на наличие аскариозной инвазии в благополучных хозяйствах Калужской области, где противопаразитарные мероприятия проводятся без учета конкретной гельминтологической ситуации. По данным автора, ЭИ варьируется от 10 % у поросят-сосунов и хряков-производителей до 90 % у поросят группы отъема [4]. Н. М. Насибов (2022) сообщает, что на территории Азербайджана максимальный подъем заболеваемости свиней аскариозом регистрируется в летнее время, ЭИ превышает 45 %.

В зимнее и осеннее время данный показатель достигал 30 % [3]. По данным Р. Т. Сафиуллина с соавт. (2018) в условиях племенной фермы хряки-производители заражены аскариозом на 30 % [5]. Эпизоотологические данные необходимо учитывать при планировании противопаразитарных мероприятий в свиноводческих хозяйствах.

Цель работы – изучить краевые особенности эпизоотического процесса при аскариозе свиней в климато-географических и хозяйственных условиях Воронежской области для оптимизации комплекса лечебно-реабилитационных мероприятий при данной инвазии.

Материалы и методы

Изучение краевых особенностей эпизоотического процесса при аскариозе свиней проведено в условиях крестьянско-фермерских и индивидуальных подсобных хозяйств Центрального Черноземья России на примере Воронежской области. Исследовано 300 голов свиней разного возраста. Применены методы эпизоотологического анализа, копрологические исследования по методу Дарлинга [1] с определением количе-

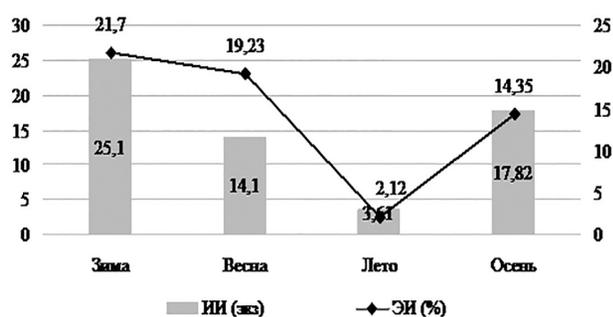


Рис. 1. Количественная характеристика инвазии у поросят от 0 до 2 мес.

ственных показателей уровня зараженности (экстенсивность и интенсивность инвазии) и статистической обработкой полученных результатов с помощью компьютерных программ.

Результаты исследований и их обсуждение

Нами установлено, что у поросят возрастной группы от 0 до 2 месяцев инвазия аскариозом в зимний период года характеризовалась высоким уровнем экстенсивности инвазии (ЭИ) – 21,70 %, средняя интенсивность инвазии (ИИ) – $25,10 \pm 1,14$ экз. яиц аскаридов в 1 г фекалий (Рисунок 1). В весенний период исследуемые показатели имели тенденцию к снижению до 19,23 % и $14,10 \pm 0,09$ экз. яиц соответственно со спадом активности эпизоотического процесса в летнее время, когда уровень ЭИ не превышал 2,12 %, а ИИ – $3,6 \pm 0,02$ экз.

Нарастание активности эпизоотического процесса было установлено с сентября с увеличением ЭИ в осенний период до 14,35 %, а ИИ – до $17,8 \pm 0,05$ экз. яиц соответственно.

В возрастной группе от 2 до 4 месяцев установлен подъем эпизоотического процесса в зимний период с максимальными значениями показателей ЭИ и ИИ до 18,73 % и $34,50 \pm 2,18$ экз. яиц аскаридов в 1 г фекалий (Рисунок 2). Данная тенденция сохранялась и в весенний период с ЭИ в пределах 18,00–22,44 %, ИИ – $37,60 \pm 2,04$ – $46,14 \pm 2,06$ экз. яиц. Спад напряженности эпизо-

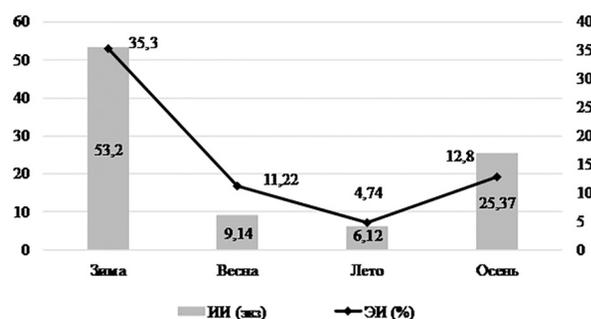


Рис. 3. Количественная характеристика инвазии у поросят от 4 до 6 мес.

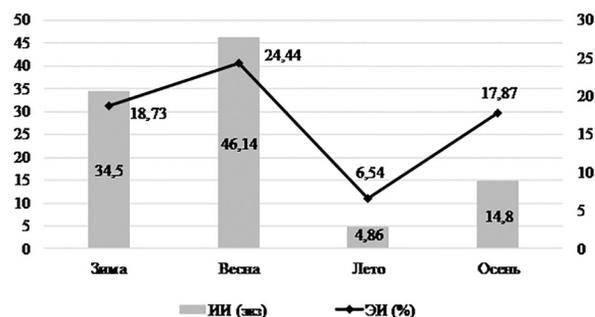


Рис. 2. Количественная характеристика инвазии у поросят от 2 до 4 мес.

отического процесса был установлен с июня по сентябрь со снижением ЭИ до 4,2–6,5 % и ИИ – $7,71 \pm 0,08$ – $4,86 \pm 0,02$ экз. яиц и в дальнейшем, с нарастанием значений исследуемых показателей с октября по декабрь до 10,4–17,8 % и $14,80 \pm 1,05$ – $9,30 \pm 0,22$ экз. яиц соответственно.

В возрастной группе поросят от 4 до 6 месяцев в зимний период года установлена максимальная напряженность эпизоотического процесса с ЭИ до 35,33 % и ИИ – $53,20 \pm 3,02$ экз. яиц *A. suum* в 1 г фекалий (Рисунок 3).

Снижение исследуемых показателей было установлено в апреле – мае, ЭИ – до 11,21–9,53 %, ИИ – $9,14 \pm 0,17$ – $11,40 \pm 1,03$ экз. яиц соответственно. Спад напряженности эпизоотического процесса наблюдался в летнее время с ЭИ – 4,73 % и ИИ – $6,12 \pm 0,10$ – $5,13 \pm 0,09$ экз. Тенденция к подъему исследуемых показателей была зарегистрирована с сентября. В осенний период ЭИ составляла 12,82 %, ИИ – $25,37 \pm 3,14$ экз. яиц.

В возрастной группе поросят от 6 до 8 месяцев высокий уровень напряженности эпизоотического процесса был установлен в январе – марте с ЭИ – 34,46–36,61 %, ИИ – $75,12 \pm 3,11$ – $70,32 \pm 2,18$ экз. яиц (Рисунок 4).

Снижение количественных показателей наблюдалось в весеннее время до ЭИ – 22,32–18,20 %, ИИ – $44,40 \pm 2,50$ экз. яиц с минимумом в летнее время ЭИ – 8,56–10,25 %, ИИ – $8,98 \pm 0,02$ – $9,10 \pm 0,04$ экз. яиц. Подъем напряженности эпи-

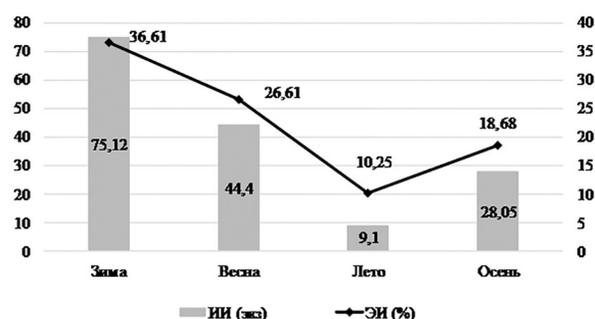


Рис. 4. Количественная характеристика инвазии у поросят от 6 до 8 мес.

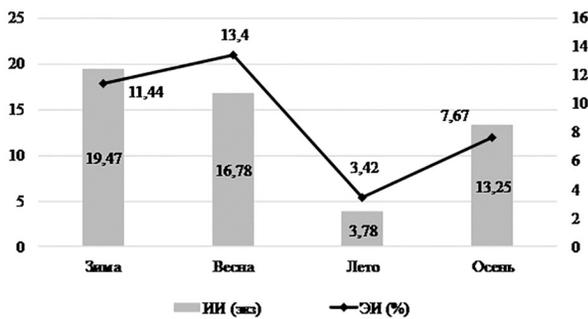


Рис. 5. Количественная характеристика инвазии у супоросных свиноматок

зоотического процесса был отмечен в осеннее время: ЭИ – 14,86–18,68 %, ИИ – 26,77±1,24 – 28,65±2,03 экз. яиц.

Мы установили, что супоросные свиноматки заражены аскариозом в 11,44 % при ИИ – 19,47±2,15 экз. яиц аскаридов в 1 г фекалий в зимний период года (Рисунок 5). В марте уровень экстенсивности и интенсивности инвазии оставался достаточно высоким – 13,40 % и 16,78±1,02 экз. яиц соответственно с дальнейшим снижением исследуемых показателей: ЭИ до 3,42 %, а ИИ до 3,78±0,01 экз. яиц к концу лета. С сентября наблюдался подъем напряженности эпизоотического процесса: ЭИ составила 3,48–7,67 %, ИИ – 2,78±0,08 – 13,25±2,14 экз.

В группе подсосных свиноматок, так же, как и у супоросных, максимальный подъем эпизоотического процесса приходился на январь–март, когда ЭИ находилась на уровне 5,69–7,09 %, а ИИ – 9,71±0,03 – 7,68±0,08 экз. яиц аскаридов в 1 г фекалий (Рисунок 6).

Снижение экстенсивности и интенсивности инвазии было установлено с апреля по август. ЭИ в этот период варьировалась в пределах 3,36–1,65 %, ИИ – 2,71±0,007 – 1,13±0,002 экз. Эпизоотический подъем заболеваемости был зарегистрирован в осенний период, когда ЭИ составила 2,44–3,32 % и 5,75±0,09 – 6,62±0,17 экз.

Заключение

Эпизоотический процесс при аскариозе свиней в условиях Воронежской области ха-

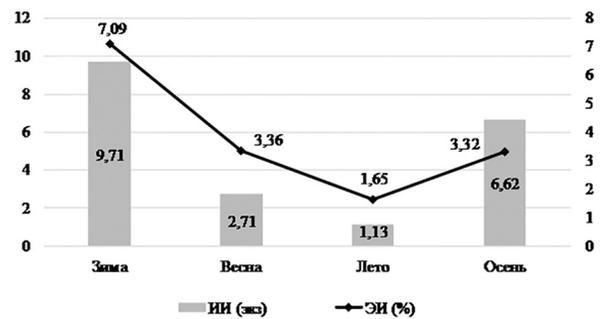


Рис. 6. Количественная характеристика инвазии у подсосных свиноматок

рактеризуется зимне-весенним подъемом заболеваемости во всех возрастных группах и снижением в летний период. Количественные характеристики заболеваемости (ЭИ и ИИ) самые высокие в группах животных от 4 до 6 и от 6 до 8 месяцев. ЭИ варьируется в пределах 35,3–36,61 %, ИИ – 53,20±3,02 – 75,1 2±3,11 экз. яиц аскаридов в 1 г фекалий в зимнее время. В весеннее время показатели составляли 11,22–26,61 % и 11,40±1,03 – 44,40±2,50 экз. яиц соответственно.

Список литературы

1. Беспалова Н. С. Практическое руководство по прижизненной диагностике паразитарных болезней домашних животных. / Н. С. Беспалова, И. Д. Шелякин, В. А. Степанов. Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, 2010. 217 с.
2. Иванюк В. П. Эпизоотология и биология аскариоза свиней. Меры борьбы с ним / В. П. Иванюк, Е. А. Кривопушкина, В. В. Черненко и др. // Свиноводство. 2022. № 2. С. 47–50.
3. Насибов Н. М. Зараженность свиней эзофагостомами и аскаридами в Азербайджане / Н. М. Насибов // Ветеринария. 2022. № 11. С. 39–42.
4. Никанорова А. М. Диагностические исследования и лечебные мероприятия при аскаридозе свиней в фермерском хозяйстве Ферзиковского района Калужской области / А. М. Никанорова, К. С. Калмыкова // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: сб. науч. статей по материалам международной науч. конф., М., 2019. Вып.20. С. 410–415.
5. Сафиуллин Р. Т. Эпизоотическая ситуация по паразитозам на свином комплексе / Р. Т. Сафиуллин, Д. Б. Полутков, Н. А. Гладышева // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: сб. науч. статей по материалам международной науч. конф., М., 2018. Вып. 19. С. 434–437.

Подписной индекс журнала
 «Актуальные вопросы ветеринарной биологии»:

Агентство «Роспечать» – **33184**

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-48-52

УДК: 916.616.995.1

Ключевые слова: паразитозы, водная птица, природно-климатические факторы, отбор проб, национальный парк «Лосиный остров»

Key words: parasitic diseases, water living birds, Losiny Ostrov National Park

^{1,2}Марюшина Т. О., ²Крюковская Г. М., ^{1,2}Давыдов Е. В., ²Ананьев Л. Ю.,

²Дианова П. О., ³Арсеньева Е. В.

К ВОПРОСУ БИОЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА КИШЕЧНЫХ ПАРАЗИТОЗОВ ВОДНЫХ ПТИЦ НА ПРИРОДНОЙ ТЕРРИТОРИИ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «ЛОСИНЫЙ ОСТРОВ»

ON THE ISSUE OF BIOECOLOGICAL MONITORING OF INTESTINAL PARASITOSIS OF AQUATIC BIRDS IN NATURAL AREA OF THE NATIONAL PARK "LOSINY OSTROV"

¹Ветеринарный центр «Росвет». Адрес: 109129, Россия, Москва, улица Текстильщиков, дом 7
Veterinary clinic "Rosvet". Address: 109129, Russia, Moscow, Tekstilshchikov Street, 7

²ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ. Адрес: 125080, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11
ROSBIOTEX University. Address: 11, Volokolamskoe highway, Moscow, 125080

³АО «Выставка достижений народного хозяйства»
Адрес: 129223, Москва, проспект Мира, домовладение 119, ВДНХ;
JSC "Exhibition of Achievements of the National Economy"
Address: 129223, Moscow, Prospekt Mira, domovladienie 119, VDNH

Марюшина Татьяна Олеговна, доцент, к. в. н. (ORSID: 0000-0002-5247-5804), mariushina@mail.ru
Maryushina Tatiana Olegovna, Associate Professor, PhD of Veterinary Sciences, mariushina@mail.ru

Крюковская Галина Михайловна, доцент, к. в. н. (ORSID: 0-0003-3478-0431), Doctor.galya@gmail.com
Kryukovskaya Galina Mikhailovna, Associate Professor, PhD of Veterinary Sciences, Veterinarian, Doctor.galya@gmail.com

Давыдов Евгений Владимирович, доцент, к. в. н., (ORCID: 0000-0002-0452-2880), dr.davydov@yandex.ru
Davydov Evgeny Vladimirovich, Associate Professor, PhD of Veterinary Sciences, dr.davydov@yandex.ru

Ананьев Лев Юрьевич, старший преподаватель, lev-anan@yandex.ru
Anan'yev Lev Yurievich, Senior Lecturer, lev-anan@yandex.ru

Дианова Полина Олеговна, студент-магистр, polya0009@mail.ru
Dianova Polina Olegovna, Master's Student, polya0009@mail.ru

Арсеньева Елизавета, научный сотрудник, El.arseneva@yandex.ru
Arseneva Yelizaveta, Researcher, El.arseneva@yandex.ru

Аннотация. Объективная оценка состояния окружающей среды на каждом отдельно взятом участке территории осуществляется при помощи экологического мониторинга. Одним из наиболее важных элементов данного мониторинга являются водные экосистемы со всеми флористическими и фаунистическими составляющими. В статье приведена оценка факторов, обуславливающих сохранность и развитие возбудителей паразитозов на объектах внешней среды, которые в свою очередь влияют на формирование очагов паразитарной инвазии водной птицы Национального парка «Лосиный остров». Представлены биоэкологические и природно-климатические факторы, оказывающие воздействие на интенсивность развития кишечных гельминтозов водных птиц, как элемента биологического загрязнения в высоко урбанизированных системах. Определены особенности обитания водных птиц (чайки озерной и кряквы), сезонные температурные колебания и продолжительность промерзания воды. Обозначены особенности проведения биоэкологического мониторинга паразитозов чаек и уток, гнездящихся в пределах водно-болотного комплекса парка «Лосиный остров». В том числе описана методика отбора проб биологического материала. Анализ полученных данных может быть учтен при изучении биоэкологической обстановки для возможности сохранения условий к существованию имеющихся здесь издревле биологических видов.

Summary. An objective assessment of the state of the environment in each individual area of the territory is carried out with the help of environmental monitoring. One of the most important elements of this monitoring is aquatic ecosystems with all floral and faunal components. The article provides an assessment of the factors that determine the preservation and development of parasitosis pathogens on environmental objects, which in turn affect the formation of foci of parasitic invasion of aquatic birds of the National Park "Losiny Ostrov". Bioecological and climatic factors affecting the intensity of the development of intestinal helminthiasis of aquatic birds as an element of biological pollution in highly urbanized systems are presented. The features of the habitat of aquatic birds (lake gulls and mallards), seasonal temperature fluctuations and the duration of freezing of water are determined. The features of bioecological monitoring of parasitosis of gulls and ducks nesting within the wetland complex of the park "Losiny Ostrov" are indicated. In particular, the method of sampling biological material is described. The analysis of the data obtained can be taken into account when studying the bioecological situation for the possibility of preserving the conditions for the existence of biological species that have been present here since ancient times.

*Охрана животных и растений,
по своей сути – охрана нас самих
Надо защищать их, ведь если
уйдут они, уйдем и мы.
Дж. Даррелл*

Введение

В настоящее время мировое сообщество не мыслит реализацию модели эффективного развития без приоритета ценности живой природы, поскольку она является важнейшим эколого-экономическим индикатором на региональном, национальном и глобальном уровнях. Под эгидой ЮНЕСКО с 1976 г. сформирована сеть биосферных заповедников, в задачу которых входит сохранение репрезентативных участков со всеми типами биомов в разных биогеографических провинциях мира и проведение научных исследований по программе фонового экологического мониторинга [2, 5, 7].

Объективная оценка состояния окружающей среды на каждом отдельно взятом участке территории позволяют принимать решения о проведении неотложных мероприятий, предупреждающих развитие экологической катастрофы. Для этих целей организуется система мониторинга состояния биомов. Одним из важных элементов экологического мониторинга являются водные экосистемы со всеми флористическими и фаунистическими составляющими. Наблюдение за такими объектами дает информацию об их устойчивости на фоне значительных естественных колебаний условий и усиливающегося антропогенного воздействия на отдельные компоненты системы. В первую очередь, важно оценить наиболее доступные структурные составляющие экосистемы, которые максимально будут отражать ее состояние. Важно учитывать и взаимное влияние экосистем, в частности, водоемов и окружающих их территорий [5, 8]. Связь между водоемами и наземными геопространствами осуществляется через различные группы организмов, в том числе птиц, кормящихся как на суше, так и на водоеме. Птицы являются обязательным элементом водной экосистемы и «индикатором» состояния окружающей среды. Паразитирующие в них организмы, также являются неотъемлемыми компонентами экосистем и определяют численность и физиологическое состояние организма хозяев.

Паразитарные инвазии могут иметь высокую интенсивность и экстенсивность и приводить к снижению жизнеспособности отдельных особей и популяции в целом. Поэтому изучение биоэко-

логических и природно-климатических факторов, потенциально влияющих на интенсивность паразитарной инвазии водной птицы, является актуальным.

В нашей работе мы выделили три основных фактора, оказывающих влияние на интенсивность паразитарной инвазии у водной птицы водно-болотного комплекса НП «Лосиный остров».

- Особенности обитания птиц в условиях повышенной антропогенной нагрузки.
- Гидрология Национального парка «Лосиный остров»
- Природно-климатические факторы.

Материалы и методы

Работа проводилась в весенне-осенний период 2021–2022 гг. на подмосковной территории НП «Лосиный остров»: на Верхнеуязском водно-болотном комплексе, озерах «Торфянка», Лёдовское, Среднее и Нижнее Оболдинские.

Выбор объектов был определен сведениями по учету пролетных водоплавающих и околоводных птиц, представленными научными сотрудниками НП «Лосиный остров» за последние три года [1, 7, 8, 9].

Особенности отбора проб фекалий диких водных птиц для проведения исследований

Пробы помета в некоторых странах, как например, США, также называют «пробами окружающей среды» (англ. environmental samples).

При сборе материала необходимо учитывать особенности фекальных масс (высокое содержание влаги и ее быстрое испарение с изменением биологической компоненты), поэтому сухие и рыхлые фекалии, оставленные птицами, не представляют ценности для диагностики. Пробы собирали с использованием набора ДИАПАР. При условии того, что отлов птиц для нас являлся невозможным, для сбора свежего помета мы работали следующую методику.

Следует отметить, что наблюдение и фиксация индивидуальности проб требует коллективной работы с использованием от 3 до 6 человек.

Пробы помета птиц собирали в местах отдыха, гнездовья и в районах кормления населением уток и чаек (биостанция, водно-болотный комплекс, пруды и озера, прилегающие к ООТ).



Рис. 1. Представитель семейства чайковые. Чайка озерная (*Larus ridibundus*)

С помощью оптики (бинокль Veber 10X 42 RFS 1000), при отборе feces от птиц нами проводилось наблюдение для определения видовой принадлежности и однородности стаи. Далее мы использовали быстрое приближение к группе птиц, что провоцировало их активно удаляться или улетать и, как правило, при этом испражняться. Вероятность более чем однократного отбора проб от одной и той же особи сводили к минимуму, ограничивая количество проб общей численностью птиц в стае. С этой же целью пробы помета собирали на всей территории, где наблюдалась моновидовая стая.

За весь период нами было исследовано 116 проб помета чаек и крякв. Количество идентифицированных проб от чаек составило 23, от уток 47, остальные 46 проб определялись как «слепые пробы».

Результаты и обсуждение

Особенности обитания птиц в условиях повышенной антропогенной нагрузки

Исходя из анализа орнитофауны в качестве «индикаторов» водных экосистем было решено избрать представителей семейства чаек – озерной чайки (*L. ridibundus*) и утиных – кряквы (*A. platyrhynchos*) (Рис. 1, 2). Данный выбор обусловлен их максимальным представительством среди орнитофауны, удобным доступом к местам гнездовья, большим ареалом обитания внутри парка и на прилегающих к нему территориях, а также достаточно спокойным отношением к близости человека. Несмотря на то что и кряквы, и чайки в своей природной нише считаются дикими птицами, в водных биотопах НП «Лосиный остров» за последние десятилетия они приобрели антропофилность, что является важным критерием синантропизации [4]. Синантропные тенденции этих видов птиц обусловлены доступностью кормовой базы за счет наличия большого количества мусорных площадок с пищевыми отходами, а также активным



Рис. 2. Представитель семейства утиных. Кряква (*Anas platyrhynchos*)

прикормом этих птиц населением, проживающим в прилегающих к водоемам жилых микрорайонах. В данной ситуации потребность жителей крупных мегаполисов в общении с живой природой является антропогенным фактором, меняющим поведенческие паттерны дикой птицы.

Озерная чайка (*Larus ridibundus*) на Яузских болотах гнездится регулярно и в большом количестве. По окончании гнездования ее общая численность может превышать 10–15 тыс. особей. Затем птицы мигрируют на другие водоемы, готовясь к отлету на места зимовок [1, 3, 7, 8].

