

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
Равилов Р. Х.,
проф., докт. вет. наук
Сулейманов С. М.,
проф., докт. вет. наук,
заслуж. деятель науки РФ
Яшин А. В.,
проф., докт. вет. наук
По вопросам рекламы
обращайтесь:
e-mail: virclin@mail.ru
Заявки на подписку (с любого
месяца) направляйте в редакцию
по факсу: (812) 232-55-92;
e-mail: invetbio@yandex.ru.
Телефон отдела подписки:
(812) 232-55-92
Верстка
Кондрашенков С. В.
Корректор
Суховой Д. А.
Журнал основан в 2009 г.
Учредитель и издатель:
ЧОУДПО «Институт
Ветеринарной Биологии»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Криворучко А.Ю., Сафарян Е.Ю., Каниболоцкая А.А., Спарикина Т.Ю.
Сравнительная оценка структуры генов Rem-1, MuoD1 у овец отечественных пород по разным сборкам в базе данных NCBI 3

МИКРОБИОЛОГИЯ

Желябовская Д.А., Шульга И.С., Лаврушина Л.А., Остякова М.Е.
Сравнительная оценка биологической эффективности штаммов *Bacillus thuringiensis* и препаратов на их основе в отношении личинок *Galleria mellonella* 10

ЭМБРИОЛОГИЯ

Кириенко К.В., Апрышко В.П., Яковенко С.А.
Технология клонирования сельскохозяйственных животных методом Hand-made Cloning (обзор литературы) 15

ПАЗАРИТОЛОГИЯ

Белова Л.М., Гаврилова Н.А.
Биологический способ борьбы с гамазовыми клещами змей 23
Деткова Е.А., Луцук С.Н.

Роль зоофильных мух в распространении телязиоза крупного рогатого скота в Лабинском районе Краснодарского края 26

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

Алиев А.А., Березкин В.А., Дресвянникова С.Г., Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Красков Д.А., Искендерова Н.Э., Лаврик А.А.
Контроль напряженности иммунитета животных, вакцинированных против бешенства, и рекомендации применения данного исследования в условиях Санкт-Петербурга 32
Макаров В.В., Барсуков О.Ю., Барсуков Ю.И., Лохмачёва С.В.
Лиссавирусы (краткий обзор литературы) 38

ДИАГНОСТИКА

Луговская Н.Н., Силантьева Е.А., Михалишин Д.В., Мороз Н.В., Малыгин М.П., Харитонова А.А., Доронин М.И., Гочмурадов Ы.М., Оковытая Т.В., Борисов А.В.
Диагностическая тест-система для выявления антител к структурным белкам вируса ящура генотипа Sat2/VI в жидкофазном блокирующем варианте ИФА 43
Малыгин М.П., Доронин М.И.

Тест-система опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса методом ОТ-ПЦР-РВ в сырье для изготовления культуральных вакцин 53
Прунтова О.В., Шадрова Н.Б.

Современные методы индикации и дифференциации бактерий рода *Salmonella* (обзор литературы) 61
Шумилин Ю.А.

Ультразвуковая диагностика беременности и развития плода у альпак 66

ФАРМАКОЛОГИЯ

Кастарнова Е.С., Оробец В.А., Киреев И.В., Скрипкин В.С.
Особенности новых лекарственных форм и задачи, выдвигаемые при создании новых систем и средств доставки 69
Кручинкина Т.В.

Оценка токсических свойств профилактического препарата для нормализации минерального обмена у крупного рогатого скота 76

Ромашова Е.Б.
Опыт применения современных инсектицидов группы Biff для борьбы с зоофильными мухами в условиях звероводческих хозяйств 80

Шульга И.С., Желябовская Д.А., Остякова М.Е., Горбачева И.Е.
Комплексное лекарственное средство для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний телят 84

ВЕТЕРИНАРНАЯ ХИРУРГИЯ

Нечаев А.Ю., Кудряшов А.А.
Случай саркомы брюшной стенки у волнистого попугая 90

ИНФОРМАЦИЯ

95 лет! Поздравляем юбиляра Заслуженного деятеля науки РФ, доктора ветеринарных наук, профессора Геннадия Александровича Кононова 94
215 лет Санкт-Петербургскому государственному университету ветеринарной медицины 99

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ ЗА 2023 ГОД 102

Издательство Института Ветеринарной Биологии

Адрес редакции/издателя: 197198, С.-Петербург, ул. Ораниенбаумская, д. 3-Б. Тел. (812) 232-55-92, тел./факс 232-88-61. E-mail: virclin@mail.ru. Сайт: www.invetbio.spb.ru
Подписано в печать 13.12.2023. Дата выхода: 19.12.2023. 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

MOLECULAR BIOLOGY

Krivoruchko A.Yu., Safaryan E.Yu., Kanibolotskaya A.A., Saprikina T.Yu.
Comparative evaluation of the structure of the Rem-1, MyoD1 genes in sheep of domestic breeds according to different assemblies in the NCBI database 3

MICROBIOLOGY

Zhelyabovskaya D.A., Shulga I.S., Lavrushina L.A., Ostyakova M.E.
Comparative evaluation of the biological efficacy of strains *Bacillus thuringiensis* and preparations based on them with regard to the larvae of *Galleria mellonella* 10

EMBRIOLOGY

Kirienko K.V., Apryshko V.P., Yakovenko S.A.
Farm animal cloning technology by Hand-made Cloning (literature review) 15

PARASITOLOGY

Belova L.M., Gavrilova N.A.
A biological way to combat gamase mites of snakes 23

Detkova E.A., Lutsuk S.N.
The role of zoophilic flies in the spread of bovine telesiosis in the Labinski district of the Krasnodarskiy Krai 26

EPIZOOTOLOGY

Aliev A.A., Berezkin V.A., Dresvyannikova S.G., Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Kraskov D.A., Iskenderova N.E., Lavrik A.A.
Control of immunity tension of animals vaccinated against rabies and recommendations for the use of this study in the conditions of St. Petersburg 32

Makarov V.V., Barsukov O.Yu., Barsukov Yu.I., Lokhmacheva S.V.
Lyssaviruses (brief literature review) 38

DIAGNOSTICS

Lugovskaya N.N., Silantyeva E.A., Mikhailishin D.V., Moroz N.V., Malygin M.P., Kharitonova A.A., Gochmuradov Y.M., Doronin M.I., Okovyntaya T.V., Borisov A.V.
Diagnostic test-system for detection of antibodies to structural proteins of FMD virus genotype Sat2/VII in the liquid-phase blocking elisa 43

Malygin M.P., Doronin M.I.
Test system for the indirect determination of the titer of infectious activity of alpha-coronavirus by RV-RT-PCR in raw materials for the manufacture of culture vaccines 53

Pruntova O.V., Shadrova N.B.
Modern methods for *Salmonella* identification and differentiation (literature review) 61

Shumilin Yu.A.
Ultrasound diagnostics of pregnancy and fetal development in alpacas 66

PHARMAKOLOGY

Kastarnova E.S., Orobets V.A., Kireev I.V., Skripkin V.S.
Features of new dosage forms and tasks put forward when creating new delivery systems and means 69

Kruchinkina T.V.
Assessment of the toxic properties of a preventive drug for normalization of mineral metabolism in cattle 76

Romashova E.B.
Experience of application of modern insecticides of the Buff group to combat zoophilic flies in the conditions of farm breedings 80

Shulga I.S., Zhelyabovskaya D.A., Ostyakova M.E., Gorbacheva I.E.
Complex medicinal product for the prevention and treatment of gastrointestinal diseases in calves 84