Кряква (*Anas platyrhynchos*), как наиболее пластичный вид утиных, выбирая урбанизированные места обитания, в последние годы все чаще остается зимовать на городской и подмосковной территориях парка [6]. С каждым годом количество этих птиц постоянно растет. Кряква не боится морозов и при наличии стабильной кормовой базы теряет миграционный инстинкт.

Находясь на территории национального парка, чайки и кряквы служат источником биогенного и химического загрязнения воды и донного субстрата. Птицы могут отдыхать на земле, на полях или поблизости от водно-болотных угодий, на деревянных помостах (экологические тропы), а чайки также и на крышах или различных постройках. Помет с данных объектов попадает в водоемы, растворяясь в воде или откладываясь на дне. Такие субстанции могут попадать в пищевые цепи «Лосинового острова» и оказывать влияние на здоровье и благополучие его обитателей. Представленные риски необходимо регулярно оценивать посредством проведения гельминтологических исследований фекалий.

Гидрология Национального парка «Лосиный остров»

По официальным данным ФГБУ Национальный парк «Лосиный остров» дренируется

Таблица 1

Метеорологические характеристики территориальной зоны «Лосиног острова» (2017–2021 гг.)

Холодный сезон (149 дней)				Теплый сезон (216 дней)			
Средняя температура (°С)	Количество осадков (мм)	Влажность (%)	Абсолютный минимум температуры (°С)	Средняя температура (°С)	Количество осадков (мм)	Влажность (%)	Абсолютный максимум температуры (°С)
- 5,5	262	80,99	- 29,8	+ 17,08	454	65,11	+34,8

большим количеством рек и ручьев, многие из которых берут начало в его пределах и относятся в основном к бассейну реки Яузы. Питание реки в основном снеговое, однако, значительна также роль дождевого и грунтового питания (более 10 %). Такие условия способствуют лучшей устойчивости и формированию большого пласта паразитозов. Второй по величине рекой Национального парка является река Пехорка, которая вместе с Яузой формирует основной гидрологический узел парка. Естественных крупных озер на территории Национального парка нет. Водоемы представлены прудами, карьерами и мелководными озерами в пойме Яузы [8, 9].

В последние десятилетия в связи с чрезмерно активной хозяйственной деятельностью человека гидрогеологические условия НП существенно изменились. Наблюдается интенсивная застройка вдоль территории всех рек, на водосборе реки Яузы проводились торфоразработки, что привело к заболоченности бассейна, изменился режим сброса из Акуловского и Пироговского водохранилищ в Яузу [7, 8, 9]. Мелководье водоемов при непродолжительных и неустойчивых морозах не может устоять перед техногенным подогревом и не промерзает. Все вышеперечисленные факторы негативно отражаются на стабильности гидросистемы парка. Это проявляется в колебаниях уровня воды, снижении проточности в руслах и подтоплении береговых зон. Активная урбанизация селитебных территорий приводит к существенному антропогенному загрязнению водоемов «Лосиног острова».

Природно-климатические факторы, влияющие на интенсивность паразитарной инвазии

В данном аспекте следует рассматривать температурные факторы и промерзание воды.

Территория национального парка «Лосиный остров» расположена на северо-западном замыкании Мещерской низменной задровой равнины, в междуречье рек Москвы и Клязьмы, в северо-восточной части лесопарковой системы ближней агломерации г. Москвы.

Климат национального парка «Лосиный остров» носит специфические черты умеренно климатического характера Московской области. Метеорологические характеристики территориальной зоны «Лосиног острова» за 2017–2021 годы представлены в таблице 1.

Холодный сезон составляет в среднем 149 дней и приходится на период с 25 сентября по 14 мая. Однако под действием антропогенных факторов наметились трансформации климата. Устойчивых морозов, которые начинались с декабря и продолжались до конца марта, не наблюдалось, по меньшей мере, за последние 7 лет. В холодные годы нарастание глистной инвазии начинается с июня, достигая пика в августе, а в сентябре наблюдается ее снижение. В годы с очень жарким летом интенсивная инвазия сохраняется и в сентябре, снижаясь только к октябрю [5, 10]. По нашим наблюдениям можно отметить летние периоды 2021–2022 годов, которые были достаточно теплыми, что способствовало созданию благоприятной среды для развития паразитов за счет хорошего прогревания воды, где развиваются моллюски – промежуточные хозяева гельминтов птиц.

Заключение

Эколого-биологическое состояние водно-болотного комплекса НП «Лосиный остров» напрямую зависит от уровня антропогенной нагрузки. Это обусловлено расположенными вплотную прилегающими к территории парка автотрассами, жилищными комплексами и попаданием в него недостаточно очищенных сточных вод. Сохранности и развитию паразитозов на исследуемой территории благоприятствует не только температурный режим, но и особенности гидрографии. Данный анализ факторов необходимо учитывать при изучении биоэкологической обстановки для возможности сохранения условий к существованию имеющихся здесь издревле биологических видов.

Список литературы

1. Арсеньева Е. В. Флора и фауна «Лосинового острова». Водоплавающие и околоводные птицы: Атлас-определитель / Е. В. Арсеньева. М.: М-во природных ресурсов и экологии Рос. Федерации, Нац. парк «Лосиный остров». 2016. С. 96.
2. Данилов-Данильян В. И. Концепция устойчивого развития / В. И. Данилов-Данильян, Н. А. Пискулова // Большая российская энциклопедия. 2020. Т.15. С. 175.
3. Мануков Ю. И. Фауна водоплавающих птиц Верхнеяузского водно-болотного комплекса Национального парка «Лосиный остров» / Ю. И. Мануков, Е. В. Арсеньева // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 2017. №2. С. 6–13.
4. Резанов А. Г. О трофической синантропизации тихоокеанской чайки *Larus schistisagus* в Магадане и Оле / Резанов А. Г., Резанов А. А. // Русский орнитологический журнал. 2012. Т. 21. № 818. С. 2905–2921.
5. Смирнова И. Р. Эколого-биологический мониторинг внутренних водоемов Центрального региона России / И. Р. Смирнова, Р. А. Крюковский, Г. М. Крюковская, В. В. Зотов, Н. Ю. Сысоева, Г. Л. Верховская // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2015. №4 (16). С. 63–67.
6. Соловьев А. Н. Зимовки кряквы – *Anas platyrhynchos* (*Anatidae, Aves*) в естественных и антропогенных условиях востока русской равнины / А. Н. Соловьев // Поволжский экологический журнал. 2014. № 2. С. 271–283.
7. Солоха А. В. Весенне-летнее население водных птиц Мытищинских плавней / А. В. Солоха, Е. В. Арсеньева // Вестник охотоведения. 2021. Т.18. №4. С. 253–259.
8. Солоха А. В. Мониторинг водных птиц Мытищинских плавней в летне-осенний период / А. В. Солоха // Вестник охотоведения. 2021. Т. 18. № 1. С. 28–35.
9. ФГБУ «Национальный парк “Лосиный остров”» Научные труды национального парка «Лосиный остров». М.: М-во природных ресурсов и экологии Рос. Федерации, Нац. парк «Лосиный остров». 2014. № 3.
10. Шабунов А. А. Паразиты рыб, земноводных и чайковых птиц в экосистемах крупных водоемов Вологодской области / А. А. Шабунов, Н. М. Радченко. Монография, Вологда. 2012.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-52-59

УДК 619:616.995.132.6

Ключевые слова: трихинеллез, распространение, дикие и домашние животные, эпидемиология, эпизоотический процесс, природные очаги, Амурская область

Keywords: trichinosis, distribution, wild and domestic animals, epidemiology, epizootic process, natural foci, Amur Region

Трухина Т. И., Бондаренко Г. А., Соловьева И. А.

ЗАРАЖЕННОСТЬ ТРИХИНЕЛЛЕЗОМ СРЕДИ ДИКИХ И ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ В АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ *INFECTION WITH TRICHINOSIS AMONG WILD AND DOMESTIC ANIMALS IN THE AMUR REGION*

ФГБНУ «Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт».

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

Far East Zone Research Veterinary Institute.

Address: 675005, Russia, Amur Region, Blagoveshchensk, st. Severnaya, 112

Трухина Тамара Ивановна, к. с.-х. н., старший научный сотрудник, e-mail: toma.trukhina@mail.ru
Trukhina Tamara Ivanovna, PhD of Agricultural Sciences, Senior Researcher, e-mail: toma.trukhina@mail.ru

Бондаренко Галина Анатольевна, научный сотрудник, e-mail: galy78@yandex.ru

Bondarenko Galina Anatolyevna, Researcher, e-mail: galy78@yandex.ru

Соловьева Ирина Александровна, к. б. н., ведущий научный сотрудник, e-mail: Sia_storm@mail.ru

Solovyova Irina Alexandrovna, PhD of Biology Sciences, Leading Researcher, e-mail: Sia_storm@mail.ru

Аннотация. Трихинеллез широко распространен как среди людей, так и среди животных. Причиной заболевания трихинеллезом среди людей является употребление мяса, не подвергнутого должной термической обработке, а у животных – хищничество, каннибализм или некрофагия при поедании инвазированных трихинеллами туш животных. Определены особенности природных очагов трихинеллеза на территории Амурской области. К возбудителю трихинеллеза восприимчивы пять видов домашних животных и 19 диких животных. Экстенсивность инвазии у разных видов животных существенно отличается. Так, на территории Амурской области самая высокая экстенсивность инвазии зарегистрирована среди популяций енотовидных собак (45,3 %), лисиц обыкновенных (35,4%) и бурого медведя (30,3 %). Сформулирован ряд положений, отражающих особенности циркуляции возбудителя трихинеллеза среди восприимчивых животных в природных биоценозах Амурской области.

Summary. *Trichinosis is widespread among both humans and animals. The cause of trichinosis among humans is the consumption of meat that has not been properly cooked, and in animals it is predation, cannibalism or necrophagy when eating animal carcasses infested with trichinella. The features of natural foci of trichinosis in the territory of the Amur Region were determined. Five species of domestic animals and 19 wild animals are susceptible to the causative agent of*

trichinosis. Extensiveness of invasion in different animal species differs significantly. Thus, in the territory of the Amur Region, the highest prevalence of invasion was registered among the populations of raccoon dogs (45.3 %), common foxes (35.4 %) and brown bears (30.3 %). A number of provisions have been formed that reflect the features of the circulation of the trichinosis pathogen among susceptible animals in natural biocenoses of the Amur Region.

Введение

Трихинеллез является опасным и наиболее распространенным антропозоогельминтозом, представляя серьезную угрозу для человека и животных [6]. В последние годы в Российской Федерации отмечено повышение уровня заболеваемости населения и животных трихинеллезом. Амурская область не является исключением – на ее территории ежегодно регистрируют случаи заболевания среди населения [9]. Трихинеллез оценивается как природно-очаговая инвазия, что связано с употреблением населением мяса и мясопродуктов диких животных, добытых на охоте (бурых и белых медведей, кабанов), и экзотических блюд из мяса барсуков, собак, нутрий и др. [2]. В Воронежской области отмечен высокий уровень зараженности трихинеллами барсуков, что являлось источником заражения людей трихинеллезом [7]. По данным авторов А. М. Третьякова и др., установлена высокая зараженность трихинеллезом у лисицы обыкновенной (35%) [10]. По данным Ю. А. Виноградовой и др., за период наблюдения обследовано 1985731 туша свиней, 2036 туш кабанов, 55 туш барсуков, 76 туш медведей, а также 2732 туши других промысловых животных. Установлено, что основными резервуарами трихинеллезной инвазии явились медведи, барсуки и кабаны. Всего за период наблюдения обнаружено 17 положительных проб на трихинеллез, из которых 58,8 % принадлежали барсуку, 35,3 % – бурому медведю и лишь 5,9 % – кабану [4]. Основным противотрихинеллезным мероприятием является выявление и уничтожение возбудителя заболевания в мясе, предназначенном в пищу людям и в корм животным. Согласно инструкции охотники должны тушки убитых зверей обезвреживать. Однако, как показывают наблюдения, мясо, зараженное личинками трихинелл, используют для приманки или выбрасывают. Человек заражается при поедании мяса диких животных (кабан, барсук и др.) и домашних собак [1,2,3,5]. На территории Амурской области ежегодно регистрируются зараженные трихинеллезом дикие животные [9].

Цель: установить, среди каких видов животных циркулирует возбудитель трихинеллеза на территории Амурской области, и определить степень их зараженности.

Материалы и методы

Работа проведена на базе отдела паразитологии и зооэкологии Дальневосточного зонального научно-исследовательского ветеринарного института, в два этапа: статистическая обработка и экспериментальные исследования. Объектом исследования в статистической части работ – ежегодные отчеты ветеринарных и санитарных служб за период 2000–2014 гг., содержащие информацию относительно случаев выявления трихинеллеза у домашних и диких животных, а также среди населения Амурской области. Также ретроспективному анализу были подвергнуты результаты научных исследований, посвященных изучению проблемы трихинеллеза на Дальнем Востоке за период 1960–1999 гг. В экспериментальной части объектом исследования были дикие животные, отловленные в различных районах Амурской области. Материалом для исследования служила мышечная ткань добытых животных. Диагностику и выявление личинок трихинелл проводили согласно МУК 4.2.2747-10 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы мяса и мясной продукции» [8]. Оценка качественных и количественных показателей выполнена с использованием показателей экстенсивности (ЭИ, %) и интенсивности инвазии (ИИ). Статистическая обработка полученных данных произведена методами вариационной статистики с использованием стандартной компьютерной программы Microsoft Excel 2010.

Результаты

На первом этапе исследований установлено, что за 40 лет проведено 892523 лабораторных исследований на трихинеллез по 24 видам животных, из них 5 видов домашних и 19 видов диких животных. По результатам лабораторных исследований диагноз на трихинеллез подтвержден в 433 случаях, возбудитель трихинеллеза выявлен у 17 видов животных, из них 3 вида домашних и 14 видов диких животных (табл. 1).

Самая высокая экстенсивность инвазии на территории Амурской области зарегистрирована среди популяций енотовидных собак (45,3 %), лисиц обыкновенных (35,4 %), рыси (33,3 %) и бурого медведя (30,3 %).

Вторым этапом нашей работы была систематизация научных сведений, посвященных за-

Распространение трихинеллеза среди диких и домашних животных за период 1960–1999 гг. (обзор)

№	Вид животного	Исследовано	Выявлено зараженных	ЭИ, %
1	2	3	4	5
Амурская область				
1	Барсук	13	2	15,4
2	Бурундук	1	-	-
3	Волк	33	2	6,1
4	Енотовидная собака	296	134	45,3
5	Кабан дикий	54	1	1,8
6	Колонок	767	23	3,0
7	Кот амурский	1	1	100,0
8	Кошка	79	3	3,8
9	Крыса	6	-	-
10	Лисица обыкновенная	359	127	35,4
11	Лисица серебристо-черная	449	13	2,9
12	Лисица черно-бурая	133	-	-
13	Медведь бурый	175	53	30,3
14	Мышевидные грызуны	313	-	-
15	Мышь домовая	4	-	-
16	Норка	271	2	0,7
17	Песец	24	-	-
18	Росомаха	3	-	-
19	Рысь	9	3	33,3
20	Свинья домашняя	887785	9	0,001
21	Собака домашняя	444	22	5,0
22	Соболь	1295	34	2,6
23	Тигр	3	3	100,0
24	Хорек	6	1	16,7

болеваемости населения трихинеллезом в Амурской области. Анализ доступной нам научной информации с исследованиями, выполненными за период с 1960 по 1999 гг., показал, что случаи заболевания человека трихинеллезом на Дальнем Востоке регистрируются постоянно. В наших ретроспективных исследованиях мы не ставили цель установить количество зарегистрированных случаев. В Амурской области, по данным Н. М. Городовича и др. (1988) источником заражения людей в 20,1 % случаев является мясо барсуков, в 16,1 % – мясо бурых медведей, в 0,7 % – мясо рыси, в 6,6% – мясо диких кабанов, в 61,2% — мясо домашних собак [5]. Последний вид животных заражается, поедая мясо диких животных, добытое охотниками и оставленное без уничтожения после снятия шкур. В своих исследованиях М. Г. Василюк (1987) сообщает, что в 70,6 % случаев причиной заражения людей

является мясо бурого медведя, в 29,4% – мясо домашних собак [3]. По сведениям В. А. Фигурнова и др. (1981) в северных районах Амурской области фактором передачи трихинеллезной инвазии является мясо бурого медведя, съеденное в сыром или плохо термически обработанном виде [11].

На основании анализа данных ежегодной статистической отчетности УФС по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзора) было установлено, что за период 2000–2014 гг. в Амурской области зарегистрировано 104 случая заболевания человека трихинеллезом (табл. 2).

Наиболее неблагополучными районами Амурской области, где зарегистрировано наибольшее число случаев заболевания людей трихинеллезом, является Тындинский (29,8%).

Таблица 2

Регистрация случаев заболевания трихинеллезом людей в Амурской области за период 2000–2014 гг. (по данным Роспотребнадзора)

№	Район	Зарегистрировано случаев	
		Всего	%
1	2	3	4
Амурская область			
1	Архаринский	-	-
2	Белогорский	4	-
3	Благовещенский	24	23,1
4	Бурейский	20	19,2
5	Завитинский	2	-
6	Зейский	17	16,3
7	Ивановский	-	-
8	Константиновский	2	-
9	Магдагачинский	1	-
10	Мазановский	-	-
11	Михайловский	-	-
12	Октябрьский	-	-
13	Ромненский	3	-
14	Свободненский	-	-
15	Селемджинский	-	-
16	Серышевский	-	-
17	Сковородинский	-	-
18	Тамбовский	-	-
19	Тындинский	31	29,8
20	Шимановский	-	-
ИТОГО по Амурской области		104	

Таблица 3

Анализ факторов заражения людей трихинеллезом в Амурской области за период 2000–2014 гг.

Фактор заражения	Амурская область	
	всего	%
Дикий кабан	16	15,4
Медведь	33	31,7
Барсук	26	25,0
Собака домашняя	29	27,9
Свинья домашняя	-	-
Енот	-	-
Лось	-	-
Изюбрь	-	-
Рысь	-	-
Вакцина Бритова	-	-
Другая дичь	-	-
Всего	104	100

Таблица 4

Результаты исследований животных на трихинеллез по Амурской области за период 2000–2014 гг. (по данным ветеринарной отчетности)

№	Район	Вид животного	Исследовано	Заражено	ЭИ, %
1	Благовещенский	Свинья домашняя	75868	-	
		Барсук	2	1	50,0
		Кабан дикий	6	-	-
		Лисица обыкновенная	10	7	70,0
		Енот	1	-	-
		Медведь бурый	2	-	-
		Соболь	1	-	-

Таблица 5

Результаты исследований животных на трихинеллез по Амурской области за период 2000–2014 гг. (по данным ветеринарной отчетности)

№	Вид животного	Исследовано	Выявлено зараженных	ЭИ, %
1	Свинья домашняя	384532	-	-
2	Дикий кабан	35	5	14,3
3	Медведь бурый	19	2	10,5
4	Барсук	2	1	50,0
5	Енот	1	-	-
6	Соболь	21	-	-
7	Лисица обыкновенная	54	25	46,3
8	Волк	2	-	-

Таблица 6

Распределение случаев выявления трихинеллеза у животных по районам Амурской области в период 2000–2014 гг. (по данным вет. отчетности)

№	Район	Вид животного	Исследовано	Заражено	ЭИ, %
1	Свободненский	Кабан дикий	1	1	100,0
2	Белогорский	Лисица обыкновенная	5	4	80,0
3	Тамбовский	Лисица обыкновенная	5	4	80,0
4	Архаринский	Лисица обыкновенная	4	3	75,0
5	Константиновский	Лисица обыкновенная	4	3	75,0
6	Благовещенский	Лисица обыкновенная	10	7	70,0
		Барсук	2	1	50,0
7	Зейский	Медведь бурый	2	1	50,0
8	Ромненский	Лисица обыкновенная	4	2	50,0
9	Серьшевский	Кабан дикий	7	3	42,8
10	Тындинский	Медведь бурый	3	1	33,3
11	Ивановский	Лисица обыкновенная	7	2	28,6
12	Магдагачинский	Кабан дикий	8	1	12,5

Результаты собственных исследований животных на трихинеллез за период 2011–2015 гг.

Вид животного	Исследовано	Заражено	ЭИ, %
Амурская область			
Барсук	30	4	13,3
Ворона обыкновенная	1	-	-
Кабан дикий	17	-	-
Колонок	7	-	-
Крыса серая	1	-	-
Лисица обыкновенная	100	48	48,0
Медведь бурый	7	-	-
Мышь домовая	4	-	-
Мышь лабораторная	2	-	-
Норка обыкновенная	2	-	-
Рысь	1	-	-
Свинья домашняя	1	-	-
Собака домашняя	3	-	-
Соболь	50	-	-

За период 2000–2014 гг. было выявлено 11 факторов заражения людей трихинеллезом (табл. 3).

На основании анализа данных ежегодной ветеринарной отчетности по форме 5-вет Управления ветеринарии Амурской области было установлено, что за период 2000–2014 гг. экспертизе на трихинеллез было подвергнуто 8 видов животных (таблица 5, 6). Личинки трихинелл были обнаружены у 4 видов – дикого кабана (ЭИ=14,3 %), лисицы обыкновенной (ЭИ=46,3 %), барсука (ЭИ=50,0 %) и бурого медведя (ЭИ=10,5 %).

Установлено, что основным резервуаром и источником распространения трихинеллеза на территории Амурской области является лисица обыкновенная, так как среди популяций этого вида отмечена наибольшая экстенсивность инвазии (табл. 6).

За период 2011–2015 гг. нами было исследовано на трихинеллез 14 видов животных, отловленных на территории Амурской области (таблица 7). В ходе исследований личинки трихинелл были обнаружены только у 2 видов животных – у лисицы обыкновенной (ЭИ=48,0 %) и барсука (13,3 %), обитающих на территории Амурской области (табл. 8).

Результаты

Ретроспективный анализ научных исследований, выполненных за период 1960–1999 гг., показал, что на территории Амурской области восприимчивыми к возбудителю трихинеллеза являются 24 вида диких животных. Экстен-

сивность инвазии у разных видов животных существенно отличается. Так, на территории Амурской области самая высокая экстенсивность инвазии зарегистрирована среди популяций енотовидных собак (45,3 %), лисиц обыкновенных (35,4 %) и бурых медведей (30,3 %).

Установлено, что основными источниками заражения людей на территории Амурской области были мясо бурого медведя (16,1 %), домашних собак (61,2 %), барсука (20,1 %).

На основании анализа ветеринарной отчетности по форме 5-вет было установлено, что за период 2000–2014 гг. на территории Амурской области экспертизе на трихинеллез было подвергнуто 8 видов животных. Личинки трихинелл были обнаружены у 4 видов – дикого кабана (ЭИ=14,3 %), лисицы обыкновенной (ЭИ=46,3 %), барсука (ЭИ=50,0 %) и бурого медведя (ЭИ=10,5 %). Инвазированные животные были обнаружены в 13 из 20 районов области. Было установлено, что основным резервуаром и источником распространения трихинеллеза на территории Амурской области является лисица обыкновенная.

За период с 2011 по 2015 гг. нами было исследовано на трихинеллез 15 видов животных, отловленных на территории Амурской области. Личинки трихинелл были обнаружены только у 2 видов животных – у лисицы обыкновенной (ЭИ=48,0 %) и барсука (ЭИ=13,3 %), обитающих на территории Амурской области. Инвазированные

Выявление трихинеллеза животных по районам Амурской области за период 2011–2015 гг. (собственные исследования)

№	Район	Вид животного	Исследовано	Заражено	ЭИ, %
Амурская область					
1	Архаринский	Кабан дикий	2	-	-
		Лисица обыкновенная	6	4	66,7
2	Белогорский	Лисица обыкновенная	1	-	-
3	Благовещенский	Барсук	5	-	-
		Ворона	1	-	-
		Кабан дикий	4	-	-
		Крыса серая	1	-	-
		Лисица обыкновенная	17	10	58,8
		Мышь домовая	6	-	-
		Свинья домашняя	1	-	-
		Собака домашняя	3	-	-
4	Бурейский	Кабан дикий	8	-	-
		Лисица	1	-	-
		Медведь бурый	3	-	-
5	Завитинский	Лисица обыкновенная	6	2	33,3
6	Зейский	Лисица обыкновенная	9	7	-
		Медведь бурый	1	-	-
		Соболь	20	-	-
7	Ивановский	Барсук	16	2	-
		Лисица	19	11	57,8
8	Константиновский	Лисица обыкновенная	7	6	85,7
9	Магдагачинский	Барсук	1	-	-
		Колонок	6	-	-
		Соболь	4	-	-
10	Мазановский	Кабан дикий	2	-	-
11	Михайловский	Барсук	2	1	50,0
		Лисица обыкновенная	2	1	50,0
12	Октябрьский		-	-	-
13	Ромненский	Кабан дикий	1	-	-
		Лисица	5	1	20,0
14	Свободненский	Медведь бурый	1	-	-
		Рысь	1	-	-
15	Селемджинский	Медведь бурый	1	-	-
		Норка	2	-	-
		Соболь	20	-	-
16	Серышевский		-	-	-
17	Сковородинский	Лисица обыкновенная	6	4	66,7
18	Тамбовский	Барсук	6	4	66,7
		Лисица	6	1	16,7
19	Тындинский	Соболь	6	-	-
20	Шимановский	Колонок	1	-	-
		Лисица	1	-	-
		Медведь бурый	1	-	-

лисицы были обнаружены в 9 районах области, барсуки – в 2 районах. При этом экстенсивность инвазии лисиц в разных районах была неодинакова и колебалась в пределах от 85,7 % до 16,7 %.

Обсуждение

Анализируя литературные данные ряда исследователей (М. Г. Василинина, 1987, Н. М. Городовича, 1988) [3, 5] наибольшая инвазия трихинеллеза в Амурской области была зарегистрирована у бурых медведей (ЭИ=30,3 %), лисиц обыкновенных (ЭИ=35,4 %) и енотовидных собак (ЭИ=45,3 %). По данным Ю. А. Виноградовой и др., за период наблюдения обследованы 1985731 туша свиней, 2036 туш кабанов, 55 туш барсуков, 76 туш медведей, а также 2732 туши других промысловых животных. Установлено, что основными резервуарами трихинеллезной инвазии явились медведи, барсуки и кабаны. Всего за период наблюдения обнаружено 17 положительных проб на трихинеллез, из которых 58,8 % принадлежали барсуку, 35,3 % – бурому медведю и лишь 5,9 % – кабану [4]. Данные наших исследований подтверждают циркуляцию трихинеллеза у данных видов животных с изменениями в количественных соотношениях по ЭИ, и изменениями в видах животных. В отличие от предыдущих исследований выявлены зараженные трихинеллезом дикие животные, такие как дикий кабан (ЭИ=14,3 %), лисица обыкновенная (ЭИ=46,3 %) и барсук (ЭИ=50,0 %). Полученные данные подтверждают утверждения о постоянно циркулирующей трихинеллезной инвазии в природе.

Заключение

Таким образом, обобщая все полученные данные, мы сформулировали ряд положений, отражающих особенности циркуляции возбудителя трихинеллеза среди восприимчивых животных в природных биоценозах Амурской области:

1. На территории Амурской области восприимчивыми к возбудителю трихинеллеза являются 3 вида домашних животных и 24 вида диких животных.

2. Наибольшая экстенсивность инвазии зарегистрирована на территории Амурской области среди енотовидных собак (ЭИ=45,3 %), лисиц обыкновенных (ЭИ=35,4–48,0 %) и бурого медведя (ЭИ=30,3 %). Источниками заражения людей являются мясо бурого медведя (16,1–31,7 %),

домашних собак (27,9–61,2 %) и барсуков (20,1–25,0 %). Основным резервуаром возбудителя трихинеллеза являются популяции лисиц обыкновенных и барсука.

Список литературы

1. Бритов В. А. Трихинеллезная ситуация на Дальнем Востоке / В. А. Бритов // Ветеринарная нозогеография: матер. второй конф. по проблемам медич. географии юга Дальнего Востока. Владивосток, 1973. С. 134–136.
2. Бибик О. И. Клинический случай тяжелого течения трихинеллеза / О. И. Бибик, А. В. Краснова, А. С. Матюшечкин // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. М., 2015. №16. С. 43–45.
3. Василинин М. Г. Распространение трихинеллеза в регионе Дальнего Востока / М. Г. Василинин // Мероприятия по борьбе с трихинеллезом на Дальнем Востоке: метод. рекомен. Новосибирск: Сиб. отд-е ВАСХ-НИЛ. 1987. С. 6–11.
4. Виноградова Ю. А. Особенности трихинеллезной инвазии у животных в Тюменской области / Ю. А. Виноградова, Ю. В. Глазунов // АПК: Инновационные технологии. Зауралье, 2020. №4. С. 6–12.
5. Городович Н. М. Источники трихинеллеза на Дальнем Востоке / Н. М. Городович, С. А. Лештаев, В. Н. Татарченко // Материалы пятой Всесоюзной конф. по проблеме трихинеллеза человека и животных (14–16 сентября 1988 г., Новочеркасск). М. 1988. С. 63.
6. Dubinsky P. Human Trichinella outbreaks in Slovakia, 1980–2008. / P. Dubinsky, D. Antolova, K. Reiterova // Acta Parasitologica. 2016. 61(2). P. 205–211.
7. Масленникова О. В. Аляриоз и трихинеллез барсуков в Вятско-Камском междуречье / О. В. Масленникова, Е. И. Черезов, Л. Л. Караваев // Молодой ученый. Казань, 2017. №4(138) С. 222–225.
8. МУК 4.2.2747-10. Методы санитарно-паразитологической экспертизы мяса и мясной продукции: метод. Указания. <http://does.cntd.ru/document/1200084304> (дата обращения: 04.02.2022).
9. Соловьева И. А. Особенности формирования природных очагов трихинеллеза на территории Дальнего Востока / И. А. Соловьева, Г. А. Бондаренко, Т. И. Трухина, Д. А. Иванов // Дальневосточный аграрный вестник. Благовещенск. 2016. №4(40) С. 126–130.
10. Третьяков А. М. Профилактические и ветеринарно-организационные мероприятия по предупреждению инфекционных и инвазионных болезней охотничье-промысловых животных в охотничьих угодьях республики Бурятия / Третьяков А. М., Бурдуковский С. С., Третьякова Н. Ю. // Вестник БГСХА им. В. Р. Филиппова. Улан-Удэ. 2020. С. 280–286.
11. Фигурнов В. А. и др. Трихинеллез в районах центрального участка строительства Байкало-Амурской магистрали / В. А. Фигурнов, В. А. Бритов, М. Г. Василинин, В. Г. Соложенкин // Материалы докладов к всесоюзной конф. по проблеме трихинеллеза человека и животных (4–5 июня 1981 г.). Вильнюс, 1981. С. 70–72.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-60-63

УДК 578.2:578.831

Ключевые слова: диагностика, чума мелких жвачных животных, ОТ-ПЦР в реальном времени

Key words: diagnosis, peste des petits ruminants, real-time RT-PCR

Кожабергенов Н. С., Адилова Г. С., Шыныбекова Г. О., Абаева М. Р., Султанкулова К. Т.

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ОТ-ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ *DEVELOPMENT OF A TEST SYSTEM FOR THE DIAGNOSIS OF PESTE DES PETITS RUMINANTS VIRUS BY REAL-TIME RT-PCR*

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности МЗ РК

Адрес: 080409, Казахстан, Жамбылская область, пгт. Гвардейский

Scientific Research Institute for Biological Safety Problems of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan

Address: 080409, Kazakhstan, Zhambyl region, Gvardeysky

Кожабергенов Нурлан Сиязбекович, магистр естественных наук, старший научный сотрудник, nurlanks@gmail.com

Kozhabergenov Nurlan Siyazbekovich, Master of Natural Sciences, Senior Researcher, nurlanks@gmail.com

Адилова Гаухар Саткызы, магистрант, старший лаборант, adilova.gauhar@bk.ru

Adilova Gauhar Satkyzy, Master's Student, Senior Laboratory Assistant, adilova.gauhar@bk.ru

Шыныбекова Гаухар Орынбековна, магистр биологических наук, научный сотрудник, gaukhar_1988@bk.ru

Shynybekova Gauhar Orynbekovna, Master of Biological Sciences, Researcher, gaukhar_1988@bk.ru

Абаева Мадина Рахметуллакызы, магистрант, старший лаборант, madik_5897@mail.ru

Abayeva Madina Rakhmetullakzy, Master's Student, Senior Laboratory Assistant, madik_5897@mail.ru

Султанкулова Куляйсан Турлыбаевна, кандидат биологических наук, профессор, заведующий, sultankul70@mail.ru

Sultankulova Kulaysan Turlybaevna, PhD of Biological Sciences, Professor, Head, sultankul70@mail.ru

Аннотация. Вирус чумы мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) является одним из вредоносных заболеваний во многих странах. В связи с неблагоприятной обстановкой в приграничных странах по данному виду заболевания для своевременного реагирования требуется быстрая диагностика вируса. Для решения этой проблемы разработана тест-система на основе метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР РВ). Определены параметры специфичности и аналитической чувствительности с применением нуклеиновых кислот различных вирусов, бактерий, микоплазм. Результаты лабораторных испытаний показали, что тест-система работает специфично, а порог чувствительности составляет 5 копий молекул РНК вируса ЧМЖЖ.

Summary. Distemper of small ruminants (PPRV) is one of the harmful diseases in many countries. Due to the unfavorable situation in the border countries for this type of disease, a quick diagnosis of the virus is required for a timely response. To solve this problem, a test system based on real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was developed. The parameters of specificity and analytical sensitivity were determined using nucleic acids of various viruses, bacteria, mycoplasmas. The results of laboratory tests showed that the test system works in a specific way, and the sensitivity threshold is 5 copies of the PPR virus RNA molecules.

Введение

Чума мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) – острое вирусное заболевание мелких жвачных, характеризующееся повышением температуры тела, выделениями из носа и глаз, стоматитом, диареей и пневмонией. Вирус ЧМЖЖ передается в основном аэрозольно между животными, живущими в близком контакте [8]. Исходя из схожести с вирусами чумы КРС, чумы плотоядных и кори, вирус ЧМЖЖ был классифицирован как относящийся к роду *Morbillivirus* семейства *Paramyxoviridae* [5]. Вирусы этой группы имеют два неструктурных белка – С и V, и шесть структурных белков: нуклеокапсидный белок (N), который инкапсулирует геномную РНК вируса, фосфопротеин (Р), который ассоциируется с белком полимеразы (L для большого белка), матрич-

ный белок (М), белок слияния (F) и белок гемагглютинина (H) [10]. Штаммы и изоляты вируса ЧМЖЖ не подразделяются на серотипы, но по нуклеотидным последовательностям генов нуклеокапсидного белка и фосфопротеина сгруппированы в четыре генетические линии [6]. Установлено, что изоляты вируса ЧМЖЖ, относящиеся к I и II линиям, циркулируют в Западной Африке, к линии III – в Восточной Африке, Ближнем Востоке и на юге Индии, к линии IV – в Азии [4].

ЧМЖЖ наблюдается в большинстве африканских стран от севера Африки до Танзании, почти во всех странах Среднего Востока и Турции, а также широко распространена в странах Центральной и Юго-Восточной Азии [3]. В 2003 г. была вспышка ЧМЖЖ в южной части территории Казахстана [1].

Параметры пары праймеров и зонда

Наименование праймера и зонда	Последовательность 5' - 3'	Tm	GC%	Размер продукта, п.о.
PPRV_N1_F	CAC GTG ATG CAR AGG TCA A	57	50	96
PPRV_N1	FAM- TCA ACA AGR CGG ATR CTA ACA TC -BHQ1	63	48	
PPRV_N1_R	ATA CAG CGR ATC ACA GAT GAT	57	43	

В настоящее время метод ОТ-ПЦР широко применяется в диагностических лабораториях и имеет следующие преимущества: высокая специфичность и чувствительность, простота проведения исследования, экономия времени на проведение анализа [2].

Целью исследования является разработка эффективной ОТ-ПЦР РВ тест-системы для диагностики ЧМЖЖ, которая поможет быстро идентифицировать данное заболевание. Это позволит своевременно реагировать на угрозы распространения вируса и применять необходимые меры борьбы и профилактики.

Материалы и методы исследования

Подбор праймеров и зондов. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей вирусных геномов было выполнено с использованием программного обеспечения Mega версия 11 по алгоритму ClustalW. Проверку специфичности подобранных олигонуклеотидных праймеров и зондов проводили с помощью программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Праймеры подбирали таким образом, чтобы они были полностью комплементарны по отношению к сайту-мишени, температура плавления находилась в пределах 55–60 °С, содержание GC составляло 40–50 %.

Выделение ДНК и РНК вирусов. ДНК и РНК вирусов экстрагировали из вирусосодержащего материала в условиях лаборатории BSL-2 набором QIAamp Viral DNA Mini Kit (50) и QIAamp Viral RNA Mini Kits (50) фирмы Qiagen в соответствии с инструкцией производителя.

Синтез кДНК. Синтез кДНК проводили при 50 °С в течение 30 мин, денатурацию при 95 °С в течение 15 мин, амплифицировали кДНК 35 циклов при денатурации 94 °С – 15 с, отжига – 20 с, и элонгации 72 °С – 45 с. Финальную элонгацию проводили при 72 °С в течение 10 мин.

Постановка ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР РВ. ОТ-ПЦР проводили с использованием набора OneStep RT-PCR Kit фирмы Qiagen и градиентного термоциклера Mastercycler X50s фирмы Eppendorf. ОТ-ПЦР в режиме реального времени проводили на термоциклере Rotor-Gene Q, Qiagen. Результаты амплификации ПЦР выявляли с помощью метода гель-

электрофореза и гель документирующей системы BioRad. Результаты ПЦР и ОТ-ПЦР в реальном времени выявляли и анализировали в программном обеспечении Rotor-Gene Q версии 1.8.187.5.

Результаты и обсуждение

Научные работы зарубежных ученых показывают, что многие ОТ-ПЦР тест-системы для диагностики вируса ЧМЖЖ в основном определяют вирус по генам нуклеокапсидного белка (N) и фосфопротеина (P) [7]. Выравнивание нуклеотидных последовательностей N-белка вируса ЧМЖЖ определило, что положение нуклеотидов в диапазоне 433–1260 в гене представляет собой центральную высококонсервативную область [9]. Для дальнейших работ были выбраны последовательности олигонуклеотидов, показывающие 100 %-ную идентичность с возбудителем вируса ЧМЖЖ всех линий (см. Таблицу 1).

Исследования показали, что праймеры хорошо нарабатывают ампликоны при температуре отжига 50 – 58 °С.

В результате исследований определено, что специфические продукты нарабатываются при концентрациях праймеров 600 и 800 нМ.

При подборе оптимальных концентраций флуоресцентных зондов применялись концентрации – 50, 100, 150, 200, 250, 300 и 400 нМ. Результаты ОТ-ПЦР РВ анализа показали, что зонд хорошо работает при концентрациях 200 – 400 нМ (см. Рисунок 1).

Таким образом, в ходе проведения работ по оптимизации ОТ-ПЦР РВ смеси были определены концентрации компонентного состава, параметры которых соответствуют следующим значениям: 5 мкл – 5× Qiagen OneStep RT-PCR Buffer с конечной концентрацией MgCl₂ – 2,5 мМ, 1 мкл 10 мМ dNTP, по 1,5 мкл 10 μМ каждого праймера, 1 мкл 5 μМ специфического зонда, 1 мкл Qiagen OneStep RT-PCR Enzyme Mix, 1 мкл вирусного РНК, до 25 мкл доводим очищенной водой.

Определение специфичности ОТ-ПЦР РВ тест-системы. На данном этапе исследований разработанные праймеры и зонды для диагностики вируса ЧМЖЖ проверены по параметрам специфичности с применением РНК и ДНК следующих микро-

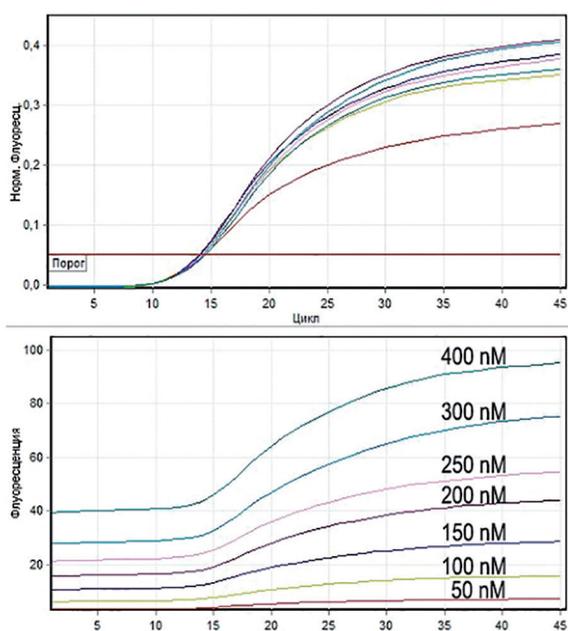


Рис. 1. Оптимизация концентраций флуоресцентных зондов

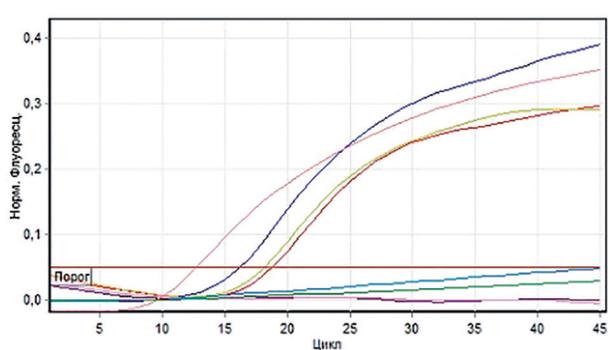


Рис. 2. Определение специфичности тест-системы

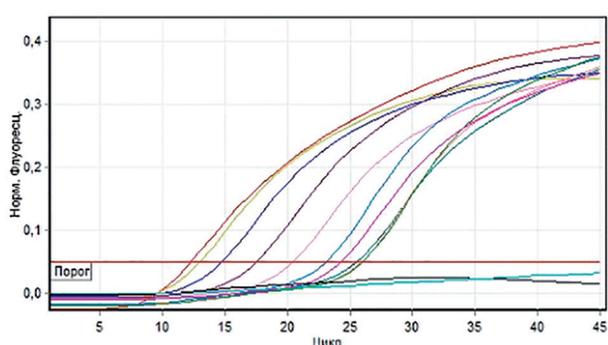


Рис. 3. Количественные данные флуоресценции при определении чувствительности ОТ-ПЦР РВ тест-системы с зондом PPRV_N1

организмов: вирус ЧМЖЖ (шт. «ВНИИЗЖ»), шт. «Нигерия 75/1», шт. «G45МК»), вирус оспы овец (шт. «НИСХИ»), контагиозная плевропневмония коз (*Mycoplasma mycoides* var. *Capri*) изолят «Mmc/Almaty», бактерия *Pasterella multocida* (шт. «Pastreurella/Saigas/2010/ZKO/KZ»). В качестве положительного контроля (ПК) ОТ-ПЦР РВ использована сконструированная плазмидная ДНК со вставкой фрагмента N гена вируса ЧМЖЖ. В качестве отрицательного контроля (ОК) использована очищенная вода. Программа с температурно-временными параметрами ОТ-ПЦР РВ показана в Таблице 2.

Значения цикла ниже значения (СТ <40) считались положительными. Результаты ОТ-ПЦР РВ показали, что разработанная тест-система работает специфично (Рисунок 2).

Определение аналитической чувствительности ОТ-ПЦР РВ тест-системы. При определении чувствительности тест-системы приготовлены серии из 10-ти кратных разведений плазмидной ДНК со вставкой фрагмента N гена вируса ЧМЖЖ с концентрациями от 2 нанogramм до 2 аттограмм в реакционной смеси. При расчете на калькуляторе нуклеиновых кислот можно определить, что 4 аттограмм плазмидной ДНК со вставкой содержит 1 копию молекулы РНК вируса ЧМЖЖ.

Результаты исследования показали, что чувствительность тест-системы для диагностики вируса ЧМЖЖ методом ОТ-ПЦР РВ составила 20 аттограмм в одной реакции, что соответствует 5 копиям молекул РНК вируса ЧМЖЖ (см. Рисунок 3). Этот показатель является приемлемым для использования тест-системы в диагностических целях.

Из полученных количественных данных анализа следует, что разработанная тест-система для диагностики ЧМЖЖ методом ОТ-ПЦР РВ работает специфично и высокочувствительно.

Заключение

В результате проведения лабораторных исследований разработанная тест-система для диагностики ЧМЖЖ на основе метода ОТ-ПЦР РВ проверена по параметрам специфичности и чувствительности с применением РНК и ДНК различных вирусов,

Таблица 2

Программа для ОТ-ПЦР РВ анализа

Шаг	Температура	Время	Количество циклов
1	50 °С	30 мин	1
2	95 °С	15 мин	45
	94 °С	15 сек	
	57 °С	20 с Детекция сигнала FAM	

Таблица к рис. 2

№	Название	Имя	Ct
1	шт. «ВНИИЗЖ»	Образец	18,79
2	шт. «Нигерия 75/1»	Образец	18,16
3	шт. «G 45 МК»	Образец	16,23
4	шт. «НИСХИ»	Образец	
5	шт. «Mmc/Almaty»	Образец	
6	шт. « <i>Pasteurella/Saigas/2010/ZKO/KZ</i> »	Образец	
7	ПК	Положительный контроль	12,69
8	ОК	Отрицательный. контроль	

Таблица к рис. 3

№.	Название	Тип	Ct	Калькуляция конц. (Копии)
1	20 нанограмм	Образец	12,24	4883663125
2	2 нанограмм	Образец	12,96	488366313
3	0,2 нанограмм	Образец	14,74	48836631
4	20 пикограмм	Образец	17,54	4883663
5	2 пикограмм	Образец	20,41	488366
6	0,2 пикограмм	Образец	23,03	48837
7	20 фемтограмм	Образец	24,24	4884
8	2 фемтограмм	Образец	25,52	488
9	0,2 фемтограмм	Образец	26,00	49
10	20 аттограмм	Образец	26,00	5
11	2 аттограмм	Образец		0
12		Отрицательный контроль		

бактерий и микоплазм, серийных разведений плазмидной ДНК, содержащий фрагмент N гена вируса ЧМЖЖ. Результаты исследований показали, что разработанная тест-система на основе ОТ-ПЦР РВ работает высокоспецифично, а порог чувствительности составляет 5 копий молекул РНК, что является хорошим показателем для диагностики вирусов.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы: «Биологическая безопасность Республики Казахстан: оценка угроз, научно-технические основы их предупреждения и ликвидации», ИРН OR11474297.

Список литературы

1. Мамадалиев С. М. Мониторинг особо опасных вирусных заболеваний животных и птиц на территории республик Центральной Азии / С. М. Мамадалиев, В. М. Матвеева, Ж. К. Кошметов, Б. М. Хайруллин, М. Б. Орынбаев, Н. Т. Сандыбаев, Ж. К. Кыдырбаев, В. Л. Зайцев, Е. С. Жилин, С. Ш. Нурабаев, М. И. Корягина // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2010. Vol. 2 (6).
2. Саммигуллина Н. С. Практикум по генетике: Учебное пособие / Н. С. Саммигуллина, И. Б. Кирина. Мичуринск: Издательство МичГАУ, 2008, 211 с.
3. Banyard A. C. Global distribution of peste des petits ruminants virus and prospects for improved diagnosis and control / A. C. Banyard, S. Parida, C. Batten, C. Ouga, O. Kwiatak, G. Libeau // J. Gen. Virol. 2010. Vol. 91. P. 2885–2897.