VETERINARY SURGERY

Nechaev A.Yu., Kudriashov A.A.
A case of abdominal wall sarcoma in a budgie 89

BIBLIOGRAPHIC INDEX OF ARTICLES PUBLISHED

IN THE JOURNAL IN 2023 102

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 13.12.2023. Issue date: 19.12.2023. 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: 10.24412/2074-5036-2023-4-3-9

УДК: 575.224.22

Ключевые слова: SNP, мутация, ген, Rem-1, MyoD1, сборка, референсный геном, база данных

Keywords: SNP, mutation, gene, Rem-1, MyoD1, assembly, reference genome, database

^{1,2}Криворучко А. Ю., ¹Сафарян Е.Ю., ¹Каниболоцкая А.А., ¹Саприкина Т. Ю.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРЫ ГЕНОВ REM-1, MYOD1
У ОВЕЦ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПОРОД ПО РАЗНЫМ СБОРКАМ
В БАЗЕ ДАННЫХ NCBI**

*COMPARATIVE EVALUATION OF THE STRUCTURE OF THE REM-1, MYOD1 GENES
IN SHEEP OF DOMESTIC BREEDS ACCORDING TO DIFFERENT ASSEMBLIES
IN THE NCBI DATABASE*

¹ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»

Адрес: 356241, Россия, Ставропольский край, Шпаковский район, г. Михайловск, ул. Никонова, д. 49.

*North Caucasus Federal Agrarian Research Centre**Address: 356241, Russia, Stavropol Territory, Shpakovsky district, Mikhailovsk, Nikonova str., 49.*²ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Адрес: 355017, Россия г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1.

*North Caucasus Federal University**Address: 355017, Russia, Stavropol, Pushkina str., 1.*

Криворучко Александр Юрьевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве СКФНАЦ; научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории молекулярно-генетической экспертизы СКФУ. E-mail: rcvm@yandex.ru

Krivoruchko Alexander Yurievich, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Livestock, NCFARC; Researcher, Research Laboratory of Molecular Genetic Expertise, NCFU. E-mail: rcvm@yandex.ru

Сафарян Елена Юрьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве. E-mail: telegina.helen@yandex.ru

Safaryan Elena Yurievna, PhD of Biological Sciences, Research Fellow, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Livestock. E-mail: telegina.helen@yandex.ru

Каниболоцкая Анастасия Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве. E-mail: dorohin.2012@inbox.ru

Kanibolotskaya Anastasia Alexandrovna, PhD of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Livestock. E-mail: rcvm@yandex.ru

Саприкина Татьяна Юрьевна, очный аспирант, младший научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве. E-mail: saprikina.tanya@mail.ru

Saprikina Tatyana Yurievna, Full-Time Postgraduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Livestock. E-mail: saprikina.tanya@mail.ru

Аннотация: Целью данной работы явилось сравнение и анализ структуры генов Rem-1 и MyoD1, функции которых напрямую связаны с развитием мышечной ткани. Исследование референсного генома проводилось между сборками oviAri 2.0, oviAri 4.0 и oviAri 3.1 в базе данных National Center for Biotechnology Information (NCBI). При сравнительном анализе структуры гена Rem-1 нами было проанализировано 15 однонуклеотидных замен и 26 замен в гене MyoD1. Ранее в наших работах были выявлены полиморфизмы в этих генах по сборке oviAri 3.1. Замены были обнаружены у овец отечественных пород. Проведенный анализ показывает отличия между сборками oviAri 2.0, oviAri 4.0, oviAri 3.1 генов Rem-1 и MyoD1 по длине генов, позиции SNP на хромосоме, наименовании SNP по номенклатуре. Необходимо дальнейшее изучение референсного генома Ovis aries, сборок oviAri 2.0, oviAri 4.0, oviAri 3.1 по другим генам, с целью подтверждения того, что найденные ранее замены не потеряли своей актуальности, располагаются в тех же областях гена и сохраняют свою функциональную нагрузку.

Summary: The purpose of this work was to compare and analyze the structure of the Rem-1 and MyoD1 genes, the functions of which are directly related to the development of muscle tissue. The reference genome study was conducted between the oviAri 2.0, oviAri 4.0 and oviAri 3.1 assemblies in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database. In a comparative analysis of the structure of the Rem-1 gene, we analyzed 15 single nucleotide substitutions

and 26 substitutions in the *MyoD1* gene. Earlier, in our work, polymorphisms in these genes were identified in the *oviAri 3.1* assembly. Substitutions were found in sheep of domestic breeds. The analysis performed shows differences between the *oviAri 2.0*, *oviAri 4.0*, and *oviAri 3.1* assemblies of the *Rem-1* and *MyoD1* genes in terms of gene length, SNP position on the chromosome, and SNP naming by nomenclature. Further study of the reference genome of *Ovis aries*, assemblies *oviAri 2.0*, *oviAri 4.0*, *oviAri 3.1*, is required to confirm that the substitutions found earlier have not lost their relevance, are located in the same regions of the gene and retain their functional load.

Введение

Основной задачей генетики и селекции в животноводстве является увеличение продуктивности сельскохозяйственных животных. Для решения этой проблемы используются фундаментальные знания о структуре генов и их функциях, связанных с конкретными хозяйственно-полезными признаками. Мировая практика животноводства демонстрирует стремительное внедрение методов селекции, основанных на информации об однонуклеотидных полиморфизмах (SNP, single nucleotide polymorphism). Однонуклеотидный полиморфизм является значимым генетическим маркером, который может быть связан с качественными и количественными признаками животных. Главной проблемой является нехватка знаний о регуляции работы генов и взаимосвязи функций их белковых продуктов [2, 3]. Для развития этого направления необходимо вести поиск новых полиморфизмов, ассоциированных с показателями продуктивности [5]. Также важно детально изучить гены-кандидаты, влияющие на продуктивные качества. Поэтому, в первую очередь поиск ведется среди тех генов, продукты которых регулируют рост и развитие мышечных волокон [12, 14].

На сегодняшний день существует ряд генов с доказанным влиянием на мясную продуктивность. Среди них можно выделить *MyoD1* и *Rem-1*. Действие *MyoD1* напрямую связано с дифференцировкой миосателлитов. Продукт экспрессии участвует в формировании мышечной ткани в эмбриональном и постэмбриональном развитии. Активирует работу генов, которые участвуют в дифференцировке клеток-предшественников мышечных волокон. Ген имеет важное значение в регуляции постнатальной миогенной программы стволовых клеток, обеспечивающей

регенерацию мышц [15, 16]. Белок *Rem-1* является членом семейства Ras-родственных мономерных GTPсвязывающих белков RGK (*Rem*, *Rem2*, *Rad*, *Gem/Kir*). Члены семейства белков RGK влияют на каналы Ca²⁺ L-типа. Общая функция L-каналов в мышцах заключается в сопряжении возбуждения и сокращения [6, 13]. Каналы L-CaV1.1 в скелетных мышцах функционируют как датчики напряжения [4]. Способность белка RGK ингибировать работу каналов CaV1.1 позволяет предположить, что он может нести атрофическую сигнализацию [7]. Таким образом, сверхэкспрессия гена *Rem-1* отрицательно влияет на морфологию культивируемых миоцитов [9]. Помимо мышечных волокон, белки RGK влияют на их сосудистые структуры. *Rem-1* функционирует как мощный морфогенный переключатель в эндотелиальных клетках. Его сверхэкспрессия в культивируемых эндотелиальных клетках приводит к развитию длинных цитоплазматических отростков и реорганизации актинового цитоскелета. На основании приведенных данных можно предположить, что ген *Rem-1* влияет на развитие мышечной ткани у сельскохозяйственных животных [8].