4. Dhar P. Recent epidemiology of peste des petits ruminants virus (PPRV) / P. Dhar, B. P. Sreenivasa, T. Barrett, M. Corteyn, R. P. Singh, S. K. Bandyopadhyay // Veterinary Microbiology. 2002. Vol. 88. P. 153–159 (doi: 10.1016/S0378-1135(02)00102-5).
5. Gibbs E. P. Classification of peste des petits ruminants virus as the fourth member of the genus Morbillivirus / E. P. Gibbs, W. P. Taylor, M. J. Lawman, J. Bryant // J. Intervirology. 1979. Vol. 11(5). P. 268–274 (doi: 10.1159/000149044).
6. Kwiatak O. Asian lineage of peste des petits ruminants virus, Africa / O. Kwiatak, Y. H. Ali, I. K. Saeed, A. I. Khalafalla, O. I. Mohamed, A. A. Obeida, M. B. Abdelrahman, H. M. Osman, K. M. Taha, Z. Abbas, M. E. Harrak, Y. Lhor, A. Diallo, R. Lancelot, E. Albina, G. Libeau // Emerging Infectious Diseases. 2011. Vol. 17. P. 1223–1231.
7. Kwiatak O. Quantitative one-step real-time RT-PCR for the fast detection of the four genotypes of PPRV / O. Kwiatak, D. Keitaa, P. Gil, J. Fernández-Pinerob, M. Angel Jimenez Claverob, E. Albinaa, G. Libeau // Journal of Virological Methods. 2010. Vol. 165. P. 168–177.
8. Lefèvre P. C. Peste des petits ruminants / P. C. Lefèvre, A. Diallo // Rev. Sci. Tech. 1990. Vol. 9(4) P. 935–81 (doi: 10.20506/rst.9.4.532).
9. Parida S. Rescue of a chimeric rinderpest virus with the nucleocapsid protein derived from peste-des-petits-ruminants virus: Use as a marker vaccine / S. Parida, M. Mahapatra, S. Kumar, S. C. Das, M. D. Baron, J. Anderson, T. Barrett // J. Gen. Virol. 2007. Vol. 88. P. 2019–2027.
10. Samal S. K. Paramyxoviruses of animals. / S. K. Samal // Encyclopedia of virology / B. W. J. Mahy, M. H. V. Van Regenmortel (eds.) San Diego, United States, Elsevier Science Publishing Co Inc., 2008. P. 40–47 (doi: 10.1016/B978-012374410-4.00460-X).

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-64-71

УДК: 619:616.62-003.7:615.847.8

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, магнитотерапия, уролиты, УМИ-05 В, собаки, кошки.

Key words: urolithiasis, magnetic therapy, uroliths, UMI-05 V, dogs, cats.

Чуваев И. В., Дарков П. Ю., Будник Ж. С., Березина О. Н.

**ИМПУЛЬСНАЯ МАГНИТОТЕРАПИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МОЧЕКАМЕННОЙ
БОЛЕЗНИ СОБАК И КОШЕК
(Клиническое исследование)
PULSED MAGNETOTHERAPY IN THE TREATMENT
OF UROLITHIASIS OF DOGS AND CATS
(Clinical trial)**

ООО «Институт Ветеринарной Биологии»
Адрес: 197198, Санкт-Петербург, Ораниембаумская ул., д. 3-Б
Institute of Veterinary Biology, Ltd.
Address: 197198, Saint-Petersburg, Oranienbaumskaia str., 3-B

Чуваев Игорь Валерьевич, к. б. н., главный ветеринарный врач клиники, e-mail: virclin@mail.ru
Chuvaev Igor Valeryevich, PhD in Biological Sciences, Chief Veterinary Officer, e-mail: virclin@mail.ru
Дарков Павел Юрьевич, главный ветеринарный врач клиники филиала «Ольминский»
Darkov Pavel Yuhievich, Chief Veterinary Officer of department «Olminskii»
Будник Жанна Сергеевна, старший ветеринарный врач
Budnik Zhanna Sergeevna, Senior Veterinarian
Березина Ольга Николаевна, ведущий ветеринарный врач
Berezina Olga Nikolaevna, Leader Veterinarian

Аннотация. Представлен клинический опыт применения низкочастотной импульсной магнитотерапии аппаратом УМИ-В-05 при уролитиазе у мелких домашних животных. Дан краткий анализ клинических особенностей развития мочекаменной болезни, а также половой, возрастной и породной предрасположенности к ней. Показана значимость метода УЗИ для определения плотности мочевых конкрементов. Проанализирована и описана ультразвуковая визуализация конкрементов высокой (оксалаты), средней (струвиты) и низкой плотности (ураты). Показана возможность ультразвуковой дифференциации данных групп уролитов. Метод магнитотерапии при лечении мочекаменной болезни у собак и кошек показал высокую эффективность, неинвазивность и безболезненность применения. Выявлена зависимость между эффективностью растворения мочевых конкрементов и их плотностью. Положительный эффект воздействия наблюдался в 65–70 % случаев.

Summary. The article describes the clinical experiment of using low-frequency pulsed magnetotherapy with the UMI-V-05 device for urolithiasis in small pets. A brief analysis is also provided of the clinical features of urolithiasis development, as well as animals' predisposition to it depending on sex, age and breed. The importance of the ultrasound method for determining the density of urinary concretions is shown. Ultrasound imaging of concretions of high (oxalates), medium (struvites) and low density (urates) is analyzed and described. The possibility of ultrasonic differentiation of these groups of uroliths is demonstrated. The magnetotherapy method in the treatment of urolithiasis in dogs and cats has shown high efficiency, noninvasiveness and painlessness of application. The dependence between the efficiency of dissolution of urinary concretions and their density has been revealed. The positive effect of exposure has been observed in 65–70% of cases.

Мочекаменная болезнь (МКБ) или уролитиаз – это полиэтиологическое хроническое заболевание, связанное с нарушением обменных процессов в организме и сопровождающееся появлением конкрементов (уралитов) в органах мочевыделительной системы. МКБ характеризуется образованием песка и мочевых камней в любом отделе мочевыделительной системы: почке, мочеточнике, мочевом пузыре или уретре [1]. Наиболее часто данная патология встречается у кошек, собак, а также у всех пушных зверей [7].

Говоря о мелких домашних животных, таких как кошки и собаки, следует отметить что уролитиаз в группе болезней мочевыделительной системы у кошек встречается в 54 % случаев, а у собак в 32 % [5]. По данным ряда авторов, у собак и кошек прослеживается половая, возрастная и породная предрасположенность к данному заболеванию. Так, коты болеют МКБ значительно чаще кошек, в то время как у собак картина противоположная. Манифестация болезни у сук достигает 68 % и 32 % у кобелей [1; 13; 5]. Исследования,

проведенные нами ранее, показали, что пик заболеваемости у кошек приходится на 2 и 4 года [4], у собак наиболее часто болезнь встречается в возрасте 5–10 лет [10]. Среди собак и кошек так же прослеживается и выраженная породная предрасположенность к уролитуазу. Лидерами по заболеваемости среди кошек являются: персы, сиамские кошки, мейн-куны, британцы [14].

Среди собак уролитуаз наиболее часто встречается у таких пород, как йоркширский терьер, английский кокер-спаниель, мопс, ши-тцу, той-терьер, далматин и некоторые другие. Необходимо также отметить, что обнаруженные у собак конкременты в 48 % случаев были кристаллами оксалата кальция, в 45 % – кристаллами струвитов и в 7 % случаев это были ураты [10].

По данным Димченко (2005) у кошек, больных уролитуазом, наиболее часто встречали трипельфосфаты или струвиты – 84,8 %, значительно реже диагностировали оксалаты – 9,9 % и ураты – 5,3 %. В группе собак с уролитуазом, так же как и у кошек, чаще регистрировали трипельфосфаты (54,6 %), тогда как ураты и кристаллы мочевой кислоты выявили в 36,4 % проб, оксалаты в 13,6 % [5].

Достаточно четко прослеживается и сезонная манифестация болезни в весенний и осенний периоды [3; 5].

В развитии уролитуаза можно выделить несколько этапов. Первый этап нередко проходит бессимптомно. В этот период происходит концентрация химических составляющих уратитов, формируются отдельные кристаллы, песок, а затем и микрокамни. Манифестация болезни начинается, когда песок и камни начинают продвигаться с током мочи. Второй этап характеризуется частыми позывами к мочеиспусканию, животное начинает проявлять беспокойство при деуринации. На третьем этапе симптоматика нарастает, возникают частые попытки мочеиспускания, моча отходит маленькими порциями, болезненно, развивается гематурия. На последнем этапе появляются симптомы острой задержки мочи и уремии, такие как рвота, анорексия, слабость, могут возникать судороги. Возможен летальный исход [1].

МКБ может достаточно долго протекать без видимых клинических признаков, начало заболевания владельцы зачастую пропускают и обращаются за помощью уже после начала манифестации заболевания. На втором и более поздних этапах диагностика, как правило, не вызывает затруднений и включает в себя ряд стандартных процедур: клинический осмотр, анализы крови (в первую очередь на почечные

показатели), клинический анализ мочи, УЗИ, рентген. Клинический анализ мочи с микроскопией осадка является весьма информативным методом исследования МКБ. Как было показано нами ранее (Чуваев И. В. и др. 1997), анализ мочи позволяет не только поставить/подтвердить диагноз МКБ даже на ранних стадиях, но и дает возможность оценить состояние почек, мочевого пузыря, определить тип кристаллов и соответственно определиться с тактикой лечения и диетотерапии [13].

Рентген также является важным методом исследования и позволяет во многом определить не только наличие камней, но и их точную локализацию, что важно для принятия решения о необходимости оперативного вмешательства.

Однако, не все камни можно выявить с помощью рентгена. Например, ураты не являются рентгеноконтрастными и, соответственно, визуализироваться на рентгеновском снимке не будут, но большая часть камней (оксалаты и струвиты) хорошо определяются с помощью рентгенологического исследования [10].

Особое место в диагностике МКБ занимает УЗИ. Метод позволяет визуализировать все типы камней, определить их размеры и локализацию.

Ультразвуковой метод дает возможность детально исследовать уроцистолиты и нефролиты размером более 2–3 мм. Однако для уретро- и уретеролитов этот метод диагностики менее удобен в связи с возможным наложением структур желудочно-кишечного тракта, таких как нисходящая ободочная кишка, что зачастую препятствует визуализации конкремента.

Конкремент представляет собой гиперэхогенную структуру с артефактом эхоакустической тени [2].

Известно, что мочевые камни могут быть представлены разными химическими соединениями. При этом можно выделить три основные группы конкрементов: оксалаты, фосфаты и ураты. Конечно же, есть целый ряд комбинированных, смешанных форм конкрементов, включающих в себя в том числе и слизисто-белковые компоненты [9].

Денситометрические исследования мочевых камней показали, что различные по химическому составу камни отличаются и по плотности. Так наиболее плотные камни – это камни оксалатной природы. Их плотность может превышать 1200 HU (единиц Хаунсфилда), камни-фосфаты оказались в среднем диапазоне плотности: 470–600 HU, конкременты уратного типа были наиболее рыхлыми и их денситометрическая плотность не превышала 400 HU [15].



Рис. 1, 1А. Конкременты высокой плотности. Визуализируется лишь часть камня, остальная часть скрыта высокой эхоакустической тенью

С другой стороны, известно, что чем плотнее конкремент, тем выше его отражающая способность для ультразвукового луча, т. е. камень высокой плотности отражает ультразвуковой луч уже от поверхностных слоев. Поэтому тень в этом случае будет начинаться высоко, скрывая за собой большую часть камня. Как показали наши исследования, выполненные ранее [2], камень в данном случае кажется «парящим» в полости мочевого пузыря. Такую УЗ-картинку дают конкременты, образованные кальциевыми соединениями, а именно – оксалаты кальция.

У конкрементов средней плотности, например, струвитов, за артефактом эхоакустической тени скрывается примерно половина объема конкремента (Рис. 2).

Камни низкой плотности, к которым относятся ураты, цистиновые, ксантиновые образования, некоторые камни смешанной природы визуализируются целиком, а тень будет располагаться под ними (Рис. 3).

Таким образом, особенности формирования ультразвукового изображения конкремента и связанных с ним артефактов позволяют не только обнаружить такие образования, определить их локализацию и величину, но и провести качественную оценку структуры конкремента, а учитывая его плотность и особенности ультразвуковой визуализации, с большой долей вероятности позволяют предположить и химический состав камня.

Говоря о лечении МКБ, следует отметить, что, несмотря на развитие ветеринарной фармакологии и выпуск широкого спектра препаратов для лечения и профилактики МКБ, значимых успехов в лечении МКБ так и не достигнуто [6].

Недостаточная эффективность консервативного лечения, а в отдельных случаях и непереносимость медикаментозного лечения, включая методы фитотерапии, нередко приводит к необходимости хирургического вмешательства, а при острой задержке мочи и невозможности восста-



Рис. 2, 2А. Конкременты средней плотности. Визуализируется только часть (40–60 %) камня. Конкремент как бы приподнят над поверхностью стенки мочевого пузыря



Рис. 3, 3А. Конкременты низкой плотности. Камни визуализируются целиком, определяется их контакт со стенкой мочевого пузыря, эхоакустическая тень начинается от нижней границы конкремента

новить проходимость уретры малоинвазивными методами, это является жизненной необходимостью. Однако, на наш взгляд, оперативное вмешательство не является патогенетическим и этиотропным методом лечения, поскольку снимает лишь острое состояние и не устраняет причину развития болезни.

Кроме того, восстановительный период после проведения такого рода операций занимает продолжительное время, а в дальнейшем нередко возникают осложнения в виде стенозов, зарастания стомы, что требует проведения повторной операции [1; 8].

Учитывая эти факторы, а также высокую степень страдания животных с уролитиазом и высокую смертность, которая достигает 30 % [11], поиск эффективных и неинвазивных методов лечения МКБ, остается актуальной задачей ветеринарной медицины.

Ранее нами был разработан и внедрен в ветеринарную практику метод импульсной низкоча-

стотной, высокоинтенсивной магнитотерапии, который успешно применялся при микролитиазе в мочевом пузыре кошек [13]. Высокая эффективность данного метода в дальнейшем была полностью подтверждена и другими авторами [12].

Последние 20 лет мы активно применяли импульсную магнитотерапию аппаратом УМИ-05 В, не только в случаях мочекаменной болезни с образованием песка, но и при уролитиазе у животных с мочевыми конкрементами различной химической природы и размерами от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров.

Прибор УМИ-В-05 – это генератор низкочастотного магнитного импульсного излучения. Прибор предназначен для зонального воздействия импульсным контрастным частотно-амплитудным электромагнитным излучением с заданной диаграммой направленности электромагнитного поля. Эффект процедуры обусловлен структурирующим воздействием магнитного поля на водную матрицу. Под действием магнит-

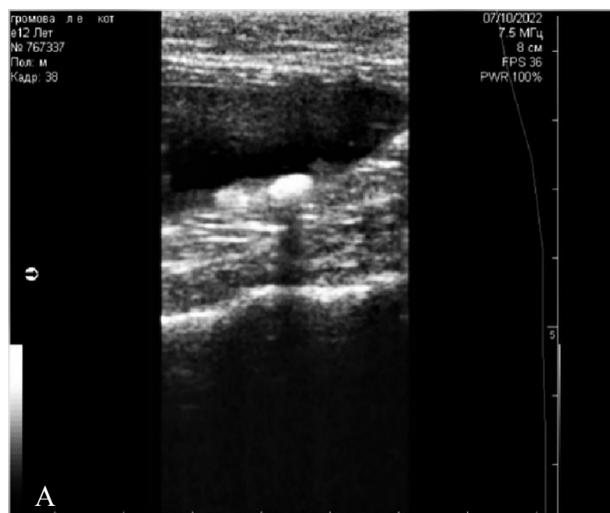


Рис. 4. Конкремент низкой плотности, локализованный в мочевом пузыре кота. А – до магнитотерапии, В – после курса магнитотерапии

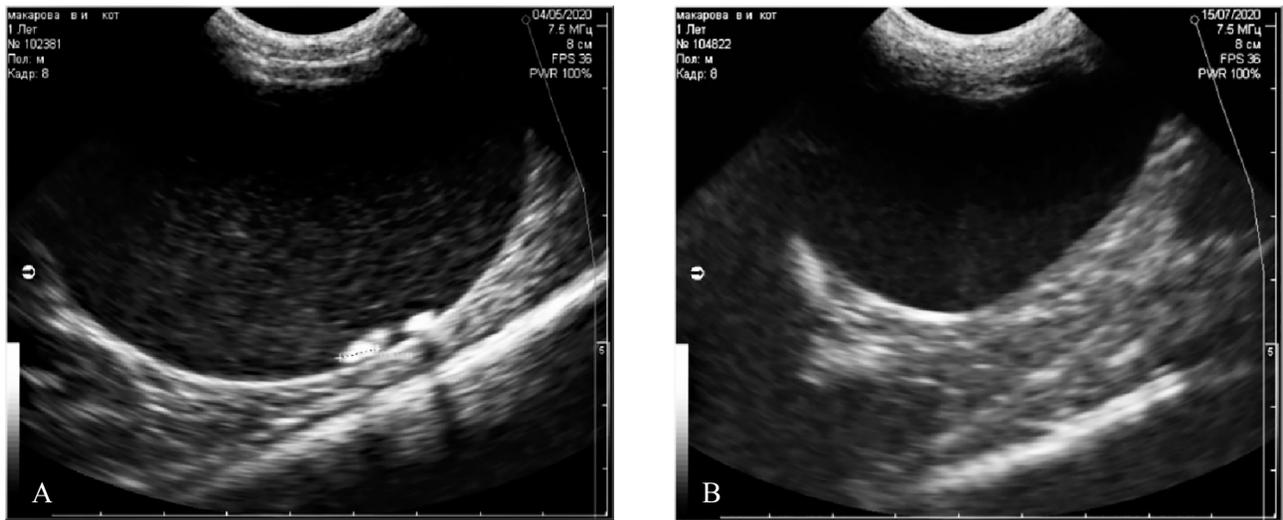


Рис. 5. Конкремент низкой плотности и большое количество песка в мочевом пузыре кота. А – до магнитотерапии, В – после курса магнитотерапии

ного импульса происходит ослабление взаимодействия дипольных молекул воды между собой с образованием мономеров H_2O , что влечет за собой и изменение ее физико-химических свойств. Мономеры H_2O обладают более высокой физической и химической активностью (магнитная модификация воды), что выражается в том числе и в повышении растворяющих свойств воды.

В связи с этим первичным объектом воздействия электромагнитного импульса выступает не сам камень, а биологические жидкости, присутствующие в тканях организма, а еще точнее – вода, входящая в состав этих жидкостей. Поэтому при проведении процедуры магнитотерапии мочевой пузырь должен быть обязательно наполнен.

Поскольку наблюдаемый эффект не имеет специфического характера, ведь первичным объектом воздействия поля является вода, а не конкремент, то химический состав самого конкремента имеет вторичное значение.

Следует отметить, что увеличение растворимости мочевых камней под действием низкочастотного импульсного магнитного поля – это не единственный положительный эффект процедуры. Присутствуют ярко выраженный местный спазмолитический, противоотечный и анальгетический эффекты, что позволяет применять магнитотерапию и в острой фазе заболевания, в том числе при уретральном синдроме.

В настоящем клиническом исследовании были задействованы собаки и кошки, различных пород и возрастов с подтвержденным уролитиазом. С помощью УЗИ оценивали наличие камней, их локализацию, размеры и плотность (высокая, средняя и низкая). В изучаемую группу ($n=230$) входили животные без острой задержки мочи, что позволяло использовать магнитотерапию в виде монотерапии по отношению к основному заболеванию – уролитиазу. Для чистоты клинического исследования применяемая сопутству-

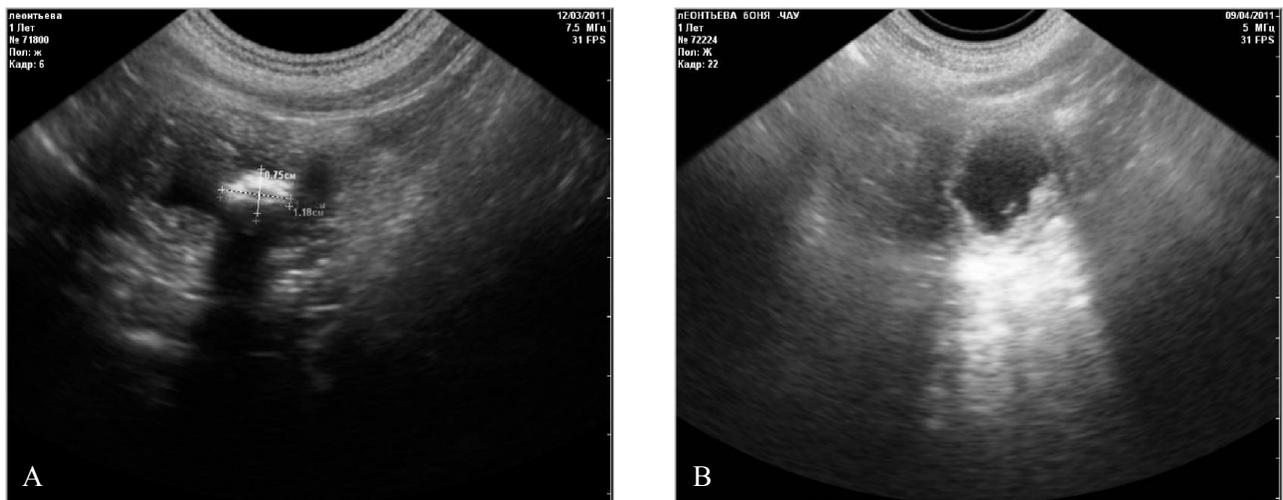


Рис. 6. Конкремент средней плотности, локализованный в мочевом пузыре собаки. А – до магнитотерапии, В – после курса магнитотерапии

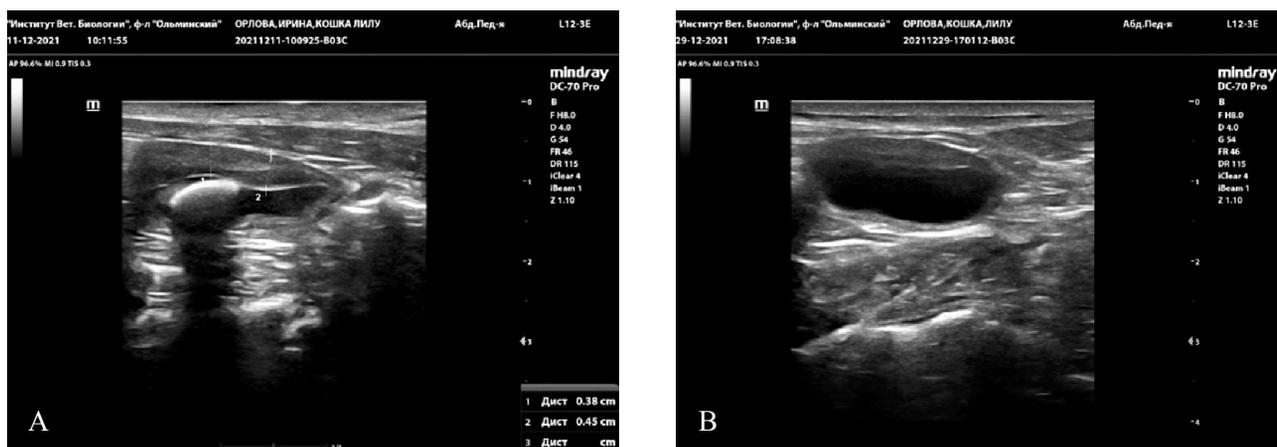


Рис. 7. Конкремент высокой плотности, локализованный в мочевом пузыре кошки. А – до магнитотерапии, В – после курса магнитотерапии



Рис. 8. Конкремент в уретре кролика, динамика продвижения камня. В результате терапии с применением низкочастотного электромагнитного излучения камень вышел из уретры без оперативного вмешательства



Рис. 9. Проведение сеанса импульсной магнитотерапии аппаратом УМИ-В-05. Процедура является неинвазивной, легко переносится, не доставляет животному неприятных ощущений. Длительность процедуры, в зависимости от количества зон обработки, составляет от 3 до 10 минут

ющая и симптоматическая фармакотерапия не включала в себя препараты, оказывающие непосредственное влияние на конкременты.

Курс магнитотерапии состоял из 10 ежедневных сеансов. Мощность излучения составляла 60–80%, количество импульсов – 50 на каждую зону воздействия. Обработке подвергали область проекции мочевого пузыря и уретры, в отдельных случаях – почки. При недостаточно выраженном эффекте курс магнитотерапии проводили повторно через 10–15 дней. Контроль качества лечения осуществляли с помощью УЗИ и/или рентгеновского исследования.

Как показали проведенные исследования, полного или частичного растворения мочевых конкрементов удавалось достичь в 65–70 % случаев. При этом чем ниже была плотность конкремента, тем быстрее происходило его растворение. Определенную сложность составляли камни высокой плотности (оксалаты и некоторые смешанные типы камней высокой плотности). Животным с такими камнями приходилось проводить 2–3 курса магнитотерапии, а в некоторых случаях вообще не удавалось достичь успеха, и камни удаляли хирургическими методами. Такие животные составляли 15–20 % от всех пролеченных. Выборочные результаты магнитотерапии представлены на рисунках 4–8.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что особенности формирования ультразвукового изображения конкремента и связанных с ним артефактов позволяют не только обнаружить такие образования, определить их локализацию и величину, но и провести качественную оценку их структуры и плотности, а также с большой долей вероятности предположить химический состав уrolита, что помогает сформировать оптимальную стратегию лечения, в частности выбрать подходящие режимы магнитотерапии.

Воздействие низкочастотным импульсным электромагнитным излучением, генерируемым аппаратом УМИ-В-05, является высокоэффективным, неинвазивным и безболезненным методом лечения уrolитиаза мелких домашних животных. Положительный эффект воздействия наблюдался в 65–70 % случаев применения магнитотерапии.

Магнитотерапия может быть применена как при профилактике, так и при метафилактике мочекаменной болезни, сопровождающейся образованием конкрементов разной плотности, величины и химической природы.

Кроме того, показана целесообразность применения импульсной магнитотерапии в

острых случаях МКБ в составе комплексной терапии.

Распространение физиотерапевтических методов, в частности низкочастотного импульсного электромагнитного излучения при помощи аппарата УМИ-В-05, в современной клинической практике может способствовать смещению акцента от открытых хирургических вмешательств в сторону минимально инвазивных методов, что повысит эффективность и экономичность лечения, снизит риски осложнений и рецидивов болезни.

Список литературы

1. Белкин Б. Л. Патогенетический подход к диагностике и лечению мочекаменной болезни кошек / Б. Л. Белкин, Н. А. Малахова, А. В. Масалова, А. А. Деркач // Вестник аграрной науки, №5(98), 2022, с. 13–17.
2. Бушарова Е. В. Информационная ценность артефакта эхоакустических теней при проведении УЗИ (часть первая). / Е. В. Бушарова, Ю. М. Долганов // Актуальные вопросы ветеринарной биологии, (3 (7)), 2010, с. 25–36.
3. Воронцова О. А. Ретроспективный анализ заболеваний мочевыделительной системы кошек в г. Пензе / О. А. Воронцова, Н. А. Пудовкин, В. В. Салаутин // Вестник КрасГАУ, №3, 2019, с. 109–115.
4. Головкина А. В. Анализ некоторых аспектов предрасположенности кошек к развитию мочекаменной болезни / А. В. Головкина // Ветеринарная Практика №2(13), 2001. С. 31–33.
5. Динченко О. И. Особенности уролитиаза собак и кошек в условиях мегаполиса (распространение, этиология, патогенез, диагностика и терапия): дисс. ... канд. ветеринар. наук / О. И. Динченко. М. 2005. 166 с.
6. Коба И. С. Анализ проявлений мочекаменной болезни у кошек / И. С. Коба, М. Н. Лифенцова, Е. Н. Новикова,

С. Г. Глушенко // Научный журнал КубГАУ, №135(1), 2018, с. 1–13.

7. Копейкин И. Г. Болезни пушных зверей: учебное пособие. / И. Г. Копейкин. Чита, 2002. 267 с.

8. Кузнецова А. В. Усовершенствование методики цистостомии у мелких домашних животных / А. В. Кузнецова, Д. А. Архипова, Ф. В. Шакирова // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана, 2018, №3, с. 22–25.

9. Полиенко А. К. Генезис уролитов / А. К. Полиенко, О. А. Севостьянова // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов, vol. 306, no. 4, 2003, с. 50–55.

10. Процкая А. С. Особенности ультразвуковых и рентгенологических признаков уролитиаза собак / А. С. Процкая, В. П. Дорофеева // Вестник Омского ГАУ № 1 (37), 2020, с. 110–115.

11. Самородова И. М. Диагностика и фармакокоррекция уролитиаза плотоядных животных: Учебное пособие. / И. М. Самородова. СПб.: Издательство «Лань», 2009, 320 с.

12. Селимжанов И. Р. Лечение и профилактика мочекаменной болезни у котят при помощи аппарата магнитотерапии УМИ-В-05 / И. Р. Селимжанов, Е. П. Черемисина // Современные тенденции развития науки и производства: Сб. материалов VII Международной научно-практической конференции, Кемерово, 05 декабря 2017, Том II. Сс. 261–263.

13. Чуваев И. В. Некоторые новые аспекты диагностики и лечения мочекаменной болезни / И. В. Чуваев, Н. Н. Косолава, Я. В. Голуб, С. В. Валеева // Ветеринарная практика. 1997. № 1. С. 25–32.

14. Толкачев В. А. Заболеваемость котят уролитиазом в г. Курске / В. А. Толкачев, С. М. Коломийцев, Н. В. Ванина, В. И. Анденко // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии, № 8, 2017, с. 19–22.

15. Шевырин А. А. Денсиметрическая плотность мочевых конкрементов как фактор прогноза эффективности из дезинтеграции при лечении уролитиаза / А. А. Шевырин, А. И. Стрельников // Урологические ведомости, Том 8, №4, 2018, с. 17–24.

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

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

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-72-76

УДК 619:615.9

Ключевые слова: кормовая добавка «Лозекорм», доклинические исследования, крысы, птица, продуктивность, сохранность, АЛТ, АСТ, РЗГА, ИФА

Key words: feed additive "Losekorm", preclinical studies, rats, poultry, productivity, safety, ALT, AST, HI test, ELISA

¹Онищук Ф. Д., ²Семененко М. П., ³Онищук А. А., ⁴Лагунина Н. А., ⁵Катарская Т. В.,
⁶Иванова А. Н.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ БЕЗВРЕДНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ЛОЗЕКОРМ» И ЕЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ В УСЛОВИЯХ ПТИЦЕВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ *EXPERIMENTAL STUDIES TO ASSESS THE SAFETY OF THE FEED ADDITIVE "LOSEKORM" AND ITS PRODUCTION TESTS IN THE CONDITIONS OF POULTRY FARMS*

¹ООО «Биостим». Адрес: 344064, г. Ростов-на-Дону, ул. Большевикская, 27
ООО "Biostim". Address: 344064, Rostov-on-Don, Bolshevistskaya str., 27

²ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»
Адрес: 350005, г. Краснодар, пос. Знаменский, ул. Первомайская, 4
*FSBSI «Krasnodar Scientific Center for Animal Husbandry and Veterinary Medicine»
Address: 350005, Krasnodar, Znamensky, Pervomaiskaya st., 4*

³ООО «ОЛФАРМ». Адрес: 117105, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 3А
OLPHARM LLC. Address: 117105, Moscow, Nagatinskaya st., 3A

⁴Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных
и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»). Адрес: 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5, стр. 1
*The All-Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed
(FGBU "VGNIKI") Address: 123022, Moscow, Zvenigorodskoe sh., 5, building 1*

⁵АО ППЗ «Хабаровский». Адрес: 680052, г. Хабаровск, Хабаровский край, Хабаровский район,
с. Гаровка-1, ул. Краснореченская, 25
*JSC PPZ "Khabarovskiy". Address: 680052, Khabarovsk, Khabarovsk region, Khabarovsk district,
Garovka-1, Krasnorechenskaya st., 25*

⁶Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных
и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»). Адрес: 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д.5, стр. 1
*The All-Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed
(FGBU "VGNIKI"). Address: 123022, Moscow, Zvenigorodskoe shosse, 5, building 1*

Онищук Филипп Давидович, доктор биологических наук, профессор, директор ООО «Биостим», e-mail: phildaw@rambler.ru
Onishchuk Philip Davidovich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of ООО "Biostim", e-mail: phildaw@rambler.ru

Семененко Марина Петровна, доктор ветеринарных наук, доцент,
заведующая отделом фармакологии, e-mail: sever291@mail.ru

*Semenenko Marina Petrovna, Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor,
Head of the Pharmacology Department, e-mail: sever291@mail.ru*

Онищук Анастасия Александровна, заместитель руководителя отдела фармакологических исследований,
старший фармаколог, e-mail: firefoxana8@gmail.com

*Onischuk Anastasia Aleksandrovna, Deputy Head of the Department of Pharmacological Researches,
Senior Pharmacologist, e-mail: firefoxana8@gmail.com*

Лагунина Наталья Александровна, кандидат ветеринарных наук, ст. науч. сотр.,
главный специалист отдела научного планирования и НИР, e-mail: nat-lagunina@yandex.ru

*Lagunina Natalya Alexandrovna, PhD in Veterinary Sciences, Senior Researcher,
Chief Specialist of the Department of Scientific Planning and Research, e-mail: nat-lagunina@yandex.ru*

Катарская Тина Витальевна, заместитель генерального директора, e-mail: katarskaya.tina@mail.ru
Katarskaya Tina Vitalievna, Deputy of General Director, e-mail: katarskaya.tina@mail.ru

Иванова Анна Николаевна, начальник отдела научного планирования и НИР, e-mail: a.ivanova@mail.ru
Ivanova Anna Nikolaevna, Head of the Scientific Planning and Research Department, e-mail: a.ivanova@mail.ru

Аннотация. Высокая заболеваемость и гибель сельскохозяйственных животных и птицы в значительной степени препятствует росту отечественного производства животноводческой продукции. Поэтому улучшение ветеринарного обслуживания животноводства и птицеводства, разработка более эффективных методов и средств профилактики широко распространенных заболеваний, в том числе и с помощью активных кормовых добавок, для повышения их продуктивности и сохранности, является актуальной задачей ветеринарной науки и практики. В работе представлены исследования по оценке безвредности новой комплексной кормовой добавки «Лозекорм» и ее профилактической эффективности в каче-

стве иммуномодулятора для создания стойкого напряженного специфического иммунитета к инфекционным заболеваниям птицы: Ньюкаслской болезни (НБ), инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ), инфекционного бронхита кур (ИБК). Установлено, что «Лозекорм» относится к группе веществ малоопасных (IV класс опасности), не оказывает отрицательного влияния на общее состояние животных, их клинический статус, показатели гомеостаза крови, что позволяет использовать данную кормовую добавку в птицеводстве без специальных режимов и ограничений.

Summary. *High morbidity and death of farm animals and poultry to a large extent hinders the growth of domestic livestock production. Therefore, improving the veterinary care of livestock and poultry, the development of more effective methods and means of preventing widespread diseases, including the help of active feed additives, to increase their productivity and safety, is an urgent task of veterinary science and practice. The paper presents studies on the assessment of the safety of the new complex feed additive "Losekorm" and its prophylactic efficiency as an immunomodulator to create persistent intense specific immunity to infectious diseases of poultry such as Newcastle disease (ND), infectious laryngotracheitis (IL), infectious chicken bronchitis (ICB). It has been determined that "Losekorm" belongs to the group of low-hazard substances (hazard class IV), does not adversely affect the general condition of animals, their clinical status, blood homeostasis, which allows to use this feed additive in poultry farming without special regimes and restrictions.*

Введение

Современное развитие сельскохозяйственного производства, и в первую очередь отрасли животноводства, требует использования достижений научно-технического прогресса, обуславливающего обеспечение продуктивного здоровья животных и птицы, в том числе с помощью создания и внедрения в практику новых фармакологических средств и кормовых добавок, проявляющих не только высокую эффективность при профилактике и терапии заболеваний, но и соответствующих всем критериям безопасности для живого организма.

Подобные критерии могут быть достигнуты в ходе детального доклинического изучения возможных токсических проявлений или нежелательных эффектов нового фармакологического средства, связанных с изменениями физиологического статуса организма на клеточном, органном или системном уровне.

При этом токсикологические исследования как раз и направлены на выявление возможных структурных и биохимических нарушений, возникающих в организме при кратковременном или длительном применении фармакологического средства, на изучение механизмов развития неблагоприятных эффектов, на оценку клинической патологии и отдаленных последствий для получения научными методами доказательств его эффективности и безопасности [1, 2].

В связи с вышеизложенным нами были проведены фармако-токсикологические исследования новой кормовой добавки «Лозекорм», представляющей собой комплексное соединение для стимулирования роста, развития, повышения продуктивности, сохранности, а также профилактики инфекционных заболеваний у сельскохозяйственной птицы [3, 4].

Материалы и методы

Опыты по оценке общетоксических свойств кормовой добавки «Лозекорм» были проведены в соответствии с требованиями к ла-

бораторным исследованиям по подбору аналогов, постановке контроля, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период проведения работы и учета результатов [6] на основании «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под общей редакцией проф. Р. У. Хабриева (2005), «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (часть первая) под редакцией А. Н. Миронова (2012) и ГОСТ 12.1.007–76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» на белых нелинейных крысах, содержащихся в условиях вивария.

В остром опыте токсикологическая оценка «Лозекорма» проводилась путем ее однократного введения непосредственно в полость желудка крыс с помощью атравматического зонда в максимальных для внутреннего введения дозах (5,0 мл). Животным контрольной группы в том же режиме дозирования вводился физиологический раствор. Грызуны по группам (опытная и контрольная, n=10) были распределены по принципу аналогов, при этом в качестве критерия принимались половая принадлежность и масса тела крыс, которая в среднем составила 215±6,0 г.

Параметры субхронической токсичности изучались по общепринятым методикам на трех группах белых лабораторных крыс, руководствуясь результатами, полученными при исследовании острой токсичности [5]. Кормовая добавка задавалась крысам посредством болюсов (в качестве основы использовалась овсяная мука), натошак один раз в день, курсом 28 дней с последующим 14-дневным периодом отмены. Животные контрольной группы получали болюсы только с овсяной мукой.

При ежедневных наблюдениях учитывалось общее состояние, аппетит, показатели дыхания, пульса, температуры тела, функции органов пищеварения и мочеотделения, динамика прироста массы тела. Взвешивание животных осуществлялось в начале опыта, через 14 дней и по его окон-

чанию. Кровь для исследований брали на 30-е сутки экспериментального периода.

В работе использовалось следующее оборудование: весы аналитические OHAUS PA114C, фирмы Ohaus Corporation, USA, $e=0,001g$; анализатор биохимический Vitalab Flexor Junior с версией программного обеспечения 1.0. (открытая система для проведения фотометрических тестов, изготовитель Vital Scientific N. V. Netherlands); весы лабораторные M-ER, Россия; реактивы фирмы ELITech Clinical Systems (Франция) и Analyticon biotechnologies AG (Германия).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения фирмы Microsoft®. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимается равным 0,05.

В качестве метода серологического контроля инфекционных заболеваний птицы использовалась реакция иммуноферментного анализа (ИФА) и реакция задержки гемагглютинации (РЗГА) для выявления болезни Ньюкасла.

Результаты исследований

«Лозекорм» – комплексная кормовая добавка, содержащая хвойный экстракт, янтарную кислоту, ПЭГ-9 и воду, в которой присутствуют природные флавоноиды, микроэлементы, биоорганические соединения, обладающие иммуномодулирующими свойствами, активирующие клеточный метаболизм, что способствует активному росту и развитию птицы, а также увеличению продуктивности и сохранности поголовья.

Производителем кормовой добавки «Лозекорм» по решению Россельхознадзора МСХ РФ № ПВР-2-42.20/03595 от 27.11.2020 является ООО «Биостим».

Результатами исследований острой токсичности установлено, что за весь период наблюдения (14 дней) гибели животных в опытной группе зарегистрировано не было, различий в поведении и состоянии подопытных и контрольных крыс не установлено. В первые сутки экспериментального периода отмечалось снижение потребле-

ния корма, которое имело место и в контрольной группе животных, и было связано, по всей видимости, не с токсическим действием кормовой добавки, а со стрессирующим эффектом процедуры внутрижелудочного введения больших объемов растворов.

При оценке внешних идентификаторов интоксикации – рефлекс, координация движений, физиологические параметры сердечного и дыхательного ритмов оставались без изменений. По шкале изменения активности крыс подопытные животные соответствовали значению «нормальное» (5/+++++).

Таким образом, данные токсикометрии, а также наблюдения за лабораторными крысами в постинтоксикационном периоде острого опыта, по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества», позволили отнести кормовую добавку «Лозекорм» к 4-му классу опасности (вещества малоопасные), для которых диапазон доз LD_{50} при внутрижелудочном введении в опытах на крысах составил более 5000 мг/кг.

Принимая во внимание невозможность определения летальных доз кормовой добавки (в остром опыте среднесмертельная доза (LD_{50}) установлена не была), отправным моментом для выбора дозировок при проведении субхронической токсичности явился максимальный объем, использованный при однократном введении (5,0 мл).

Эксперименты по определению субхронической токсичности кормовой добавки проводились на белых нелинейных половозрелых крысах со средней массой тела $175,8 \pm 1,47$ г по следующей схеме (таблица 1).

В результате проведенных исследований установлено, что 28-дневное пероральное применение лабораторным крысам образцов кормовой добавки «Лозекорм» в изучаемых дозах не вызывает гибели животных – показатель сохранности по группам был 100 %.

У опытных животных в сравнении с интактной группой не выявлено изменений и достоверных различий в показателях ритма дыхания, частоты сердечных сокращений и температуры

Таблица 1

Схема опыта при определении субхронической токсичности кормовой добавки «Лозекорм» на лабораторных крысах (n=10)

Группы	Доза кормовой добавки
1 опытная	1/5 – 1,0 мл/животное
2 опытная	1/10 – 0,5 мл/животное
3 опытная	1/20 – 0,25 мл/животное
4 контрольная	0,9 %-ный раствор натрия хлорида в эквиваленте 1 группы и в том же режиме дозирования

тела, которые не выходили за границы видововозрастной нормы для взрослых здоровых крыс. Отклонений в функциях пищеварения и мочеотделения отмечено не было.

Применение кормовой добавки «Лозекорм» оказало положительное влияние на динамику прироста массы тела, так как животные всех опытных групп набирали массу с большей скоростью, чем здоровые крысы контрольной группы. Наиболее высокий показатель был установлен в первой опытной группе (17 %). В двух других опытных группах он составил 16,1 % (вторая) и 14 % (третья), а в контроле – 9,2 %.

Оценка комплекса биохимических показателей крови крыс выявила увеличение содержания глюкозы в первой и второй опытных группах – на 5,9 % и 9,9 %, что позволяет говорить о стимулирующем влиянии компонентов добавки (янтарная кислота) на углеводный обмен.

Под влиянием «Лозекорма» выявлено снижение уровня гепатоиндикаторных ферментов – АлАТ и АсАТ, которое отмечено во всех опытных группах, в сравнении с контролем – на 7,3 % и 3,4 % и 13,4 % ($p \leq 0,05$).

Влияние кормовой добавки на липидный обмен опытных крыс проявилось в достоверном увеличении содержания триглицеридов на 53,2 % (1 группа) и 27,7 % (2 и 3 группа) относительно контроля.

Таким образом, длительное скармливание кормовой добавки «Лозекорм» лабораторным животным в субтоксических дозах не оказывает негативного действия на их организм, способствует приросту массы тела, а также положительно влияет на динамику биохимических показателей крови.

Эффективность кормовой добавки «Лозекорм» изучалась в различных птицеводческих хозяйствах Российской Федерации: ООО «Чебаркульская птица» Челябинской области, АО ППЗ «Хабаровский» Хабаровского края, птицефабрика «Уссурийская» Приморского края, птицефабрика ООО «Дуэт» и птицефабрика ИП «Братусин С.С.» Краснодарского края.

«Лозекорм» применялся на молодняке птицы как иммуномодулятор для создания стойкого напряженного специфического иммунитета к инфекционным заболеваниям: Ньюкаслской болезни (НБ), инфекционному ларинготрахеиту (ИЛТ), инфекционному бронхиту кур (ИБК); на взрослом стаде – профилактика ослабленной и отстающей в развитии птицы с признаками респираторных инфекций: (ИЛТ, респираторный микоплазмоз, ИБК), а также кишечных инфекций (колибактериоз).

Обработка проводилась двумя методами — энтеральным и аэрозольным. Аэрозольные обработки проводились с помощью системы АПА-6Г или аппаратами САГ в дозе 0,5–1,0 л/1000 м³ на протяжении 20–25 минут до образования в птичнике густого аэрозольного тумана с экспозицией 25–30 минут.

Проводимый курс составлял 3 ежедневных обработки до появления признаков оздоровления птицы. При необходимости через 3–5 дней перерыва курс повторялся.

Установлено, что после аэрозольных обработок «Лозекормом» в конце курса признаки заболевания исчезали, птица начинала активно принимать корм, набирала вес, снижался падеж, повышалась яйценоскость и улучшалось качество скорлупы яиц.

Продуктивность яйценоскости птицы промышленного стада увеличилась с 94,6 до 97,4 %. Процент нестандартного яйца (бой, грязь, насечка, деформированное яйцо) снизился с 8,8 до 3,6–3,8 %. Процент сохранности молодняка увеличился с 96,0 до 99,8 %, промышленного стада (птица до 90 недель) – с 80,4 до 94,4 %.

Энтеральный способ применялся при появлении респираторных и кишечных признаков заболевания. Для этого птица пропаивалась «Лозекормом» в разведении с водой в дозе 0,1–0,2 мг/кг живой массы утром в течение 4–6 часов на протяжении 3–4 суток.

Установлено, что за это время среднесуточный привес птицы увеличился с 40,1 г в контроле до 70,08 г в опытной группе, при этом процент сохранности птицы увеличился с 96 % в контроле до 99,8 % в опытной группе (птицефабрика ООО «Дуэт»).

После курса применения «Лозекорма» исчезли клинические проявления болезни: слабость, беспокойство, ринит, конъюнктивит, слезотечение, чихание, носовые выделения, наличие слизи в ротовой полости. При патологоанатомическом вскрытии птицы признаки заболевания не выявлены, нормализовалось состояние слизистых оболочек дыхательного и пищеварительного тракта.

На основании серологического мониторинга сыворотки крови после проведения курсов обработки поголовья птицы (промышленного стада и молодняка) «Лозекормом» в РЗГА и ИФА (АО ППЗ «Хабаровский» Хабаровского края) наблюдалась положительная динамика напряженности поствакцинального иммунитета (таблица 2).