Для более детального изучения структуры генов, их локализации, информации по источникам литературы используются разные базы данных. Одной из популярных баз является Национальный центр биотехнологической информации (NCBI), предоставляющий бесплатный доступ к широкому спектру и большому объему данных о последовательностях генов, имеет большой список научной литературы. В систему входят данные по генетике, биохимии, молекулярной биологии, накопленные за продолжительный период и обновляются по настоящее время. Ученые NCBI анализируют предоставленные пользова-

Таблица 1

Длина гена *Rem-1* по сборкам *oviAri 3.1*, *oviAri 4.0*, *oviAri 2.0*

Rem-1 RRAD and GEM like GTPase 1 \ 13 хромосома	Сборка <i>oviAri 3.1</i>	Сборка <i>oviAri 4.0</i>	Сборка <i>oviAri 2.0</i>
Начало гена	60377529 п. н	60280595 п. н	60743296 п. н
Конец гена	60386368 п. н	60289691 п. н	60752464 п. н
Длина	8 839 п. н	9 096 п. н.	9 168 п. н.

Таблица 2

Длина гена *MyoD1* по сборкам *oviAri 3.1*, *oviAri 4.0*, *oviAri 2.0*

MyoD1 myogenic differentiation 1/ 15 хромосома	сборка <i>oviAri 3.1</i>	сборка <i>oviAri 4.0</i>	сборка <i>oviAri 2.0</i>
Начало гена	34368767 п. н.	34300872 п. н.	34553445 п. н.
Конец гена	34371464 п. н.	34303634 п. н.	34556239 п. н.
Длина	2 697 п. н.	2 762 п. н.	2 794 п. н.

телями информацию, создавая аннотации к генам и SNP, а также генерируя инструменты для выравнивания последовательностей. Геномный браузер NCBI, Genome Data Viewer (GDV) отображает аннотацию RefSeq; интегрирован с другими ресурсами NCBI, такими как Gene, dbGaP и BLAST, предоставляет платформу для индивидуального анализа и визуализации. Также в базе данных имеются разные версии сборок геномов многих видов животных, которые постоянно обновляются, в связи с увеличением генетической информации. Вследствие этого, возникают сложности с присвоением номенклатурных наименований SNP, длиной гена, установлением позиции SNP на хромосоме [10]. Геномная информация постоянно уточняется и обновляется в новых сборках, поэтому актуальным является исследование выявленных полиморфизмов в структуре генов.

Цель исследования: сравнение и анализ структуры генов *Rem-1*, *MyoD1* между сборками *oviAri 3.1*, *oviAri 4.0*, *oviAri 2.0*.

Материалы и методы исследования

Были проанализированы однонуклеотидные полиморфизмы, аминокислотная последовательность и длина генов *Rem-1* (RRAD and GEM like GTPase 1), *MyoD1* (myogenic differentiation 1) в базе данных National Center for Biotechnology Information (NCBI). Найденные SNP были ранее обнаружены нашей командой в этих генах по сборке *oviAri 3.1* [1, 11]. Сравнивали референсный геном *Ovis aries* сборка *oviAri 3.1*, референсный геном сборка *oviAri 4.0* и референсный геном сборка *oviAri 2.0* с помощью программного обеспечения GS Reference Mapper v. 2.9 (Roche NimbleGen, Inc., Madison, WI, USA). Для описания однонуклеотидных замен (SNP) использовалась номенклатура HGVS (Human Genome Variation Society).

Результаты исследований

В данной работе сравнивалась структура генов *Rem-1* и *MyoD1* между сборками *oviAri 2.0*, *4.0*, *3.1*. референного генома *Ovis aries*.

Таблица 3

Сравнение позиций по сборкам *oviAri 3.1*, *oviAri 4.0*, *oviAri 2.0* гена *Rem-1* у отечественных пород овец

№п/п	Полиморфизм	Позиция на хромосоме		
		Сборка <i>oviAri3.1</i>	Сборка <i>oviAri 4.0</i>	Сборка <i>oviAri 2.0</i>
1	rs422672664	60377329	60280313	60742963
2	rs399369974	60377331	60280315	60742965
3	rs412664524	60377382	60280366	60743016
4	rs160597902	60378910	60281894	60744659
5	rs160597918	60384484	60287468	60750245
6	rs429901478	60384593	60287577	60750354
7	rs162014594	60386359	60289343	60752118
8	rs160597933	60385591	60288575	60751352
9	rs430025624	60386488	60289472	60752247
10	rs406345963	60386561	60289545	60752320
11	rs419654490	60386569	60289553	60752328
12	rs400256352	60386700	60289684	60752457
13	rs409737434	60386794	60289778	60752552
14	rs419067546	60386842	60289826	60752600
15	rs399441812	60386991	60289975	60752749

Проанализировано 15 однонуклеотидных замен в гене Rem-1 и 26 замен в гене MyoD1. По сборке oviAri 3.1. данные полиморфизмы были ранее выявлены в наших работах у овец отечественных пород. Сравнение проводили по таким критериям, как длина гена, позиция SNP на хромосоме, идентификатор в базах данных, наименование замен по номенклатуре HGVS, аминокислотная замена.

Длина гена Rem-1 по сборке oviAri 2.0 на 72 пары нуклеотидов больше, чем по сборке oviAri 4.0 и на 329 пар нуклеотидов больше по сборке oviAri 3.1. (табл.1). Длина гена MyoD1 по сборке oviAri 2.0 на 32 пары нуклеотидов больше, чем по сборке oviAri 4.0 и на 97 пар нуклеотидов больше по сборке oviAri 3.1. (табл.2). Увеличение расстояния генов Rem-1 и MyoD1 по сборке oviAri 2.0 обусловлено более улучшенной расшифровкой генома.

Наименование замен в базе данных между сборками oviAri 3.1, oviAri 4.0, oviAri 2.0 по всем заменам гена Rem-1 совпадает (табл 3). Поскольку структура гена изменилась в новой сборке, соответственно и позиции замен поменяли свою локализацию. Так, например, 15 замен, найденные в гене Rem-1, имеющие позиции на хромосоме по сборке oviAri 3.1, передвинулись в сторону уменьшения на 97 016 п. н. по сборке oviAri 4.0. SNP с.-1417A>G, с.-1415T>G, с.-1364C>A, имеющие позиции на хромосоме 60377329, 60377331, 60377382 по сборке oviAri 3.1, передвинулись в сторону увеличения на 365 634 п. н. по сборке oviAri 2.0. Замена с.318T>C с позицией на хромосоме 60378910 по сборке oviAri 3.1, передвинулась на 365 749 п. н. по сборке oviAri 2.0.

Замены с.600G>A, с.709A>G, с.779-506 T>C, имеющие позиции на хромосоме 60384484, 60384593, 60385591 по сборке oviAri 3.1 сдвину-

Таблица 4

Сравнение позиций по сборкам oviAri 2.0, oviAri 4.0, oviAri 3.1 гена MyoD1 у отечественных пород овец

№	Полиморфизм	Позиция на хромосоме		
		сборка oviAri 3.1	Сборка oviAri 4.0	Сборка oviAri 2.0
1	rs404884444	34373234	34305404	34558046
2	rs424553252	34372928	34305098	34557740
3	rs406278149	34372809	34304979	34557621
4	rs1085975572	34372730	34304900	34557542
5	rs1093455700	34372725	34304895	34557510
6	rs412308724	34372357	34 304527	34557132
7	rs412662330	34372002	34304172	34556777
8	rs409662616	34371759	34303929	34556534
9	rs420129038	34371534	34303704	34556309
10	rs868996540	34370863	34303033	34555599
11	rs868996539	34370861	34303031	34555597
12	rs868996537	34370848	34303018	34555585
13	rs868996536	34370846	34303016	34555583
14	rs868996535	34370845	34303015	34555582
15	rs868996534	34370843	34303013	34555580
16	rs868996533	34370841	34303011	34555578
17	rs868996532	34370835	34303005	34555572
18	rs599663516	34370797	34302967	34555534
19	rs868996531	34370639	34302809	34555376
20	rs418127847	34368999	34301104	34553677
21	rs409089414	34368660	34300765	34553338
22	rs428554459	34368206	34300311	34552884
23	rs406127036	34367924	34300029	34552599
24	rs416501217	34367645	34299750	34552320
25	rs403138072	34367420	34299525	34552095
26	rs425865423	34367314	34299419	34551989

лись на 365 761 п. н. по сборке oviAri 2.0. SNP с.1041C>T, с.*120G>A, с.*193G>A, с.*201G>A с позициями на хромосоме 60386359, 60386488, 60386561, 60386569 сдвинулись на 365 759 п. н. по сборке oviAri 2.0. Замена с.*332G>C, имеющая позицию на хромосоме 60386700 по сборке oviAri 3.1, передвинулась на 365 757 п. н. по сборке oviAri 2.0. Замены с.*426T>C, с.*474G>A, с.*623T>C, имеющие позиции на хромосоме 60386794, 60386842, 60386991 по сборке oviAri 3.1, передвинулись на 365 758 п. н. по сборке oviAri 2.0. Позиции 60280313, 60280315, 60280366 по сборке oviAri 4.0. сдвинулись на 462 650 п. н. по сборке oviAri 2.0. Позиция 60281894 по сборке oviAri 4.0. сдвинулась на 462 765 п. н. по сборке oviAri 2.0. Позиции 60287468, 60287577, 60288575 по сборке oviAri 4.0. сдвинулись на 462 777 п. н. по сборке oviAri 2.0. Позиции 60289343, 60289472, 60289545, 60289553 по сборке oviAri 4.0. сдвинулись на 462 775 п. н. по сборке oviAri 2.0. Позиция 60289684 замены с.*332G>C по сборке oviAri 4.0. сдвинулась на 462 773 п. н. по сборке oviAri 2.0. Позиции 60289778, 60289826, 60289975 по сборке oviAri 4.0. сдвинулись на 462 774 п. н. по сборке oviAri 2.0.

Наименование замен в базе данных между сборками oviAri 2.0, oviAri 4.0, oviAri 3.1 по всем заменам гена MyoD1 совпадает (табл 4).

Обнаруженные замены (26 SNP) в гене MyoD1 в новой сборке, также поменяли местоположение. Так, 19 замен, обнаруженные на хромосоме 15 гена MyoD1 по сборке oviAri 3.1, по позиции передвинулись в сторону уменьшения на 67 830 п. н. и 7 замен на 67 895 п. н. по сборке oviAri 4.0. Разница между сборками oviAri 3.1 и oviAri 2.0 у замен с.-2112C>G, с.-1806A>G, с.-1687T>C, с.-1608C>T по позиции составляет 184 812 п. н., сдвинулись в сторону увеличения. У замен с.-1603G>T, с.-1235G>A, с.-880G>A, с.-637C>T, с.-412G>T разница между сборками по позиции составила 184 775 п. н., у замен с.259G>C и с.261C>T – 184 736 п. н. SNP с.274C>A, с.276C>G, с.277C>A, с.279C>T, с.281C>A, с.287C>A, с.325T>C, с.483C>T по сборке oviAri 3.1 сдвинулись на 184 737 п. н. по сборке oviAri 4.0. Замены с.*132 A>C, с.*471 G>C, с.*925 A>C, имеющие позиции 34368999, 34368660, 34368206, по сборке oviAri 3.1 сдвинулись на 184 678 п. н. Разница между сборками oviAri 3.1 и oviAri 2.0 у SNP с.*1207G>A, с.*1486 C>T, с.*1711 A>G, с.*1817 A>G по позиции составляет 184 675 п. н. В ходе сравнения сборки oviAri 4.0 и сборки oviAri 2.0 у замен с.-2112C>G, с.-1806A>G, с.1687T>C, с.-1608C>T разница по позиции составляет 252 642 п. н., у замены с.-1603G>T – 252 615 п.н. SNP с.-1235 G>A, с.-880 G>A, с.-637 C>T, с.-412 G>T, имеющие позиции на хромосоме 34304527,

Таблица 5

Наименование SNP по номенклатуре в разных сборках HGVS в гене Rem-1

№п/п	Полиморфизм	Наименование SNP по номенклатуре HGVS			Аминокислота (референс/полиморфизм)		
		Сборка oviAri 3.1	Сборка oviAri 4.0	Сборка oviAri 2.0	Сборка oviAri 3.1	Сборка oviAri 4.0	Сборка oviAri 2.0
1	rs422672664	с.-1417A>G	с.-1417A>G	с.-1532A>G	Не кодирующая область		
2	rs399369974	с.-1415T>G	с.-1415T>G	с.-1530T>G			
3	rs412664524	с.-1364C>A	с.-1364C>A	с.-1479C>A			
4	rs160597902	с.318T>C	с.318T>C	с.318T>C	P/P	P/P	P/P
5	rs160597918	с.600G>A	с.600G>A	с.600G>A	S/S	S/S	S/S
6	rs429901478	с.709A>G	с.709A>G	с.709A>G	N/D	N/D	N/D
7	rs162014594	с.1041C>T	с.1041C>T	с.1041C>T	A/A	A/A	A/A
8	rs160597933	с.779-506 T>C	с.779-506 T>C	с.779-506 T>C	Не кодирующая область		
9	rs430025624	с.*120G>A	с.*120G>A	с.*120G>A			
10	rs406345963	с.*193G>A	с.*193G>A	с.*193G>A			
11	rs419654490	с.*201G>A	с.*201G>A	с.*201G>A			
12	rs400256352	с.*332G>C	с.*332G>C	с.*330G>C			
13	rs409737434	с.*426T>C	с.*426T>C	с.*425T>C			
14	rs419067546	с.*474G>A	с.*474G>A	с.*473G>A			
15	rs399441812	с.*623T>C	с.*623T>C	с.*622T>C			

34304172, 34303929, 34303704 по сборке oviAgi 4.0 сдвинулись на 252 605 п. н. по сборке oviAgi 2.0. Разница между сборками по заменам с.259 G>C, с.261 C>T, имеющие позиции на хромосоме 34303033, 34303031 сдвинулись на 252 566 п. н. Разницу в 252 567 п. н. между сборками oviAgi 4.0 и oviAgi 2.0 по позициям имели 8 однонуклеотидных замен. Замены с*483 A>C, с*822 G>C, с*1276 A>C с позициями на хромосоме 34301104, 34300765, 34300311 по сборке oviAgi 4.0 сдвинулись на 252 573 п. н. по сборке oviAgi 2.0. Замены с*1558 G>A, с*1837 C>T, с*2062 A>G, с*2168 A>G, имеющие позиции на хромосоме 34300029, 34299750, 34299525, 34299419 по сборке oviAgi 4.0 сдвинулись на 252 570 п. н. по сборке oviAgi 2.0.

Наименованию SNP по номенклатуре HGVS в гене Rem-1 между сборками oviAgi 3.1 и oviAgi

4.0 не отличается. Между сборками oviAgi 4.0 и oviAgi 2.0 в ходе анализа были выявлены различия (табл. 5).

По сборке oviAgi 2.0 замены с.-1532A>G, с.-1530T>G, с.-1479C>A, расположенные в области 5'UTR, отличаются на 115 нуклеотидов по сборке oviAgi 4.0. В области экзона наименования между сборками совпадают. Замена с.*330G>C, расположенная в области 3'UTR по сборке oviAgi 2.0 отличается на 2 нуклеотида по сборке oviAgi 4.0. Замены с.*425T>C, с.*473G>A, с.*622T>C по сборке oviAgi 2.0 отличаются на 1 нуклеотид по сборке oviAgi 4.0. Описанные замены приводят к одинаковым изменениям аминокислотной цепи по трем сборкам.