В результате проведенных испытаний добавка была включена в схему профилактических меро-

Сравнительные показатели серологических исследований крови птицы

Птица с признаками заболевания	Метод исследования	До применения Лозеорма (август 2022 г.)	После применения Лозеорма (июнь 2023 г.)
Болезнь Ньюкасла	РЗГА	80–85 % log 4–6 ЕИД 50	100 % log 10–11 ЕИД 50
Инфекционный бронхит	ИФА	CV — 10–11%	CV — 35–40%

приятий с целью повышения продуктивности и сохранности поголовья птицы.

Обсуждение результатов

Проведенные исследования по оценке безвредности кормовой добавки «Лозеорм» и ее производственные испытания в условиях птицеводческих хозяйств в различных регионах страны показали ее безвредность и высокую эффективность.

Были предложены два метода применения «Лозеорма» на птице – энтеральный и аэрозольный. Установлено, что оба метода обработки птицы способствуют ее продуктивности и улучшению товарного качества яйца, что связано с входящими в ее состав хвойным экстрактом и янтарной кислотой. Янтарная кислота является регулятором тканевого обмена, стимулирует клеточное дыхание, выполняет универсальную функцию синтеза энергии на клеточном уровне, тогда как хвойный экстракт положительно влияет на продолжительность жизни и состояние здоровья птицы, улучшает обмен веществ, а также обладает выраженными иммуномодуляторными свойствами, активируя стойкий специфический иммунитет к инфекционным заболеваниям, о чем свидетельствуют РЗГА и ИФА, проведенные до начала приема «Лозеорма» и в конце его применения.

Выводы

1. Кормовая добавка «Лозеорм» относится к группе веществ малоопасных (IV класс опасности). Ее однократное применение в максимальной дозе, а также длительное применение в субтоксических дозах не оказывает отрицательного влияния на общее состояние лабораторных животных, их клинический статус, показатели

гомеостаза крови, что позволяет использовать данную кормовую добавку в птицеводстве без специальных режимов и ограничений.

2. Кормовая добавка «Лозеорм» активно влияет на продуктивность и сохранность взрослой птицы и молодняка.

3. В ходе проведения испытаний доказана ее высокая эффективность при применении на птице в производственных условиях – увеличение продуктивности (рост, развитие, яйценоскость) и сохранности поголовья птицы при энтеральном способе применения и аэрозольных обработках. Побочных действий на организм птицы после применения добавки не выявлено. «Лозеорм» совместим с другими препаратами и антибиотиками, усиливая их действие.

Список литературы

1. Березовская И. В. Методические рекомендации по изучению безопасности воспроизводства лекарственных препаратов / И. В. Березовская, Т. А. Гуськова, А. Д. Дурнев // Биомедицина. 2011. № 3. С. 78–80.
2. Ланец О. В. Определение параметров токсичности нового препарата при длительном воздействии на организм крыс / О. В. Ланец, М. П. Семенов, Е. Н. Рудь // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. 2020. Т. 9. № 1. С. 362–365.
3. Онищук Ф. Д. Способ повышения иммунитета пчел. Патент РФ №2018131649. – 2018.
4. Семенов М. П. «Лозеорм» – новая безвредная кормовая добавка для пчел / М. П. Семенов, Ф. Д. Онищук, Е. В. Кузьмина // Пчеловодство. 2021. № 3. С. 8–10.
5. Jacobs A. C. History of Chronic Toxicity and Animal Carcinogenicity Studies for Pharmaceuticals. / A. C. Jacobs, K. P. Hatfield // Veterinary Pathology. 2013. 50(2).
6. Yousefi N. New Product Development in the Pharmaceutical Industry: Evidence from a generic market. / N. Yousefi, G. Mehralian, H. R. Rasekh, M. Yousefi // Iran J Pharm Res. 2017. 16(2).

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

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-77-83

УДК 616.995.4/.7:636.2(048.8)

Ключевые слова: арахноэнтомозы, крупный рогатый скот, лечение

Key words: arachnoentomoses, cattle, worldwide distribution, treatment

Шафиев А. П., Токарев А. Н.

МЕРЫ БОРЬБЫ С АРАХНОЭНТОМОЗАМИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

(обзор литературы)

ANALYSIS OF THE LITERATURE REVIEW ON MEASURES TO COMBAT

ARACHNOENTOMOSES OF CATTLE

(literature review)

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, старший преподаватель кафедры патологической физиологии, e-mail a.shafiev@spbguvm.ru

Aleksei Shafiev, PhD of Veterinary Sciences, senior lecturer of the Department of Pathological Physiology, e-mail a.shafiev@spbguvm.ru

Токарев Антон Николаевич, доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой ветеринарно-санитарной экспертизы, e-mail tokarev.an@yahoo.com

Anton Tokarev, Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Veterinary and Sanitary Expertise, e-mail tokarev.an@yahoo.com

Аннотация. Целью нашего исследования было изучить современные российские и зарубежные источники литературы по мерам борьбы с такими инвазионными болезнями крупного рогатого скота, как хориоптоз, псороптоз, бовиколез, гематопиноз и линогнатоз. В результате исследований было установлено, что в нашей стране, по литературным данным, для лечения крупного рогатого скота при различных арахноэнтомозах (хориоптоз, псороптоз, бовиколез, линогнатоз, гематопиноз) широко используют две группы препаратов: группа макроциклические лактоны и группа синтетические пиретроиды. По данным авторов, наиболее эффективным лечением хориоптоза являются препараты: «Дельцид 7,5», «Иверлонг», «Абамектин» на основе ихтиоловой мази, «Дельцид», «Неостомазан», «Аверсект-2 ВК», «Эпримек», «Монизен форте», «Дельтанил». В международных источниках много сведений об эффективности препаратов на основе дельтаметрина: «Альфациперметрин», «Эприномектин», а также об эффективности экстрактов растения *Eupatorium adenophorum*. Также появились разработки с применением нанотехнологий. Сравнительное исследование было разработано для оценки акарицидной эффективности наночастиц оксида цинка (NPS ZnO) и наночастиц серебра (NPS Ag) в сочетании с дельтаметрином.

Summary. The purpose of our study was to study modern Russian and foreign literature sources on measures to combat such invasive diseases of cattle as chorioptosis, psoroptosis, bovicolysis, hematopinosus and linognathosis. As a result of research, it was found that in our country, according to literature data, two groups of drugs are widely used for the treatment of cattle with various arachnoentomoses (chorioptosis, psoroptosis, bovicolysis, linognathosis, hematopinosus): a group of macrocyclic lactones and a group of synthetic pyrethroids. According to the authors, the most effective treatment of chorioptosis are the drugs: "Delcid 7.5", "Iverlong", "Abamectin" based on ichthyol liniment, "Delcid", "Neostomazan", "Aversect-2 VK", "Eprimec", "Monizen forte", "Deltanil". There is a lot of information in international sources about the effectiveness of drugs based on deltamethrin, "Alfatsipermethrin", "Eprinomectin", as well as the effectiveness of extracts of the plant *Eupatorium adenophorum*. Developments with the use of nanotechnology have also appeared. A comparative study was developed to evaluate the acaricidal efficacy of zinc oxide nanoparticles (ZNS ZnO) and silver nanoparticles (NPS Ag) in combination with deltamethrin.

Введение

Хориоптоз, псороптоз, бовиколез, гематопиноз и линогнатоз являются одними из самых распространенных инвазионных болезней крупного рогатого скота, вызываемых эктопаразитами. Актуальность исследований по данному вопросу важна, так как данные заболевания сопровождаются не только поражениями кожи, но и снижением продуктивности животных, а также сниже-

нием общей резистентности организма [2, 26, 27, 33, 34]. Есть данные, что инвазии эктопаразитов способны распространять и другие заразные болезни как инфекционного, так и инвазионного генеза [30, 38, 39, 42, 44].

Возбудителем хориоптоза являются клещи-кожееды *Chorioptes bovis*.

Возбудителем псороптоза, или наожниковой чесотки, являются клещи *Psoroptes bovis*.

Возбудителем линогнатоza являются вши *Linognathus vituli*, возбудителем гематопиноза являются вши *Haematopinus eurysternus*.

Возбудителем бовиколеза являются власоеды (волосовики) *Bovicola bovis*.

Для лечения данных инвазионных болезней животных разработано и применяется большое количество препаратов. Однако, эти болезни до сих пор являются актуальными и наносят существенный вред здоровью животных и экономический ущерб животноводству как ключевой отрасли экономики.

Материалы и методы

Материалами и методами нашей работы послужили современные российские и зарубежные источники литературы по используемым в мировой практике медикаментозным препаратам для борьбы с инвазионными болезнями животных, возбудителями которых являются эктопаразиты.

Результаты исследований

В настоящее время при выборе акарицидно-го препарата для обработки животных, больных арахноэнтомозами, учитывают, что применение некоторых препаратов ведет к развитию нежелательных реакций или осложнений в результате токсического действия лекарственных соединений. Большинство средств, используемых ранее для лечения животных, не соответствуют требованиям ветеринарно-санитарной экспертизы. Так, например, хлор- и фосфорорганические соединения хоть и эффективны при ликвидации данных инвазий у разных животных, но при этом достоверно установлено, что высокотоксичны, обладают кумулятивными свойствами, накапливаясь в тканях поперечнополосатой, сердечной мускулатуры, жировой ткани и тканях внутренних органов, а также выделяются с молоком [1, 6].

Есть сообщения, что зачастую описанные в литературных источниках лекарственные средства или не обладают 100 % эффективностью против возбудителей эктопаразитов, или к лекарственным средствам у возбудителя вырабатывается резистентность. Зачастую у возбудителей арахноэнтомозов возникает невосприимчивость к уже использующимся препаратам и действующим веществам, что значительно снижает эффективность обработок. Способность паразитов адаптироваться к тем или иным препаратам приводит к необходимости изыскания новых, более эффективных средств терапии и профилактики инвазионных болезней [17, 18, 33, 34].

В последние годы в мире для борьбы с эктопаразитами крупного рогатого скота предложено большое количество отечественных и импортных

препаратов из разных классов химических соединений. Они отличаются по своей структуре, механизму действия, степени токсичности, скорости и продолжительности акарицидного действия.

По данным А. В. Абрамова, в нашей стране для лечения крупного рогатого скота при хориоптозе широко используют две группы препаратов: группа макроциклических лактонов и группа синтетических пиретроидов. К первой группе относятся авермектины («Абамектин») и ивермектины («Ивермек», «Ивомек», «Иверсект»). Ко второй группе относятся «Дельтаметрин» («Дельцид», «Бутокс») и «Эсфенвалерат» («Пурофен»). По данным автора, наиболее эффективным лечением хориоптоза являются препараты «Дельцид» в 0,125 концентрации и «Абамектин» 0,002 % на основе ихтиоловой мази [2]. Эффективность авермектинов против различных эктопаразитов крупного рогатого скота подтверждается и другими исследователями [20, 35].

Р. М. Акбаев, В. Л. Лиэпа и А. А. Генералов в своих исследованиях испытали акарицидное средство из группы синтетических пиретроидов. В результате проведенных исследований было установлено, что препарат с действующим веществом этофенпрокс в концентрации 0,003 % водной эмульсии показал 100 % эффективный результат при двукратной обработке методом опрыскивания животных, больных хориоптозом [3]. Эффективность синтетических пиретроидов подтвердили и другие исследователи при испытании препаратов «Пурофен» и «Эктопор» для лечения крупного рогатого скота при псороптозной инвазии [36].

В литературе есть данные и об эффективности в отношении возбудителя хориоптоза крупного рогатого скота другого акарицидного препарата из группы синтетических пиретроидов с действующим веществом 5 % КЭ цифлутрина [4].

М. В. Арисовым [7] в клинических опытах по изучению эффективности препарата 5% эмульсия D-цифенотрина при псороптозе крупного рогатого скота были получены положительные результаты.

Также была изучена сравнительная эффективность применения препаратов против хориоптоза в зависимости от их основы, а именно «Биотика-20» и «Неостомазана» на гелевой основе и их водных эмульсий. Опыты показали, что препараты на гелевой основе показывают результат от 85 до 100 % – «Биотик-20» и «Неостомазан» соответственно, тогда как водные эмульсии показали себя менее эффективными в борьбе с данной инвазией. Авторы объясняют это малой стабильностью водных эмульсий акарицидов по сравнению с гелевыми формами [9].

В литературе есть свежие данные об испытании авторами (А. В. Ващук, А. Н. Токарев, О. А. Токарева) большого количества акарицидных препаратов из группы синтетических пиретроидов. Так, были испытаны цифлутрин, эсбикотрин, тетраметрин, этофенпрокс, дельтаметрин и перметрин. В результате проведенных исследований установлено, что все препараты обладают 100 % эффективностью как при лечении крупного рогатого скота, зараженного хориоптозами, так и другими эктопаразитами [10, 11].

В своих работах Н. А. Гаврилова [13] сравнивала эффективность препаратов «Цидипэг», «Марасасд», «Пурон-П» и 0,05 %-ный масляный раствор «Креолина-Х». Автор установила, что «Цидипэг», «Марасасд» и 0,05 % масляный раствор «Креолина-Х» обладают хорошо выраженным акарицидным действием при ликвидации хориоптоза. Испытания «Пурона-П» на циперметрине показали, что он оказался менее эффективным в борьбе с данной инвазией. Также в своих работах автор отметила эффективность препаратов «Эпримек» и «Аверсект-2 ВК» при лечении животных от хориоптоза [14, 15].

С. В. Енгашев и А. Н. Токарев в своих исследованиях провели испытания двухкомпонентных акарицидных гелей при хориоптозе крупного рогатого скота. Авторами было установлено, что двухкомпонентные гели обладают выраженным акарицидным действием в отношении клещей *C. bovis*, очищение кожи при обработке гелем на основе димитраза и эмидонола происходит интенсивнее, т. е. через 7 дней в соскобах не было ни одного клеща. Авторы это объясняют сочетанным действием антиоксидантного вещества эмидонола и иммуностропного вещества димитраза, обладающего акарицидным действием. Применение эмидонола в качестве вспомогательного компонента при лечении крупного рогатого скота, больного хориоптозом, целесообразно, так как это ускоряет регенерацию эпителия, что приводит к более быстрому очищению кожи от струпа. В других исследованиях С. В. Енгашев с соавторами изучал акарицидную активность препаратов «Флайблок» и «Дамит суперфорте» при хориоптозе крупного рогатого скота. «Флайблок» содержит в качестве действующего вещества цифлутрин 10 мг/мл. В состав «Дамита суперфорте» входят формамидиновое соединение и синтетический пиретроид нового поколения по 50 мг/мл. В результате исследований автором установлено, что препарат «Флайблок» обладает 71 %-ной экстенсивностью при однократной обработке и 100 %-ной экстенсивностью при двукратной обработке с интервалом 7 дней крупного

рогатого скота, больного хориоптозом, методом втирания. При этом снижение числа живых эктопаразитов в исследуемом материале через 7 дней после первой обработки составляет 84,5 %. Препарат «Дамит суперфорте» обладает 100 %-ной экстенсивностью при однократной обработке крупного рогатого скота, больного хориоптозом, методом втирания [19, 30].

Е. С. Енгашева разработала методические рекомендации по применению препарата пролонгированного действия «Иверлонг» при паразитарных болезнях сельскохозяйственных животных. «Иверлонг» назначают для лечения и профилактики крупному рогатому скоту и овцам при различных инвазионных болезнях, в том числе псороптозе, саркоптозе, сифункулятозе. «Иверлонг» при введении животным однократно внутримышечно или подкожно обеспечивает защиту от паразитарных заболеваний до 75–90 суток [16].

Д. С. Кузнецова в испытаниях препаратов «Эльветран SC 5 %», «Клозиверм» и «Цифлутрам» получила данные, что эти препараты обеспечивают высокую противопаразитарную эффективность при псороптозной инвазии крупного рогатого скота, а также отсутствие отрицательного влияния на организм животных [21, 22].

Л. П. Артеменко с соавторами отметили в своих исследованиях, что двукратная обработка препаратами «Эпризеро» и «Профиверм 1 %» пораженного возбудителями псороптоза крупного рогатого скота обеспечила 100 %-ную эффективность против клещей *P. bovis* [24].

А. С. Рогожников и А. В. Абрамов в своих исследованиях отмечают, что при лечении коров от хориоптоза эффективно применять «Бутокс 7,5», тогда как серно-дегтярная мазь показала менее выраженный терапевтический эффект. При этом авторы обращают внимание на недостаток препарата «Бутокс 7,5», который заключается в том, что после его применения молоко 3 недели нельзя использовать для пищевых целей человека в отличие от применения серно-дегтярной мази. Таким образом, авторы рекомендуют применять для лечения животных, зараженных хориоптозом, препарат «Бутокс 7,5» только коровам в сухостойном периоде, а для дойного стада использовать серно-дегтярную мазь [25].

В. А. Сидоркин получил в своих исследованиях положительные результаты при применении «Ивермека» (ЗАО «Нита-Фарм») для лечения гематопиноза крупного рогатого скота [26].

А. И. Ятусевич с соавторами приводят целый спектр эффективных препаратов для борьбы с эктопаразитами. Это группа пиретроидов, куда относятся «Стомазан», «Неостомазан»,

«Бутокс», «Декор-1» и т. д. К группе органических серосодержащих препаратов относятся сера и ее соединения – например, «Демос». Из группы макроциклических лактонов эффективны «Абамектин», «Ивермектин», «Дорамектин», «Ивомек» и другие [27].

В своих работах А. Н. Токарев отмечает, что «Дельцид» является безопасным и эффективным препаратом при хориоптозе, бовиколезе и сифункулятозах (линогнатоз и гематопиноз) [28, 29].

В своих работах С. В. Енгашев, А. Н. Токарев, Н. А. Гаврилова, Ю. Е. Кузнецов отмечают, что «Дельцид» является безопасным и эффективным препаратом при борьбе с эктопаразитами крупного рогатого скота [12, 29].

С. П. Ханхасыков и В. В. Токарь в Забайкальском крае для лечения и профилактики крупного рогатого скота от псороптоза применяли противопаразитарный препарат из группы макроциклических лактонов «Авермонмек», содержащий ивермектиновый комплекс, разработанный и произведенный в республике Монголия. Результаты испытаний показали, что использование данного препарата позволяет добиться высокого терапевтического и профилактического эффекта [31].

И. И. Цепилова в своих работах по сравнительной эффективности препаратов при лечении хориоптоза крупного рогатого скота отмечает, что «Дельцид» (дельтаметрин) обладает 100 %-ной терапевтической эффективностью по сравнению с «Энтомозаном-С» (циперметрин), терапевтическая эффективность которого оказалась 65,5 % [32].

Одним из самых эффективных препаратов в лечении животных показал себя абсолютно новый препарат «Дельцид 7,5». Один мл препарата в качестве действующих веществ содержит: дельтаметрин – 7,5 мг, дифлубензурон – 3 мг и пиперонилбутоксид – 1,5 мг, а также вспомогательные вещества. Обладает широким спектром инсектицидного и акарицидного действия. Данный препарат эффективно был испытан в животноводческих хозяйствах Ленинградской области для лечения животных. В процессе испытания препарата было установлено, что через 5 дней после окончания курсов терапии у 100 % коров опытной группы клещи *C. bovis* обнаружены не были. Более того, при сравнении его с таким зарубежным аналогом, как «Бутокс 7,5», «Дельцид 7,5» показал себя более эффективным при лечении животных от хориоптозной инвазии [17, 18, 33, 34].

Есть данные об эффективности применения «Монизен форте» при лечении бовиколеза крупного рогатого скота. Также авторы отмечают, что побочных явлений, осложнений, нежелательных реакций со стороны животных выявлено не было [37].

Из-за широкого распространения эктопаразитов в мясном и молочном скотоводстве, наряду с отечественными препаратами, исследователями испытывались и зарубежные препараты на основе дельтаметрина. Получен положительный результат и доказана эффективность применения препарата «Дельтанил» (Virbac, Франция) на основе дельтаметрина [8, 23].

В зарубежной литературе есть данные об эффективном испытании акарицидной эффективности экстрактов растения *Eupatorium adenophorum* против хориоптоза крупного рогатого скота. Результаты показали, что этанольные и петролейные эфирные экстракты убивали 100 % клещей в течение 4 часов [39].

В южных провинциях Италии для ликвидации гематопиноза исследователями был эффективно применен жидкий раствор дельтаметрина (BUTOX (R) 7.5) против *Haematopinus tuberculatus* у итальянского средиземноморского буйвола. Причем терапию проводили на разных группах лактирующих животных с разной дозировкой: в дозе 75 мг/голову и 150 мг/голову. Подсчет вшей авторы производили 84 дня с интервалом в 7 дней. В результате опытов было установлено, что в обеих группах препарат показал себя высокоэффективным на 100 % в борьбе с вшами, разницы в удоях молока выявлено не было, переносимость препарата животными отмечалась хорошая [42]. Также и в других источниках литературы отмечено о широком применении во всем мире дельтаметрина против эктопаразитов благодаря своей уникальной эффективности [40, 41].

Другими авторами на юге Италии в регионе Кампания против буйволиной воши *Haematopinus tuberculatus* был испытан альфациперметрин *in vitro* в различных концентрациях: 1,5 %, 0,75 %, 0,37 %. В результате этого исследования *in vitro* авторами было установлено, что альфациперметрин в концентрации 1,5 % наиболее эффективен и также может быть использован у буйволов для борьбы с вшами, как уже используется у крупного рогатого скота [45].

В литературных источниках есть статья об эффективном испытании *in vitro* алкалоидов экстрактов листьев *Calpurnia aurea* против возбудителей линогнатоза [46].

Есть данные об эффективном применении в Бразилии «Ивермектина». При этом коров, у которых диагностировали чесотку, вызванную *C. bovis*, взвешивали и обрабатывали 0,5 % «Ивермектином» в разовой дозе и разделяли на две группы: коров в ранней лактации и коров в поздней лактации. После 28 дней оценки было установлено, что эффективность лечения была

выше у коров в раннюю лактацию, а выживаемость возбудителя хориоптоза крупного рогатого скота была выше у коров в конце лактации [49].

Во Франции также получены положительные результаты при лечении клещевой инвазии, вызванной *C. bovis* у альпак, применением «Ивермектина». Для лечения животных использовали «Ивермектин S/C» 500 мкг/кг, далее этот препарат повторяли через 2, 7 и 9 недель. Отмечено, что зуд уменьшился через 1 неделю после начала лечения и прошел через 2 недели. Через 9 недель кожные поражения заметно улучшились. Через шесть месяцев после первого применения повреждения кожи полностью исчезли, а поверхностные соскобы кожи, взятые у половины животных, оказались отрицательными на клещей [54]. Причем эффективность макроциклических лактонов подтверждается и другими исследователями [50, 53]. В тоже время у ряда исследователей вызывает озабоченность местами проявляющаяся устойчивость возбудителей псороптоза к макроциклическим лактонам, которую, как они считают, необходимо контролировать с целью замедления развития резистентности возбудителей к препаратам данной группы [55].

В США довольно много ограничений для применения молочному скоту разрешенных препаратов. Также много лекарственных препаратов требуют, чтобы во время лечения молоко не применялось, а это экономически не подходит для лечения целых молочных стад. В этом случае авторами был эффективно испытан «Эприномектин», который одобрен для лечения молочного скота. В результате применения препарата количество коров с поражениями было значительно снижено. И хотя результаты этого исследования показывают, что хориоптическую чесотку можно контролировать в целых стадах, авторы отмечают, что для потенциального уничтожения паразита потребуется несколько методов лечения [56].

В Швейцарии и Корее применение «Эприномектина» также показало длительный противопаразитарный эффект против возбудителя хориоптоза крупного рогатого скота. Причем данный эффект продолжался более 3-х месяцев [47, 52].