Наименованию SNP по номенклатуре HGVS в гене MyoD1 между сборками oviAgi 3.1 и oviAgi 4.0 отличается в 3'UTR области (табл.6).

Таблица 6

Наименование SNP по номенклатуре в разных сборках HGVS в гене MyoD1

№	Полиморфизм	Наименование SNP по номенклатуре HGVS			Аминокислота (референс/полиморфизм)		
		Сборка oviAgi 3.1	Сборка oviAgi 4.0	Сборка oviAgi 2.0	Сборка oviAgi 3.1	Сборка oviAgi 4.0	Сборка oviAgi 2.0
1	rs404884444	с.-2112C>G	с.-2112 C>G	с.-2149 C>G	Не кодирующая область		
2	rs424553252	с.-1806A>G	с.-1806 A>G	с.-1843 A>G			
3	rs406278149	с.-1687T>C	с.-1687 T>C	с.-1724 T>C			
4	rs1085975572	с.-1608C>T	с.-1608C>T	с.-1645C>T			
5	rs1093455700	с.-1603G>T	с.-1603G>T	с.-1613G>T			
6	rs412308724	с.-1235G>A	с.-1235 G>A	с.-1235 G>A			
7	rs412662330	с.-880G>A	с.-880 G>A	с.-880 G>A			
8	rs409662616	с.-637C>T	с.-637 C>T	с.-637 C>T			
9	rs420129038	с.-412G>T	с.-412 G>T	с.-412 G>T			
10	rs868996540	с.259G>C	с.259 G>C	с.298 G>C	G\A	G\A	G\A
11	rs868996539	с.261C>T	с.261 C>T	с.300 C>T	R\C	R\C	R\C
12	rs868996537	с.274C>A	с.274 C>A	с.312 C>A	P\T	P\T	P\T
13	rs868996536	с.276C>G	с.276 C>G	с.314 C>G	P\T	P\T	P\T
14	rs868996535	с.277C>A	с.277 C>A	с.315 C>A	P\T	P\T	P\T
15	rs868996534	с.279C>T	с.279 C>T	с.317 C>T	P\T	P\T	P\T
16	rs868996533	с.281C>A	с.281 C>A	с.319 C>A	T\N	T\N	T\N
17	rs868996532	с.287C>A	с.287 C>A	с.325 C>A	A\D	A\D	A\D
18	rs599663516	с.325T>C	с.325 T>C	с.363 T>C	L\L	L\L	L\L
19	rs868996531	с.483C>T	с.483 C>T	с.521 C>T	A\A	A\A	A\A
20	rs418127847	с*132 A>C	с*483 A>C	с*486 A>C	Не кодирующая область		
21	rs409089414	с*471 G>C	с*822 G>C	с*825 G>C			
22	rs428554459	с*925 A>C	с*1276 A>C	с*1279 A>C			
23	rs406127036	с*1207G>A	с*1558 G>A	с*1564G>A			
24	rs416501217	с*1486 C>T	с*1837 C>T	с*1843 C>T			
25	rs403138072	с*1711 A>G	с*2062 A>G	с*2068 A>G			
26	rs425865423	с*1817 A>G	с*2168 A>G	с*2174 A>G			

По сборке oviAgi 3.1 замены с*132A>C, с*471G>C, с*925A>C, с*1207G>A, с*1486C>T, с*1711A>G, с*1817A>G отличаются на 351 нуклеотид по сборке oviAgi 4.0. Наименованию SNP по номенклатуре HGVS в гене MyoD1 между сборками oviAgi 4.0 и oviAgi 2.0 значительно отличаются. По сборке oviAgi 4.0 в 5'UTR области замены с.-2112C>G, с.-1806A>G, с.-1687T>C, с.-1608C>T отличаются на 37 нуклеотидов, замена с.-1603G>T отличается на 10 нуклеотидов по сборке oviAgi 2.0. В области экзона по сборке oviAgi 4.0 замены с.259G>C, с.261C>T отличаются на 37 нуклеотидов по сборке oviAgi 2.0. Замены с.274 C>A, с.276 C>G, с.277 C>A, с.279 C>T, с.281 C>A, с.287 C>A, с.325 T>C, с.483 C>T по сборке oviAgi 4.0 отличаются на 38 нуклеотидов по сборке oviAgi 2.0. По сборке oviAgi 4.0 в 3'UTR области замены с*483A>C, с*822G>C, с*1276 A>C отличаются на 3 нуклеотида по сборке oviAgi 2.0. По сборке oviAgi 4.0 замены с*1558 G>A, с*1837 C>T, с*2062 A>G, с*2168 A>G отличаются на 6 нуклеотидов по сборке oviAgi 2.0. Описанные замены приводят к одинаковым изменениям аминокислотной цепи по трем сборкам.

Заключение

При сравнительном анализе структуры генов Rem-1 и MyoD1 в базах данных NCBI между сборками oviAgi 3.1, oviAgi 4.0 и oviAgi 2.0 были обнаружены отличия. Увеличение длины генов Rem-1 и MyoD1 по сборке oviAgi 2.0 обусловлено более полной расшифровкой генома. Наименование замен в базе данных между сборками oviAgi 3.1, oviAgi 4.0, oviAgi 2.0 по всем заменам в генах Rem-1 и MyoD1 совпадает. Описанные замены приводят к одинаковым изменениям аминокислотной цепи по трем сборкам. Так как длина генов увеличилась в новой сборке, соответственно и позиции замен в генах Rem-1 и MyoD1 поменяли свою локализацию. Проведенное исследование свидетельствует о незначительном различии между сборками oviAgi 3.1, oviAgi 4.0 и oviAgi 2.0. Найденные ранее нами замены в генах Rem-1 и MyoD1 не потеряли своей актуальности, располагаются в тех же областях гена и сохраняют свою функциональную нагрузку. Однако, по версии oviAgi 2.0. структура генома представлена в более расширенном и детальном варианте. В связи этим, необходимо провести дальнейший сравнительный анализ по другим генам сборок oviAgi 2.0, oviAgi 4.0, oviAgi 3.1, так как это имеет важное значение для правильного использования информации более ранних исследований проведенных при картировании генов по сборке oviAgi 3.1.