Поскольку в области ветеринарии существует большая озабоченность по поводу устойчивости эктопаразитов крупного рогатого скота к акарицидам, то появились разработки с применением нанотехнологий. Сравнительное исследование было разработано для оценки акарицидной эффективности *in vitro* наночастиц оксида цинка (NPS ZnO), наночастиц серебра (NPS Ag), дельтаметрина, дельтаметрина-ZnO NPS и дельтаметрина-Ag NPS. Кроме того, новые препараты дельтаметрина (дельтаметрин-ZnO NPs и дельтаметрин-Ag

NPs) также были оценены в ходе испытаний эффективности на животных *in vivo*. В результате эксперимента было установлено, что как *in vivo*, так и *in vitro* наиболее эффективно себя показал на значительное снижение выживаемости клеща дельтаметрин-ZnO NPS. При этом авторами было установлено, что не было никакого существенного влияния различных методов лечения на функциональное состояние таких внутренних органов, как печень и почки после лечения животных [57].

Обсуждение результатов

Изученные литературные данные говорят о том, что мероприятия против инвазионных болезней, вызываемых эктопаразитами, регулярно совершенствуются. Так, на рынке ветеринарных препаратов появляются более новые средства борьбы с арахноэнтомодами. В качестве примера можно привести новую российскую разработку «Дельцид 7,5», который прекрасно себя зарекомендовал при лечении крупного рогатого скота от хориоптозной инвазии, а в сравнении с препаратом «Бутокс 7,5» показал более эффективные результаты. Немаловажным фактором считается формирование устойчивости эктопаразитов к широко использующимся акарицидным препаратам. Но и здесь разработки ученых не стоят на месте. Примером этому является появление разработок с применением нанотехнологий.

Выводы

Анализ литературных данных позволяет сделать вывод, что, несмотря на широкий спектр препаратов, инвазионные болезни, вызываемые эктопаразитами, широко распространены в разных странах. При этом как в нашей стране, так и за рубежом, широко применяются как макроциклические лактоны, так и синтетические пиретроиды, которые неплохо зарекомендовали себя в лечении животных. Однако, актуальность данных заболеваний для животноводства и повсеместное распространение данных болезней подталкивает разработчиков и исследователей к поиску новых препаратов для лечения животных как в нашей стране, так и за рубежом.

Список литературы

1. Аббасов Т. Г. Токсичность сульфидофоса, фозалона и диазинона для овец / Т. Г. Аббасов // Экология и меры борьбы с вредными членистоногими с.-х. животных и птиц. М., 1982. С. 62–65.
2. Абрамов А. В. Анализ лечебных мероприятий при хориоптозе крупного рогатого скота / А. В. Абрамов // Молодёжь и наука. 2017. № 6. С. 10.
3. Акбаев Р. М. Акарицидная эффективность водной эмульсии этофенпрокса при терапии крупного рогатого скота, больного хориоптозом / Р. М. Акбаев, В. Л. Лиэпа, А. А. Генералов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии : Сборник научных трудов Международной

учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ — МВА имени К.И. Скрябина, Москва, 20–22 ноября 2019 года / М.: ФГБОУ ВО МГАВМиБ — МВА имени К.И. Скрябина, 2019. С. 38–40.

4. Акбаев Р. М. Акарицидная эффективность цифлутрина в отношении клещей *Chorioptes bovis* / Р. М. Акбаев, А. А. Генералов, В. С. Чикунов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, зоотехнии и биотехнологии: Сборник научных трудов Международной учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, Москва, 20–22 ноября 2019 года / М.: ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, 2019. С. 35–36.

5. Акбаев Р. М. Эффективность инсектоакарицидного средства из группы синтетических пиретроидов при псороптозе крупного рогатого скота / Р. М. Акбаев, А. А. Генералов, Л. В. Начева // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2021. № 3(89). С. 187–191.

6. Ананчиков М. А. Сравнительная эффективность применения ивомека, акродекса и хлорофоса при демодекозе крупного рогатого скота / М. А. Ананчиков // Вет. наука пр-ву. 1990. Т. 28. С. 123–127.

7. Арисов М. В. Клиническое изучение эффективности препарата «5% эмульсия D-цифенотрина» при псороптозе крупного рогатого скота / М. В. Арисов, Е. А. Рудакова, Т. А. Ваганова // Современные проблемы общей прикладной паразитологии и эпизоотологии: Материалы X научно-практической конференции, Воронеж, 01 декабря 2016 года / Воронежский государственный заповедник. Воронеж, 2017. С. 113–118.

8. Белкин Е. А. Дельтанил – препарат выбора при эктопаразитах крупного рогатого скота / Е. А. Белкин // Ветеринария. 2019. № 4. С. 8–10.

9. Василевич Ф. И. Эффективность акарицидных препаратов на гелевой основе при хориоптозе крупного рогатого скота / Ф. И. Василевич, С. Ю. Садчиков // Современные аспекты диагностики, профилактики и лечения инфекционных и инвазионных болезней животных. М., 1998. С. 101–102.

10. Ващук А. В. Акарицидная и инсектицидная активность дельгаметрина, этофенпрокса и перметрина при обработке крупного рогатого скота, зараженного хориоптесами и бовиколами / А. В. Ващук, О. А. Токарева, А. Н. Токарев // Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сборник научных трудов. СПб.: Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018. С. 8–10.

11. Ващук А. В. Акарицидная и инсектицидная активность эсбиотрина цифлутрина и тетраметрина при обработке крупного рогатого скота, зараженного хориоптесами, демодексами и бовиколами / А. В. Ващук, А. Н. Токарев, О. А. Токарева // Международный вестник ветеринарии. 2017. № 3. С. 24–30.

12. Влияние препарата на основе дельгаметрина на организм крупного рогатого скота / А. Н. Токарев, Н. А. Гаврилова, Ю. Е. Кузнецов [и др.] // Международный вестник ветеринарии. 2016. № 3. С. 41–46.

13. Гаврилова Н. А. Хориоптоз крупного рогатого скота в хозяйствах Ленинградской области: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19 / Н. А. Гаврилова. Санкт-Петербург: Гос. Акад. Ветеринар. Медицины. СПб., 2000. 18 с.

14. Гаврилова Н. А. Эффективность внутрикожного применения препарата «Аверсект-2 ВК» при хориоптозе крупного рогатого скота / Н. А. Гаврилова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2016. № 2. С. 73–76.

15. Гаврилова Н. А. Эффективность препарата «Эпримек» при хориоптозе крупного рогатого скота / Н. А. Гаврилова // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии: Российский ветеринарный журнал. 2016. № 4. С. 90–93.

16. Енгашева Е. С. Методические рекомендации по применению препарата пролонгированного действия иверлонг при паразитарных болезнях сельскохозяйственных животных / Е. С. Енгашева // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 2. С. 104–107.

17. Испытание нового препарата «Дельцид® 7,5» при хориоптозе крупного рогатого скота в хозяйствах Ленинградской области / А. П. Шафиев, А. Н. Токарев, С. В. Енгашев, Е. С. Енгашева // Современные проблемы общей и частной паразитологии: материалы IV Международного паразитологического симпозиума, Санкт-Петербург, 07–09 декабря 2022 года. СПб.: Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. С. 268–271.

18. Испытание препарата «Дельцид® 7,5» при хориоптозе крупного рогатого скота / А. П. Шафиев, А. Н. Токарев, С. В. Енгашев, Е. С. Енгашева // Международный вестник ветеринарии. 2022. № 4. С. 145–151.

19. Испытание in vivo препаратов «Флайблук» и «Дамит суперфорте» / С. В. Енгашев, Е. С. Енгашева, А. В. Пятницына [и др.] // Международный вестник ветеринарии. 2018. № 3. С. 94–97.

20. Каиргельдина Б. Д. Эффективность авермектинов при псороптозе крупного рогатого скота в условиях Павлодарской области / Б. Д. Каиргельдина, А. Б. Дожанова, А. А. Жанабаев // Научные исследования как основа инновационного развития общества: Сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции, Уфа, 23 июля 2020 года. Уфа: Общество с ограниченной ответственностью «Агентство международных исследований», 2020. С. 8–13.

21. Кузнецова Д. С. Терапевтическая эффективность препарата «Клозиверм» при псороптозе крупного рогатого скота / Д. С. Кузнецова // Животноводство и ветеринарная медицина. 2018. № 3. С. 47–50.

22. Кузнецова Д. С. Эффективность «Эльветрана SC 5 %» и «Цифлутрама» при псороптозе крупного рогатого скота / Д. С. Кузнецова // Молодые ученые — науке и практике АПК: материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых, Витебск, 05–06 июня 2018 года / Учреждение образования «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск: ВГАВМ, 2018. С. 21–23.

23. Левина Л. С. Исследование эффективности «Дельтанила» при псороптозе крупного рогатого скота в условиях агрохолдинга «Мираторг» / Л. С. Левина, Б. В. Ромашов // Современные проблемы общей и прикладной паразитологии: сборник научных статей по материалам XIII научно-практической конференции памяти профессора В. А. Ромашова, Воронеж, 17–18 октября 2019 года. Воронеж: Типография ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, 2019. С. 195–199.

24. Опыт лечения крупного рогатого скота при псороптозной инвазии / Л. П. Артеменко, В. П. Гончаренко, А. С. Билан [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси. 2020. № 1(12). С. 9–12.

25. Рогожникова А. С. Акарицидная активность препаратов «Бутокс» и серно-дегтярной мази в лечении крупного рогатого скота, зараженного хориоптозом / А. С. Рогожникова, А. В. Абрамов // Молодежь и наука. 2017. № 6. С. 7.

26. Сидоркин В. А. Лечение животных при гематопинозе / В. А. Сидоркин, В. А. Оробец // Ветеринария. 2002. № 7. С. 8–9.

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

28. Токарев А. Н. Акарицидная активность препарата «Дельцид» при лечении крупного рогатого скота, зараженного демодекозом и хориоптозом / А. Н. Токарев // Ученые записки

Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2011. № 208. С. 222–224.

29. 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; Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. СПб., 2016. 43 с.

30. Токарев А. Н. Эффективность комбинированного геля при хориотозе крупного рогатого скота / А. Н. Токарев, С. В. Енгашев // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2015. № 16. С. 430–431.

31. Ханхасыков С. П. Опыт лечения и профилактики псороптоза крупного рогатого скота в СК «Красная Ималка» / С. П. Ханхасыков, В. В. Токарь // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В. Р. Филиппова. 2020. № 4(61). С. 178–183.

32. Цепилова И. И. Сравнительная характеристика эффективности лекарственных препаратов при лечении хориоптоза крупного рогатого скота / И. И. Цепилова // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2018. № 19. С. 500–503.

33. Шафиев А. П. Изучение распространения арахноэнтомозов крупного рогатого скота в хозяйствах Ленинградской области / А. П. Шафиев, А. Н. Токарев // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2022. № 2(54). С. 24–28.

34. Шафиев А. П. Хориоптоз крупного рогатого скота в юго-западных районах Ленинградской области / А. П. Шафиев, А. Н. Токарев // Роль аграрной науки в устойчивом развитии АПК: материалы II Международной научно-практической конференции, Курск, 26 мая 2022 года. Часть 3. Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И. И. Иванова, 2022. С. 171–174.

35. Эффективность авермектинов при псороптозе крупного рогатого скота в условиях Северо-Казахстанской области / Ж. Студент, М. Кадыров, А. А. Жанабаев, А. Е. Усенбаев // Молодежная наука — гарант инновационного развития АПК: материалы X Всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Курск, 19–21 декабря 2018 года. Том Часть 2. Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия, 2019. С. 101–104.

36. Эффективность акарицидных препаратов при эктопаразитах / Д. А. Тарануха, Б. М. Багамаев, М. М. Мамбетов, Э. В. Горчаков // Вестник АПК Ставрополя. 2022. № 1(45). С. 23–26.

37. Эффективность лекарственного препарата для ветеринарного применения Монизен Форте при бовиколезе крупного рогатого скота / А. Б. Муромцев, Е. С. Енгашева, А. Ю. Ефремов, К. А. Муромцев // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Международная научная конференция (13-15 мая 2020 г., Москва). Москва, 2020. С. 248–254.

38. 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.

39. Acaricidal activity of petroleum ether extracts from Eupatorium adenophorum against the ectoparasitic cattle mite, Chorioptes texanus / X. Nong; S.-H. Li, J.-H. Wang [et al.] // Parasitology Research. 2014. Vol. 113, iss. 3, № 3. P. 1201–1207.

40. Deltamethrin affects the expression of voltage-gated calcium channel $\alpha 1$ subunits and the locomotion, egg-laying, foraging behavior of *Caenorhabditis elegans* / R. Zeng, X. Yu, X. Tan [et al.] // Pesticide Biochemistry and Physiology. 2017. Vol. 138, № 5. P. 84–90.

41. Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism / L. Q, S. Y, A. I [et al.] // Environmental Research. 2019. Vol. 170, № 3. P. 260–281.

42. Efficacy of deltamethrin pour-on (BUTOX (R) 7.5 Pour-On) against *Haematopinus tuberculatus* in Italian Mediterranean buffalo (*Bubalus bubalis*) / A. Bosco, M. E. Morgoglione, A. Amadesi [et al.] // Large Animal Review. 2018. Vol. 24, iss. 2, № 4. P. 73–79.

43. 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.

44. First record of natural infection with *Anaplasma marginale* 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.

45. In Vitro Efficacy Of Alphacypermethrin On The Buffalo Louse *Haematopinus Tuberculatus* (Burmeister, 1839) / V. Veneziano, G. Neglia, F. Buono [et al.] // Buffalo Bulletin. 2017. Vol. 36, iss. 2, № 4–6. P. 327–334.

46. In-Vitro Louscidal And Acaricidal Activities Of Alkaloid Of *Calpurnia Aurea* Extracts Against *Linognathus Ovilus* And *Amblyomma Variegatum* / M. Amante, Y. Hailu, G. Terefe, K. Asres // International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research. 2019. Vol. 10, iss. 1, № 1. P. 431–437.

47. Kollbrunner M. Chorioptic mange in dairy cattle: A new assessment for its control / M. Kollbrunner, K. Pfister, A. Luginbuhl // Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift. 2009. Vol. 122, iss. 9–10, № 9. P. 358–363.

48. 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 (pag. var.).

49. 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.

50. Schraven A. L. A systematic review of moxidectin as a treatment for parasitic infections in mammalian species / A. L. Schraven, H. J. Stannard, J. M. Old // Parasitology Research. 2021. Vol. 120, iss. 4, № 4. P. 1167–1181.

51. 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 (pag. var.).

52. Therapeutic effect of eprinomectin against chorioptes texanus in naturally infected dairy cows reared in Korea / T.-Y. Hur, S.-J. Kang, Y.-H. Jung Y.-H. [et al.] // Journal of Veterinary Clinics. 2009. Vol. 26, iss. 5. P. 450–456.

53. Treatment and control of bovine sarcoptic and psoroptic mange infestation with ivermectin long-acting injectable (IVOMEC® GOLD) / D. Hamel, A. Joachim, M. Löwenstein // Parasitology Research. 2015. Vol. 114, iss. 2, № 2. P. 535–542.

54. Treatment of sarcoptic and chorioptic mange in an alpaca (*Vicugna pacos*) herd with a combination of topical amitraz and subcutaneous ivermectin / E. Castilla-Castano, N. Herman, E. Martinelli, L. A. Lecru [et al.] // New Zealand Veterinary Journal. 2021. Vol. 69, № 2. P. 121–126.

55. Unravelling Belgian Blue cattle farmers' adoption intention towards diagnostic tools: Integrating insights from behavioural economics and socio-cognitive theories / C. Mingolla, W. van Mol; L. Hudders [et al.] // Preventive Veterinary Medicine. 2021. Vol. 188, № 3, article 105238.

56. Villarroel A. Control of extensive chorioptic mange natural infection in lactating dairy cattle without milk withdrawal / A. Villarroel, M. K. Halliburton // Veterinary Journal. 2013. Vol. 197, iss. 2, № 8. P. 233–237.

57. Waleed M. A. Acaricidal efficacy of deltamethrin-zinc oxide nanocomposite on *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* tick / M. A. Waleed, N. M. Asmaa, I. A. E.-E. Fatma // Veterinary Parasitology. 2019. Vol. 268, № 4. P. 36–45.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-84-87

УДК: 619:615.9:614.95

Ключевые слова: биотестирование, инфузории, токсичность, комбикорм, микотоксины

Key words: biotesting, infusoria, toxicity, compound feed, mycotoxins

Карпенко Л. Ю., Махнин И. А., Беренев Ю. Е., Лукина И. А.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМБИКОРМОВ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ НА ТЕСТ-ОБЪЕКТЕ *PARAMECIUM CAUDATUM* DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY OF COMPOUND FEEDS FOR LABORATORY RODENTS AT THE *PARAMECIUM CAUDATUM* TEST FACILITY

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

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

FSBEI HE «St. Petersburg State University of Veterinary Medicine»

Address: 196084, Russia, St. Petersburg, Chernigovskaya str., 5

Карпенко Лариса Юрьевна, д. б. н., профессор кафедры биохимии и физиологии, l.u.karpenko@mail.ru
Karpenko Larisa Yuryevna, Dr. Habil (Biol. Sci), Professor of Department of Biochemistry and Physiology,
Dr. Habil (Biol. Sci), l.u.karpenko@mail.ru

Махнин Илья Алексеевич, студент V курса факультета ветеринарной медицины, ilya.makh@mail.ru
Makhnin Ilya Alekseevich, 5th year Student of Faculty of Veterinary Medicine, ilya.makh@mail.ru

Беренев Юрий Евгеньевич, магистр II курса факультета водных биоресурсов и аквакультуры, yberenev@list.ru
Berenev Yuri Evgenievich, Master of the II Course of Faculty of Aquatic Bioresources
and Aquaculture, yberenev@list.ru

Лукина Ирина Алексеевна, студент II курса факультета ветеринарной медицины, miri77@yandex.ru
Lukina Irina Alekseevna, second-year Student of Faculty of Veterinary Medicine, miri77@yandex.ru

Аннотация. Работа посвящена определению токсичности комбикорма методом биотестирования для домашних грызунов на тест-объекте *Paramecium caudatum*. Работа выполнена на базе лаборатории кафедры биохимии и физиологии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины. Исследовали комбикорм для лабораторных грызунов, полученный из вивария, где были нарушены требования к влажности воздуха. В качестве тест-организма использовали культуру инфузории *Paramecium caudatum* в фазе замедленного роста. Отбор проб для токсикологического исследования был произведен согласно ГОСТ 13496.0-201. Первичное исследование пробы было произведено органолептическим методом. Общую токсичность комбикорма определяли методом биотестирования с применением общепринятой методики «ГОСТ 31674-2012. Корма, комбикорма, кормовое сырье. Методы определения общей токсичности». Выживаемость инфузорий в водном экстракте и в водном растворе ацетонового экстракта составила менее 50 %. Таким образом, данный корм не рекомендуется давать в употребление лабораторным животным. Скармливание лабораторным животным такого корма может привести к летальному исходу.

Summary. The work is devoted to the determination of the toxicity of compound feed by the method of biotesting for domestic rodents at the *Paramecium caudatum* test facility. The work was carried out on the basis of the laboratory of the Department of Biochemistry and Physiology of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. Compound feed for laboratory rodents obtained from a vivarium, where the requirements for air humidity were violated, was studied. A culture of *Paramecium caudatum* infusoria in the slow growth phase was used as a test organism. Sampling for toxicological examination was carried out according to GOST 13496.0-201. The initial examination of the sample was performed by the organoleptic method. The general toxicity of compound feed was determined by the method of biotesting using the generally accepted methodology “GOST 31674-2012. Feed, compound feed, feed raw materials. Methods for determining general toxicity”. The survival rate of infusoria in an aqueous extract and in an aqueous solution of acetone extract was less than 50 %. Thus, this food is not recommended to be given to laboratory animals for use. Feeding such food to laboratory animals can lead to a fatal outcome.

Введение

Сельское хозяйство является неотъемлемой частью жизни нашей страны. Снабжение рынка качественной растительной и животной пищей – залог здорового населения. Однако существует ряд проблем, требующих незамедлительного решения, поскольку их игнорирование может повлечь тяжелые последствия. Одной из таких проблем является отравление сельскохозяйственных животных корма-

ми, пораженными микотоксинами. Микотоксикозы – специфические алиментарные заболевания, возникающие в результате поедания животными кормовых масс, содержащих микотоксины [1, 7].

Микотоксины – это вторичные метаболиты микроскопических грибов (плесеней), обладающие токсичными свойствами. Микотоксины представляют собой смесь большого количества алкалоидов, которые негативно воздействуют на

различные системы организма животного. Наличие токсичных веществ в кормах способно вызвать интоксикацию, токсикоинфекцию, аллергию, злокачественные новообразования, гормональную дисфункцию и др. [8].

В процессе хранения кормов необходимо соблюдать нормативные показатели температуры, влажности, воздухообмена, а также необходимо обеззараживать помещения, предназначенные для хранения кормового сырья. Правильная технология заготовки и хранения зернового сырья позволит избежать преждевременной порчи продукта. Например, быстрая сушка после сбора урожая уберет лишнюю влагу, являющуюся прекрасной средой для развития плесневых грибов [7].

Существует множество различных микотоксинов с различной степенью ядовитости. В течение продолжительного времени проводятся различные исследования по определению токсичности тех или иных микотоксинов. Например, были зафиксированы наиболее токсичными микотоксины для лабораторных мышей, которыми являются охратоксин, афлатоксин, зеараленон, фуманизин и Т-2 токсин [1, 8].

В 2009 году в лабораторно-диагностическом центре Уральского научно-исследовательского ветеринарного института РАСХН был проведен эксперимент по выявлению токсичности кормов, пораженных микотоксинами. Для определения степени зараженности кормов и сырья была подвергнута иммуноферментному и микологическому анализу 281 проба. Пораженность кормов и кормового сырья токсичными метаболитами плесневых грибов была высокой. Наиболее зараженными являлись зерновые виды кормового сырья. Опыт по экспериментальному воспроизведению острых микотоксикозов проводился на 60 лабораторных здоровых мышах, которым давали пораженный корм в течение 10 дней. Признаки микотоксикоза у животных проявились на 5-й день следующими симптомами: подергивание конечностями и хвостом, агрессивность, взъерошенность, потеря блеска шерстяного покрова, увеличение потребления воды. С 8 по 10 день эксперимента были отмечены гиперемия видимых слизистых оболочек, расстройство нервной системы, снижение аппетита [2].

Исследования на таких крупных тест-организмах, как мыши, не единственный метод диагностики токсичности веществ. В качестве альтернативных методов определения токсикопараметров предложено использовать культуры клеток, беспозвоночные организмы гидробионты, растения, микроорганизмы, эмбриональный и личиночный материал. Это соотносится с концепцией трех R (reduction, refinement, replacement – снижение,

уточнение, замена), которая подразумевает внедрение в токсикологию альтернативных методов *in vitro* с целью снижения числа экспериментальных животных, обновления и совершенствования методов токсикологических исследований. В биотестировании хорошим тест-объектом могут служить простейшие, например, *Paramecium caudatum*. Известно, что данный вид инфузорий остро реагирует на изменения окружающей среды, для него характерна простота в строении, короткий жизненный цикл и высокая скорость размножения. Данный тест-объект удобен как с практической, так и с экономической точек зрения. Стоит подчеркнуть, что в результате исследований было выявлено, что показатели токсичности веществ, полученные с помощью культуры *Paramecium caudatum*, коррелируют с аналогичными показателями для лабораторных мышей [6].

Цель работы: Определить токсичность комбикорма методом биотестирования для домашних грызунов на тест-объекте *Paramecium caudatum*.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе лаборатории кафедры биохимии и физиологии Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины. Исследовали комбикорм для лабораторных грызунов, полученный из вивария, где были нарушены требования к влажности воздуха.