Список литературы

1. Телегина Е. Ю. Однонуклеотидные замены в гене MYOD1 у овец северокавказской породы. / Е. Ю. Телегина, А. Ю. Криворучко, В. С. Скрипкин, О. А. Яцьк // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2017, № 2, С. 53–57.
2. Хлесткина Е. К. Маркёр-ориентированная селекция и примеры ее использования в мировом картофелеводстве / Е. К. Хлесткина, В. К. Шумный, Н. А. Колчанов // Достижения науки и техники АПК. 2016. № 10. С. 5–8.
3. Яковлев А. Ф. ДНК-технологии в селекции сельскохозяйственных животных / А. Ф. Яковлев, М. Г. Смарагдов, В. С. Матюков // Достижения науки и техники АПК. 2011. № 8. С. 49–51.
4. Bers D. M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. / D. M. Bers // Annu. Rev. Physiol. 2008, 70:23–49.
5. Betti S. Identification of lncRNAs expression and their regulatory networks associated with development and growth of skeletal muscle in sheep using RNA-Seq. / S. Betti, M. Tahmoorespur, A. Javadmanesh // Agr. Nat. Resour. 2022, 56:373–386.
6. Finlin B. Regulation of voltage-gated calcium channel activity by the Rem and Rad GTPases. / B. Finlin, S. Crump, J. Satin, D. Andres // Proc. Natl. Acad. Sci. 2003; 100:14469–14474.
7. Melnikov K. The variety and properties of calcium channels of excitable membranes. / K. Melnikov, T. Kernan // Psychopharmacol. Biol. Narcology. 2006, 6:1139–1155.
8. Pan J. Ges, a human GTPase of the Rad/Gem/Kir family, promotes endothelial cell sprouting and cytoskeleton reorganization. / J. Pan, W. Fieles, A. White, M. Egerton et al. // J. Cell Biol. 2000, 149:1107–1115.
9. Romberg C. RGK protein-mediated impairment of slow depolarization-dependent Ca²⁺ entry into developing myotubes. / C. Romberg, D. Beqollari, U. Meza, R. Bannister // Channels. 2014, 8: 243–248.
10. Sanjida H. H. Rangwala. Accessing NCBI data using the NCBI Sequence Viewer and Genome Data Viewer (GDV). / H. Rangwala, A. Kuznetsov, V. Ananiev, A. Asztalos et al. // Published by Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2021, 31:159–169.
11. Trukhachev V. The polymorphism of Rem-1 gene in sheep genome and its influence on some parameters of meat productivity / V. Trukhachev, V. Skripkin, M. Selionova, O. Yatsyk, A. Krivoruchko // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. V. 7. № 3. P. 2351–2357.
12. Wen Y. Comparative Transcriptome Analysis Reveals the Mechanism Associated With Dynamic Changes in Meat Quality of the Longissimus Thoracis Muscle in Tibetan Sheep at Different Growth Stages / Y. Wen, S. Li, G. Bao, J. Wang, X. Liu et al. // Sec. Animal Nutrition and Metabolism. 2022. V. 9. P. 1–15.
13. Yang T. Rem, a member of the RGK GTPases, inhibits recombinant Ca^v1.2 channels using multiple mechanisms that require distinct conformations of the GTPase / T. Yang, X. Xu, T. Kernan, V. Wu, H. Colecraft // J. Physiol. 2010. 588: 1665–1681.
14. Yilmaz, O. Genome-wide association studies of preweaning growth and in vivo carcass composition traits in Esme sheep / O. Yilmaz, M. Kizilaslan, Y. Arzik et al. // J Anim Breed Genet. 2021. P. 1–14.
15. Zammit P. S. Myf5 expression in satellite cells and spindles in adult muscle is controlled by separate genetic elements / P. S. Zammit, J. J. Carvajal, J. P. Golding et al. // Developmental Biology. 2004. V. 273. № 2. P. 454–465.
16. Zhao P. Embryonic Myogenesis Pathways in Muscle Regeneration / P. Zhao, E. P. Hoffman // Developmental Dynamics. 2004. V. 229. № 2. P. 380–392.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-10-14

УДК: 619:616.98:578.853.1

Ключевые слова: *Galleria mellonella*, штаммы *Bacillus thuringiensis*, «Антигаллерин», «Лепидоцид», «Битоксибациллин»

Keywords: larvae *Galleria mellonella*, strains *Bacillus thuringiensis*, “Antigallerin”, “Lepidocid”, “Bitoxibacillin”

Желябовская Д. А., Шульга И. С., Лаврушина Л. А., Остякова М. Е.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ШТАММОВ *BACILLUS THURINGIENSIS* И ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ В ОТНОШЕНИИ

ЛИЧИНОК *GALLERIA MELLONELLA*

COMPARATIVE EVALUATION OF THE BIOLOGICAL EFFICACY OF STRAINS *BACILLUS THURINGIENSIS* AND PREPARATIONS BASED ON THEM WITH REGARD TO THE LARVAE OF *GALLERIA MELLONELLA*

ФГБНУ «Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт».

Адрес: 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Северная, д. 112

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

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

Желябовская Дина Анатольевна, кандидат биологических наук, заведующая отделом микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Zhelyabovskaya Dina Anatolyevna, PhD of Biological Sciences, Head of Department of Microbiology, Virology and Immunology. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Шульга Ирина Станиславовна, кандидат биологических наук, заместитель директора по науке. E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Shulga Irina Stanislavovna, PhD of Biological Sciences, Deputy Director for Science.

E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru.

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

E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru.

Lavrushina Lyubov Anatolyevna, Staff Scientist of Department of Microbiology, Virology and Immunology.

E-mail: dalznivilabmicro@mail.ru.

Остякова Марина Евгеньевна, доктор биологических наук, доцент, директор.

Ostyakova Marina Evgenievna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Director.

Аннотация. Важнейшая отрасль сельского хозяйства Дальневосточного федерального округа – пчеловодство. Опасный вредитель медоносной пчелы – большая восковая моль. Наиболее перспективным методом борьбы является применение биоинсектицидов. В качестве основы для биологических инсектицидов широко используются спорообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis*. Штаммы одного и того же вида *Bacillus thuringiensis*, обладают разными уровнями патогенности к личинкам различных насекомых. Произведено изучение инсектицидной активности разных энтомопатогенных препаратов, содержащих в своем составе культуру *Bacillus thuringiensis*. Исследования доказывают высокую энтомопатогенную активность опытного препарата «Антигаллерин» и его специфичность в отношении личинок большой восковой моли в сравнении с препаратами «Лепидоцид» и «Битоксибациллин». Так же проведена оценка инсектицидной активности музейных коллекционных штаммов *B. thuringiensis* за восьмилетний период хранения. Выявлено, что перспективность применения штаммов *B. thuringiensis* 00045, *B. thuringiensis* 851 и *B. thuringiensis* 859 для борьбы с восковой молью остается актуальной.

Summary. The most important branch of agriculture in the Far Eastern Federal District is beekeeping. The large wax moth is a dangerous pest of the honey bee. The most promising method of control is the use of bioinsecticides. The spore-forming bacteria *Bacillus thuringiensis* are widely used as the basis for biological insecticides. The strains of the same species of *Bacillus thuringiensis* have different levels of pathogenicity to the larvae of various insects. The insecticidal activity of various entomopathogenic preparations containing the *Bacillus thuringiensis* culture was analyzed. Our study has proved a high entomopathogenic activity of the experimental drug “Antigallerin” and its specificity against the larvae of the large wax moth in comparison with the drugs “Lepidocide” and “Bitoxibacillin”. The insecticidal activity of museum collection strains of *B. thuringiensis* over an eight-year storage period was also evaluated. It was revealed that the prospects for the use of strains *B. thuringiensis* 00045, *B. thuringiensis* 851 and *B. thuringiensis* 859 for the fight against the wax moth remain relevant.

Введение

Климатические условия Дальневосточного федерального округа позволяют заниматься одной из важнейших отраслей сельского хозяйства – пчеловодством. Однако, условия благоприятны так же и для развития одного из опасных вредителей медоносных пчел – большой восковой моли. Личинки моли поражают пчелиные семьи, результатом чего является снижение их продуктивности, гибель расплода и в итоге оставление пчелами своих ульев [2].

Для борьбы с личинками большой восковой моли применяют химические инсектициды. Применение данного метода связано со снижением качества и безопасности продуктов питания человека, с нанесением вреда окружающей среде и, следовательно, с негативным воздействием на экологическое благополучие экосистем [8]. Также, несмотря на большое разнообразие и разную структуру химических веществ, применяемых для борьбы с насекомыми, при воздействии одним классом инсектицидных препаратов возникает кросс-резистентность к препаратам других классов. При этом кросс-резистентность может формироваться к химическим веществам, которые ранее не применялись [11].