Отбор проб для токсикологического исследования был произведен согласно ГОСТ 13496.0-2016 «Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб» [3]. Первичное исследование пробы было произведено органолептическим методом. Общую токсичность комбикорма определяли методом биотестирования с применением общепринятой методики «ГОСТ 31674-2012. Корма, комбикорма, кормовое сырье. Методы определения общей токсичности» [4]. В качестве тест-организма использовали культуру инфузории *Paramecium caudatum* (рис. 1) в фазе замедленного роста [5].

Сущность метода заключается в приготовлении водных экстрактов и водных растворов ацетоновых экстрактов пробы для дальнейшего исследования, и анализа воздействия полученных экстрактов на инфузориях *Paramecium caudatum* [6]. Из всех вероятных функций простейших наиболее доступны для измерения следующие тест-реакции: изменение подвижности, гибель организма и скорость размножения. Для оценки длительного воздействия малых концентраций действующих веществ тест-реакцией может служить гибель экспериментальных популяций монокультур за определенный период времени. Изготовление водного экстракта осуществлялось экспресс-методом [5].

Культивирование инфузории *Paramecium caudatum* производилось по «ГОСТу 31674-2012. Корма, комбикорма, кормовое сырье. Методы определения общей токсичности» [4]. Был осуществлен перевод инфузорий на дрожжевой корм. Инфузории содержались в среде Лозина-Лозинского, приготовленной по ГОСТу 31674-2012, а также при температуре 25 °С и искусственном освещении. Состав среды Лозина-Лозинского следующий: на 1 л d H₂O, NaCl – 0,1 г; KCl – 0,01 г; CaCl₂ – 0,01 г; MgCl₂ – 0,01 г; NaHCO₃ – 0,02 г.

В исследовании был проведен анализ типового комбикорма с отрубями. Взвешивание необходимого количества корма производилось в двух конических колбах с использованием лабораторных весов AJ-320SE. Приготовление экстрактов осуществлялось в этих же колбах.

Оценка влияния водного и ацетонового экстрактов на тест-объект была произведена в микроаквариумах, в качестве которых использовали иммунологические планшеты с объемом ячейки 0,3 мл. Контроль за выживаемостью тест-объектов осуществляли при помощи микроскопа МБС-9 при увеличении 100х.

Наблюдение за состоянием тест-объекта производилось в контрольном растворе и водном экстракте через 30 мин, 1 ч, 2 ч и 3 ч с момента начала экспозиции. В водном растворе ацетонового экстракта контроль проводился по прошествии двух часов с момента начала экспозиции. Биотестирование проводилось в двукратной повторности для каждой пробы.

Результаты исследований

В начале нашего исследования был проведен визуальный осмотр комбикорма. А также тщательно изучен его состав. Включений и посторонних предметов обнаружено не было. Данный комбикорм состоит из отрубей, что придает ему коричневатый оттенок (рис. 2), посторонний запах отсутствует.

Инфузорий распределили по лункам в микроаквариумах, после наблюдения за их активностью



Рис. 2. Комбикорм из отрубей

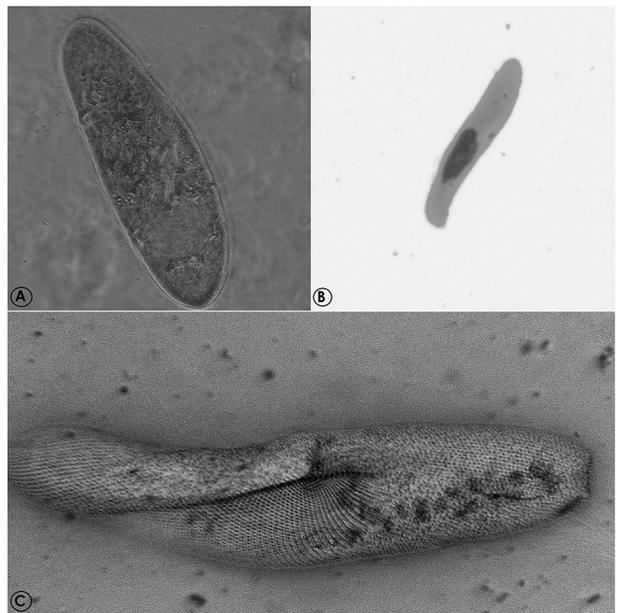


Рис. 1. *Paramecium caudatum*: А – фазово-контрастная микроскопия; В – окраска по Фельгену; С – импрегнация азотнокислым серебром

в стандартной среде стали добавлять экстракты. Сразу после добавления в лунки экстрактов отметили характерное изменение в поведении тест-объекта. Инфузории стали передвигаться быстрее, с резким изменением направления. Через 30 минут с начала экспозиции в контрольном растворе двигательная активность инфузорий понизилась, в водном экстракте инфузории также замедлили свой ход и оседали на дно. Проявлялись явные признаки начала распада клеток, что свидетельствовало об инициализации процесса гибели инфузорий. По прошествии двух часов в лунках с водным и ацетоновым экстрактом наблюдалась гибель около 80 % инфузорий *Paramecium caudatum* (21 из 30 и 14 из 30 соответственно (см. табл. 1). По окончании трех часов в некоторых лунках наблюдалась полная гибель инфузорий. Данные приведены в табл. 1.

Результаты исследования представлены в гистограмме (Рис. 3). Выживаемость инфузорий в водном экстракте и в водном растворе ацетонового

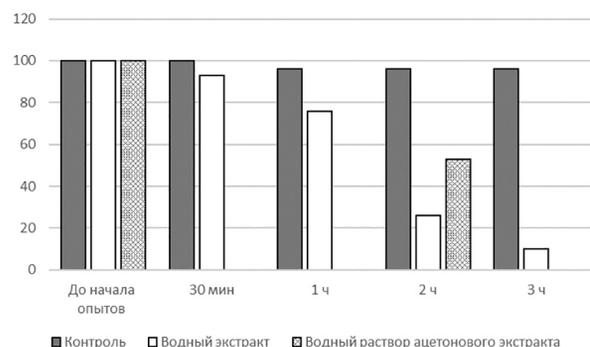


Рис. 3. Результаты определения токсичности комбикорма

Таблица 1

Данные о выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum*

Выживаемость инфузорий в контрольном растворе					
Время	Номер лунки в микроаквариуме				
	I	II	III	IV	V
В начале опыта	6	6	6	6	6
Через 30 мин.	6	6	6	6	6
Через 1 ч.	6	5	6	6	6
Через 2 ч.	6	5	6	6	6
Через 3 ч.	6	5	6	6	6
Выживаемость инфузорий в водном экстракте					
Время	Номер лунки в микроаквариуме				
	I	II	III	IV	V
В начале опыта	6	6	6	6	6
Через 30 минут	6	5	6	5	6
Через 1 час	3	4	6	5	5
Через 2 часа	0	2	3	1	3
Через 3 часа	0	0	1	0	2
Выживаемость инфузорий в водном растворе ацетонового экстракта					
Время	Номер лунки в микроаквариуме				
	I	II	III	IV	V
В начале опыта	6	6	6	6	6
Через 2 ч.	3	4	3	2	4

экстракта составила менее 50 %. Таким образом, данный корм не рекомендуется давать в употребление лабораторным животным. Скармливание лабораторным животным такого корма может привести к летальному исходу.

Заключение

В ходе работы проведена оценка токсичности комбикорма с использованием биомоделей второго порядка *Paramecium caudatum*. Данный способ биотестирования позволяет получить быстрые точные результаты, установить уровень токсичности кормового сырья. Таким образом, стоит своевременно выявлять токсичность кормового сырья, что позволит избежать возникновения у животных микотоксикозов. Поскольку скармливание загрязненных кормов приводит к хроническим токсикозам организма, снижает продуктивность животных, ухудшает их показатели воспроизводства. Корма, которые даже кратковременно находились при ненормативных условиях хранения, должны быть подвергнуты биотестированию.

Список литературы

1. Бажов Г. М. Отравления животных микотоксинами: учебное пособие для вузов / Г. М. Бажов. СПб.: Лань, 2022. Текст : электронный // Лань: электронно-библиотечная система. URL: <https://e.lanbook.com/book/200279> (дата обра-

щения: 07.04.2023). Режим доступа: для авториз. пользователей. С. 11.

2. Безбородова Н. А. Мониторинг микотоксинов в кормах и кормовом сырье и клинико-иммунологические особенности микотоксикозов животных в Уральском регионе: автореф... дис. кан. вет. наук. / Н. А. Безбородова. Екатеринбург: 2009. 21 с.

3. ГОСТ 13496.0-2016 «Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб». М.: Стандартинформ, 2016. 16 с.

4. ГОСТ 31674-2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности». М.: Стандартинформ, 2014. 17 с.

5. Гроздов А. Продолжение пути экспресс-метода определения токсичности на инфузориях парамециях / А. Гроздов // Комбикорма. 2021. №. 6. С. 84–87.

6. Использование тест-объекта *Paramecium caudatum* для определения острой токсичности физиологически активных веществ / В. А. Андреев, Е. Ю. Андреева, Л. П. Эрдниев, Я. А. Степанов, А. Ю. Микшта, И. В. Мокшанов, И. А. Ермолаева, Н. В. Степанова, В. Я. Апчел // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2019. №. 2. С. 110–113.

7. Зоогигиеническая и ветеринарно-санитарная экспертиза кормов: учебник / А. Ф. Кузнецов, А. М. Лунегов, К. А. Рожков, И. В. Лунегова. СПб.: Лань, 2022. Текст : электронный // Лань: электронно-библиотечная система. – URL: <https://e.lanbook.com/book/210023> (дата обращения: 07.04.2023). — Режим доступа: для авториз. пользователей. С. 391.

8. Масалов В. Н. Микотоксины: воздействие и последствия. Методы решения проблемы: учебное пособие / В. Н. Масалов, Е. А. Михеева, Т. В. Смагина. Орел: ОрелГАУ, 2013. 89 с.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-3-88-91

УДК 637.06

Ключевые слова: ветеринарно-санитарная экспертиза, рыба, моноинвазия, микст-инвазия, санитарная оценка
Key words: *veterinary and sanitary examination, fish, monoinvasion, mixtinvasion, sanitary assessment.*

Федоров Н. М.

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА ЛЕЩА ПРИ ПАРАЗИТАРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

VETERINARY AND SANITARY ASSESSMENT OF BREAM WITH PARASITIC DISEASES

ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Донской ГАУ)

Адрес: 346493, Россия, Ростовская область, Октябрьский район, пос. Персиановский, ул. Кривошлыкова, 24
FSBEI HE "Don State Agrarian University"

Address: 346493, Russia, Rostov region, Oktyabrsky district, village Persianovsky, Krivoshlykov str., 24

Федоров Николай Михайлович, кандидат ветеринарных наук, доцент, доцент кафедры паразитологии, ветеринарно-санитарной экспертизы и эпизоотологии. E-mail: nik26050861@yandex.ru.

Fedorov Nikolay Mikhailovich, PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Parasitology, Veterinary and Sanitary Examination and Epizootology. E-mail: nik26050861@yandex.ru

Аннотация. В статье изложены материалы по ветеринарно-санитарной экспертизе леща при моноинвазиях (лернеоз, лигулез) и их смешанном течении. Была изучена экстенсивность и интенсивность рассматриваемой инвазии у леща, выловленного в естественных водоемах Ростовской области. Изучено влияние моно- и микст-инвазии на органолептические, физико-химические и бактериологические показатели мяса рыбы. Установлено, что физико-химические и микробиологические показатели пораженной рыбы находятся на гребне нормативных требований. Причем, сочетанное воздействие *Ligula intestinalis* и *Lernaea cyprinacea* на организм рыбы оказывается сильнее, чем при моноинвазии и приводит к увеличению микробной контаминации свыше допустимого предела. Высокая микробная загрязненность мяса инвазированной рыбы создает угрозу возникновения у потребителя пищевых токсикоинфекций и токсикозов и требует обязательной высокотемпературной кулинарной обработки. Для малоценной рыбы, при выраженном нарушении товароведной оценки, показана утилизация или промышленная переработка.

Summary. *The conducted studies make it possible to exclude the negative impact of the studied mono- and mixtinvasions on the organoleptic parameters of the bream, however, visual control of parasites reduces the commodity evaluation of fish. Physico-chemical and microbiological indicators of the affected fish are on the crest of regulatory requirements. Moreover, the combined effect of Ligula intestinalis and Lernaea cyprinacea on the fish body is stronger than with monoinvasia and leads to an increase in microbial contamination above the permissible limit. The high microbial contamination of the meat of the invaded fish poses a threat to the consumer of food toxicoinfections and toxicoses and requires mandatory high-temperature culinary treatment. For lowvalue fish, with a pronounced violation of commodity evaluation, disposal or industrial processing is indicated.*

Введение

В мясном балансе рыбная продукция составляет 25 %, ее используют во многих отраслях народного хозяйства. Обладая исключительно высокими пищевыми качествами, рыба широко используется в повседневном рационе человека, диетическом и детском питании, укрепляет здоровье, повышает работоспособность, профилактирует целый ряд заболеваний.

Однако в ряде случаев рыба и морепродукты являются источником заражения человека, домашних и диких плотоядных животных [2, 3]. В современных условиях, когда глубокие нарушения окружающей среды под воздействием хозяйственной деятельности человека регистрируются повсеместно, паразитозы рыб становятся проблемой, выходящей за рамки медицины и ветеринарии.

Из паразитарных заболеваний пресноводных рыб на юге России наибольшую опасность пред-

ставляют ихтиофтириоз, дактилогироз, лигулез, филометроидоз, миксоспориозы. Зачастую паразитарные заболевания гидробионтов, имеют ассоциативное течение [4, 5, 8, 10]. Вопросы эпизоотологии и патогенеза при паразитарных моноинвазиях изучены достаточно полно, однако в доступной нам литературе сведения о влиянии паразитов на качественные показатели мяса рыб представлены достаточно скудно [1, 6]. Не освещены также вопросы, касающиеся изучения пищевой и относительной биологической ценности инвазированной морской и пресноводной рыбы, кроме того, на сегодняшний день отсутствует ветеринарно-санитарная оценка рыбы при смешанном течении заразных заболеваний [7, 9].

В этой связи цель работы – ветеринарно-санитарная оценка леща при лигулезе, лернеозе и их смешанном течении.

Были поставлены следующие задачи:

1. Провести анализ влияния моно- и микст-инвазии на органолептические, физико-химические и микробиологические показатели леща.

2. Усовершенствовать ветеринарно-санитарную оценку рыбы при изучаемых моноинвазиях и их ассоциативном течении.

Материал и методы

В начале осени было проведено паразитологическое исследование 87 особей леща массой 0,8–1,25 кг, выловленного в естественных водоемах Ростовской области.

Затем изучали влияние выявленных паразитов на качество и безопасность мяса леща. Материал исследован комплексно с использованием общепринятых паразитологических, органолептических, микробиологических, физико-химических и биохимических методов.

Результаты исследования

Из числа исследованных рыб лернеоз установлен у 2 особей. Экстенсивность инвазии (ЭИ) составила 2,3% при интенсивности инвазии (ИИ) от 1 до 11 паразитов на голову.

Лигулез, в форме моноинвазии, регистрировали у 6 лещей, (ЭИ) составила 6,9%, при (ИИ) от 1 до 4 плероцеркоидов. Смешанное течение паразитарных заболеваний установлено у 11 особей, что составляло 12,6% от числа исследованных.

Наблюдение за здоровой и пораженной рыбой в бассейне исключило нарушение поведенческих реакций. Лещи в воде сохраняли горизонтальное положение тела, координация движений не нарушена, адекватно реагировали на внешние раздражители. Поверхность тела покрыта тонким слоем прозрачной слизи. Чешуя блестящая, без пятен, хорошо удержива-

ется в чешуйчатых кармашках, механические повреждения на теле (раны) отмечали только у особей, пораженных лернеозом. Конфигурация тела не нарушена, брюшко не вздутое, анальное кольцо не выпячивается (в случае лигулеза наблюдали обратную картину). Жаберные крышки плотно прилегают, жабры темно-красного цвета, без слизи. Глаза блестящие, выпуклые. Запах специфический, свойственный рыбе. Мышечная ткань упруго-эластичной консистенции, характерного рисунка.

При постановке пробы варкой во всех пробах был получен прозрачный, ароматный бульон с крупными блестками жира на поверхности.

Физико-химические показатели здоровых, пораженных моно- и микст-инвазией лещей в целом соответствовали нормативам для свежей и доброкачественной рыбы (таблица 1).

Вместе с тем, инвазия леща приводит к изменениям в биохимии мяса. Так, концентрация водородных ионов в мясном экстракте здоровой рыбы была на 0,04-0,20 единиц рН ниже, чем при моно- и микст-инвазии. Значение рН мясного экстракта рыбы со смешанным течением инвазии находилось на верхней границе, характеризующей свежую рыбу.

Аналогичная закономерность установлена и по содержанию amino-аммиачного азота (ААА) в 10 мл мясного экстракта. В бульоне, полученном из мяса одного леща со смешанной инвазией, были обнаружены следы первичного распада белка, при этом содержание ААА превышало допустимое значение и составляло 0,72 мг в 10 мл экстракта.

Для уточнения биологической безопасности мяса рыбы были проведены бактериологические исследования, результаты которых отражены в таблице 2.

Таблица 1

Физическо-химические показатели мяса здоровой и пораженной рыбы

Показатели	Здоровая n=5	Лернеоз n=2	Лигулез n=2	Лигулез и лернеоз n=5
рН мяса	6,77±0,16*	6,81±0,13	6,90±0,04	6,97±0,06
Амино-аммиачный азот в 10 мл экстракта	0,57±0,10	0,64±0,20	0,60±0,11	0,68±0,09*
Р-ция на H ₂ S	5-	2-	2-	5-
Р-ция на NH ₃	5-	2-	2-	5-
Р-ция на пероксидазу с экстрактом жабер	5+	2+	2+	5+
Р-ция с CuSO ₄	5-	2-	2-	4- 1±

Примечание: - отрицательная, + положительная, ± сомнительная.

Таблица 2

Бактериологические показатели мяса здоровой и пораженной рыбы

Микробиологический показатель	Здоровая	Лернеоз	Лигулез	Лигулез и лернеоз
КМАФАнМ, КОЕ/г	$3,1 \times 10^3$	$7,2 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$
Редуктазная проба М. Я. Кондратовой, ч.	4ч 30'	3ч 30'	3ч 30'	3ч 15'
БГКП в 0,01 г	отсутствуют		отсутствуют	отсутствуют
<i>S. aureus</i> в 0,01 г	отсутствуют		отсутствуют	отсутствуют

Таблица 3

Химические показатели мяса серебряного карася (n=3)

Показатели	Здоровая	Лернеоз	Лигулез	Лигулез и лернеоз
Вода, %	74,1	74,1	74,6	75,3
Белок, %	16,5	16,5	16,5	16,1
Зола, %	4,8	4,9	4,8	4,3
Жир, %	4,6	4,5	4,1	4,3
Сухое вещество, %	25,9	25,9	25,4	24,7

Бактериоскопия мазков-отпечатков показала, что препараты из мяса здоровой и инвазированной рыбы плохо окрашены, следов распада мышечной ткани не обнаружено. В поверхностных слоях здоровых рыб регистрировали единичные кокковые формы. При моноинвазиях микроорганизмы обнаруживали практически в каждом поле зрения. Наибольшее количество микроорганизмов отмечали в мазках, изготовленных в непосредственной близости от места внедрения *Lernaea cyprinacea*. В глубине мышечной ткани микроорганизмы отсутствовали.

Содержание микроорганизмов в мясе здорового леща и пораженного лигулезом, не выходило за пределы нормативного показателя, предусмотренного Техническим регламентом Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции» (ТР ЕАЭС 040/2016) для рыбы-сырец (свежей) и рыбы живой 5×10^4 КОЕ/г. В случаях поражения рыбы лернеозом и при смешанном течении инвазии, КМАФАнМ превышал нормативные значения, соответственно на $2,2 \times 10^4$ и $6,0 \times 10^4$ КОЕ/г. Необходимо отметить, что увеличение количества микроорганизмов в мясе рыбы, пораженной лернеями, отмечалось при ИИ свыше 8 паразитов на голову.

Результаты бактериологических исследований подтверждают нарушения обменных процессов, проходящих в организме пораженной рыбы и снижении ее резистентности.

Потребительское значение леща не имело достоверных различий в пищевой и энергетической ценности мяса здоровой и пораженной инвазией

рыбы. В целом показатели соответствуют нормативным данным, таблица 3.

Заключение

Проведенные исследования позволяют исключить негативное влияние изучаемых моно и микст-инвазий на органолептические показатели мяса леща, однако визуальный контроль паразитов снижает товароведную оценку рыбы.

Физико-химические и микробиологические показатели пораженной рыбы находятся на гребне нормативных требований. Причем, сочетанное воздействие *Ligula intestinalis* и *Lernaea cyprinacea* на организм рыбы оказывается сильнее, чем при моноинвазии и приводит к увеличению микробной контаминации выше допустимого предела.

Высокая микробная загрязненности мяса инвазированной рыбы создает угрозу возникновения у потребителя пищевых токсикоинфекций и токсикозов и требует обязательной высокотемпературной кулинарной обработки. Для малоценной рыбы, при выраженном нарушении товароведной оценки, показана утилизация или промышленная переработка.

Список литературы

1. Арбузова А. А. Лигулез рыб ветеринарно-санитарная экспертиза /Арбузова А. А. // Студенчество России: век XXI Материалы VI Всероссийской молодежной научно-практической конференции: в 4-х частях. Орёл, 2019. С. 122–127.
2. Бутко М. П. Инвазионные болезни рыб, опасные для человека и животных / Бутко М. П., Попов П. А., Лемясева С. В., Онищенко Д. А. // Проблемы ве-

ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2017. № 4 (24). С. 121–127.

3. Васильков Г. В. Паразитарные болезни рыб и санитарная оценка рыбной продукции: справочник / Г. В. Васильков. М.: ВНИРО, 2005. 269 с.

4. Дядюля А. И. Мониторинг инвазионных заболеваний рыб (по данным ветеринарно-санитарной экспертизы) на территории Краснодарского края / А. И. Дядюля, Т. С. Катаева // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: Сборник статей по материалам 73-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2017 год. Ответственный за выпуск А. Г. Кошаев. 2018. С. 160–162.

5. Казарникова А. В. Анализ эпизоотического состояния рыб дельты Дона и восточной части Таганрогского залива в современных условиях / А. В. Казарникова // Наука Юга России. 2021. Т. 17. № 1. С. 97–108.

6. Машникова Т. О. Ветеринарно-санитарная экспертиза рыбы при лигулезе / Т. О. Машникова // Российский паразитологический журнал. 2017. № 3. С. 249–252.

7. Однокурцев В. А. Паразитарные болезни рыб и их влияние на рыбную продукцию и здоровье человека / Однокурцев В. А., Апсолихова О. Д. // Альманах современной науки и образования. 2009. № 11–1. С. 150–153.

8. Петришко В. Ю. Инвазионные заболевания промысловых рыб, регистрируемые в акватории Ростовской области / В. Ю. Петришко, Г. Д. Фирсова // Вестник аграрной науки. 2017. № 6 (69). С. 70–76.

9. Федорова В. С. Ветеринарно-санитарная экспертиза рыбы при миксоспориidioзе, дифиллоботриозе и лигулезе / В. С. Федорова, Е. М. Петрова // Современные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса. Саратов, 2018. С. 296–300.

10. Яровая Л. Д. Мониторинг паразитарных болезней рыб (по данным ветеринарно-санитарной экспертизы) на территории Краснодарского края / Л. Д. Яровая, Д. А. Агабекян // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: сборник статей по материалам 72-й научно-практической конференции преподавателей по итогам НИР за 2016 г. 2017. С. 203–204.

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 31000 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



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