В условиях органического пчеловодства наиболее перспективным является применение альтернативного метода – использование биологических мер борьбы с *Galleria mellonella*. Таким методом является применение биоинсектицидов. Они содержат микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности. Биоинсектициды экологически безопасны, избирательно действуют на личинок чешуекрылых, безвредны для людей и теплокровных животных, отличаются высокой степенью эффективности и экологичностью, так как не обладают токсичными свойствами для теплокровных животных [1]. В качестве основы для биологических инсектицидов – современной экологически и социально приоритетной альтернативы химическим пестицидам – в настоящее время широко используются спорообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* [3].

В отделе микробиологии ФГБНУ ДальЗНИ-ВИ на основе спорово-кристаллического комплекса штамма *Bacillus thuringiensis* 846-Bt, запатентованного под номером RCAM 00045 [10], разработан опытный биоинсектицид для борьбы с большой восковой молью – «Антигаллерин», обладающий высокой энтомопатогенной активностью против личинок *Galleria mellonella* [12].

Известно, что белки параспоральных кристаллов энтомопатогенной бактерии *B. thuringiensis*

(δ -эндотоксины) проявляют высокоспецифичную активность против ряда насекомых, нематод, клещей и поэтому являются основным токсическим компонентом биопестицидов [4].

Однако разные штаммы одного и того же вида *Bacillus thuringiensis* могут обладать разными уровнями патогенности к личинкам различных насекомых [9]. Поэтому мы провели сравнительную оценку инсектицидной активности экспериментального препарата «Антигаллерин» на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 и отечественных препаратов «Лепидоцид» и «Битоксибациллин», которые являются основой экологически безопасной защиты от насекомых-вредителей, в том числе молей и огневков.

Также, по мнению некоторых исследователей, при длительных пересевах энтомопатогенных штаммов *Bacillus thuringiensis* бактерии способны снижать, а зачастую и терять свою энтомопатогенную активность в процессе хранения [6]. В связи с этим фактом принято решение о проведении сравнения инсектицидной активности штаммов *Bacillus thuringiensis*, находящихся на хранении в отделе в течение восьми лет.

Цель исследования – провести сравнительную оценку биологической эффективности опытного препарата «Антигаллерин», препаратов «Лепидоцид», «Битоксибациллин», а также коллекционных штаммов *Bacillus thuringiensis*, находящихся на длительном хранении.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили выделенные и идентифицированные ранее штаммы *B. thuringiensis*: Bt RCAM 00045, Bt 850, Bt 851 и Bt 859, а также опытный образец препарата на основе штамма Bt RCAM 00045 «Антигаллерин». Исследуемые отечественные биологические препараты «Лепидоцид» и «Битоксибациллин» разработаны на основе *B. thuringiensis* var. *kurstaki* и *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* соответственно.

Испытание инсектицидной активности культур и препарата проводили в лабораторных условиях в соответствии с методическими рекомендациями [5] и методическими указаниями [7].

Для получения опытного препарата проводили культивирование бактерий штамма *Bacillus thuringiensis* ВНИИСХМ RCAM 00045 на МПА в аэробных условиях. Учитывали инсектицидную активность культуры *Bacillus thuringiensis*. Отбирали культуры со 100 %-ной инсектицидной активностью в отношении личинок большой восковой моли.

В процессе работы изготавливали мазки культуры, окрашивали их и методом световой

микроскопии определяли способность культуры к образованию белковых кристаллов. Действующее начало препарата – спорово-кристаллический комплекс *Bacillus thuringiensis* ВНИИСХМ РСАМ 00045. Полученный опытный инсектицидный препарат представляет собой однородный порошок светло-серого цвета.

Для проведения эксперимента по выявлению инсектицидной активности в отношении личинок большой восковой моли опытного биоинсектицида «Антигаллерин» и препаратов «Лепидоцид» и «Битоксибациллин» были сформированы контрольная и три опытных группы по 10 личинок в каждой. Для заражения личинок восковой моли использовали вошину, предварительно обработанную суспензией испытуемого препарата «Антигаллерин». Разведение препаратов «Лепидоцид» и «Битоксибациллин» проводили согласно инструкции по их применению. Личинкам, принадлежащим контрольной группе, скармливали необработанное восковое сырье. Гибель тест-объектов учитывали в течение 10 суток. Эксперимент проведен в трех повторностях.

Для проведения исследования по изучению инсектицидной активности штаммов *Bacillus thuringiensis*: Bt РСАМ 00045, Bt 850, Bt 851 и Bt 859, находящихся в коллекции культур научно-исследовательского института, были сформированы контрольная и пять опытных групп по 10 личинок большой восковой моли в каждой. Эксперимент также проведен в трех повторностях.

Заражение личинок проводили перорально, методом свободного поедания воскового

сырья, предварительно обработанного спорово-кристаллическим комплексом исследуемых штаммов *Bacillus thuringiensis*, хранение которых осуществляли в течение восьми лет. На начальной стадии хранения инсектицидная активность составляла 100 % штаммов *Bacillus thuringiensis*.

Обработанный и высушенный корм в количестве 3–5 г помещали в стерильные чашки Петри и подсаживали в каждую по 10 личинок восковой моли одного возраста. Тест-объектам контрольной группы скармливали необработанное восковое сырье. Гибель гусениц учитывали в течение 10 суток.

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

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты сравнения инсектицидной активности экспериментального препарата «Антигаллерин» и отечественных препаратов «Лепидоцид» и «Битоксибациллин» отражены в таблице 1.

Массовая гибель личинок большой восковой моли в группе, где использовали препарат «Антигаллерин»? началась на второй-третий день после постановки эксперимента и в итоге оказалась в первой и второй повторностях эксперимента 100 %-ной и в третьей повторности – 90 %-ной (Табл. 1).

В группах, где применяли «Лепидоцид» и «Битоксибациллин», смертность личинок большой восковой моли была незначительной, всего 5 и 12 тест-объектов соответственно за весь период на-

Таблица 1

Инсектицидная активность экспериментального препарата «Антигаллерин» и отечественных препаратов «Лепидоцид» и «Битоксибациллин»

Испытуемый препарат	Повторность	Количество тест-объектов в опыте, шт.	Учет гибели личинок, сут., шт.					Инсектицидная активность по Абботу, %
			3	5	7	10	за 10 сут.	
«Антигаллерин»	1	10	6	4	0	0	10	96,6
	2	10	5	3	2	0	10	
	3	10	4	2	3	0	9	
«Лепидоцид»	1	10	0	0	0	1	1	16,6
	2	10	0	0	1	1	2	
	3	10	0	0	2	0	2	
«Битоксибациллин»	1	10	0	1	3	1	5	40,0
	2	10	0	0	2	1	3	
	3	10	0	1	1	2	4	
Контроль	1	10	0	0	0	0	0	–
	2	10	0	0	0	0	0	
	3	10	0	0	0	0	0	

блюдения, остальные личинки выжили и продолжили свой цикл развития.

В контроле личинки активно потребляли корм, были подвижны, по мере завершения цикла развития превращались в куколки, из которых впоследствии выводились бабочки большой восковой моли. Гибели тест-объектов в контрольных группах не наблюдалось.

Инсектицидная активность по Абботу препарата «Антигаллерин» составила 96,6 %. У препарата «Битоксибациллин» активность была меньше в 2,4 раза, а у «Лепидоцида» – в 5,8 раза по сравнению с опытным препаратом «Антигаллерин».

При этом гибель тест-объектов после воздействия на них опытным препаратом «Антигаллерин» наблюдалась преимущественно с третьего по седьмой день эксперимента, а личинки большой восковой моли после воздействия на них препаратами «Битоксибациллин» и «Лепидоцид» гибель насекомых отслеживалась с пятого по десятый дни опыта.

Сравнительное изучение инсектицидной активности разных энтомопатогенных препаратов, содержащих в своем составе культуру *Bacillus thuringiensis*, доказывает высокую энтомопатогенную активность препарата «Антигаллерин» и его специфичность в отношении личинок большой восковой моли.

Инсектицидная активность штаммов *Bacillus thuringiensis*, отобранных для хранения в отделе научно-исследовательского института, была 100 %-ной, поэтому полученные экспериментальные данные по инсектицидной активности коллекционных штаммов *Bacillus thuringiensis* сравнили со 100 %-ным результатом (табл. 2).

Гибель личинок большой восковой моли во всех опытных группах началась на второй-третий день после постановки эксперимента. Личинки контрольных групп были активными, подвижными и впоследствии продолжали свой цикл развития. Гибели личинок восковой моли в контроле не наблюдали.

Анализ таблицы 2 показал, что в процессе хранения коллекционных штаммов, через восемь лет 100 %-ная инсектицидная активность сохранилась только у двух штаммов: Bt RCAM 00045 и Bt 851. У штамма *B. thuringiensis* 850 инсектицидная активность снизилась 26,7%, у штамма *B. thuringiensis* 859 – на 6,7 % от первоначальной, 100 %-ной активности по Абботу. Несмотря на некоторое снижение инсектицидной активности у коллекционных штаммов *B. thuringiensis* за прошедшие восемь лет, у штаммов *B. thuringiensis* RCAM 00045, *B. thuringiensis* 851 и *B. thuringiensis* 859 перспективность их применения для борьбы с восковой молью остается актуальной.

Таблица 2

Сравнительная характеристика инсектицидной активности коллекционных штаммов *Bacillus thuringiensis*

Испытуемый штамм <i>Bacillus thuringiensis</i>	Инсектицидная активность по Абботу в начале хранения, %	Повторность	Количество насекомых в опыте, шт.	Учет гибели личинок за 10 суток	Инсектицидная активность по Абботу через 8 лет хранения, %
<i>B. thuringiensis</i> RCAM 00045	100	1	10	10	100
		2	10	10	
		3	10	10	
<i>B. thuringiensis</i> 850	100	1	10	8	73,3
		2	10	6	
		3	10	8	
<i>B. thuringiensis</i> 851	100	1	10	10	100
		2	10	10	
		3	10	10	
<i>B. thuringiensis</i> 859	100	1	10	10	93,3
		2	10	9	
		3	10	9	
Контроль	–	1	10	0	–
		2	10	0	
		3	10	0	

Закключение

При изучении сравнительной оценки инсектицидной препарата «Антигаллерин» на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 и отечественных препаратов «Лепидоцид» и «Битоксибациллин» установлено, что инсектицидная активность препарата «Антигаллерин» составила 96,6 %. У препарата «Битоксибациллин» и «Лепидоцида» активность была ниже в 2,4 и в 5,8 раза по сравнению препаратом «Антигаллерин». Наблюдаем высокоспецифичность инсектицидного действия и высокую энтомопатогенную активность опытного препарата «Антигаллерин» в отношении личинок *Galleria mellonella*.

В процессе хранения музейных коллекционных штаммов *B. thuringiensis*, за восьмилетний период сохранность 100 %-ной инсектицидной активности наблюдалась у двух штаммов: *B. thuringiensis* RCAM 00045 и *B. thuringiensis* 851. У штамма *B. thuringiensis* 850 произошло снижение данного показателя на 26,7%, у *B. thuringiensis* 859 – на 6,7 % от первоначальной 100 %-ной активности, но эффективность коллекционных штаммов в отношении личинок восковой моли является довольно высокой и не становится ниже отметки в 70%. Таким образом, перспективность применения штаммов *B. thuringiensis* 00045, Bt 851 и Bt 859 для борьбы с восковой молью остается актуальной.

Список литературы

1. Бойкова И. В. Биологическая эффективность новых препаративных форм биоинсектицида на основе *Bacillus thuringiensis* против колорадского жука / И. В. Бойкова, И. И. Новикова, С. Р. Фасулати, В. А. Павлюшин // Вестник защиты растений, 2012. № 4. С. 57–60.
2. Гробов О. Ф. Болезни и вредители медоносных пчел: Справочник / О. Ф. Гробов, А. М. Смирнов, Е. Г. Попов. М.: Агропромиздат, 1987. 334 с.
3. Ермолова В. П. Инсектицидные свойства *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Сообщение I: Спектр дей-

ствия ларвицидного препарата на основе производственного штамма 7-1/23А / В. П. Ермолова, С. Д. Гричешкина, А. М. Рахман, К. С. Антонец, М. Е. Белоусова, В. В. Яхно, А. А. Нижников // Сельскохозяйственная биология, 2019. Т. 54. № 6. С. 1267–1280.

4. Климентова Е. Г. Антибиотическое действие белков параспоральных кристаллов *Bacillus thuringiensis* на условно патогенные бактерии микробиоты толстого кишечника животных / Е. Г. Климентова, Т. Г. Юдина, Д. А. Васильев, Н. А. Феоктистова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2012. № 4(16). С. 12–16.

5. Кольчевский А. Г. Выделение и отбор высоковирулентных культур *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*: методические рекомендации / А. Г. Кольчевский [и др.]; ВНИИ защиты растений. Л., 1987. 21с.

6. Крыжко А. В. Выделение и изучение новых высокоактивных штаммов *Bacillus thuringiensis* / А. А. Крыжко, Л. Н. Кузнецова // Таврический вестник аграрной науки, 2016. № 4(8). С. 30–36.

7. Лескова А. Я. Идентификация культур *Bacillus thuringiensis* и оценка их патогенных свойств: метод. указания / А. Я. Лескова [и др.]; ВНИИ защиты растений, ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Л., 1984. 20 с.

8. Липатников К. В. Изучение ларвицидной активности производных гетариламмония / К. В. Липатников, Ф. В. Собин, Н. А. Пулина, И. П. Рудакова // Фармация, 2017. Т. 66. № 4. С. 45–47.

9. Лозовская М. В. Оценка биологической активности некоторых коллекционных штаммов *Bacillus thuringiensis* по отношению к личинкам чешуекрылых на модельном объекте *Galleria mellonella* / М. В. Лозовская, И. И. Новикова, И. В. Бойкова, Н. В. Смирнова, М. И. Пироговский, А. С. Павленко, Г. А. Кузнецова // Естественные науки, 2014. № 4 (49). С. 95–100.

10. Пат. 2453595 Российская Федерация, МПК C12N 1/20 Штамм бактерий *Bacillus thuringiensis* для получения биоинсектицида для борьбы с большой восковой молью / Н. Е. Горковенко, Ю. А. Макаров, В. А. Серебрякова; Заявитель и патентообладатель Дальневосточный зон. науч.-исслед. ветеринар. ин-т. – № 2011110498/10; опубл. 20.06.2012, Бюл. № 17. 4 с.

11. Соколянская М. П. Кросс-резистентность устойчивых к битоксибациллину линий комнатной мухи *Musca Domestica* / М. П. Соколянская // Вестник защиты растений, 2018. № 1 (95). С. 57–60.

12. Шульга И. С. Сравнительная оценка эффективности препаратов против большой восковой моли / И. С. Шульга, Д. А. Желябовская, Л. А. Лаврушина, И. Е. Горбачева // Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2020. № 3 (47). С. 57–60.

Хотите быть в курсе всех новостей журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии»? – вступайте в группу в ВК

<https://vk.com/ivbspbed>

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-15-22

УДК: 591.392

Ключевые слова: клонирование, перенос ядра соматической клетки, эмбрион, Hand-made Cloning
 Key words: cloning, somatic cell nuclear transfer, embryo, Hand-made Cloning

¹Кириенко К. В., ¹Апрышко В. П., ^{1,2} Яковенко С. А.

**ТЕХНОЛОГИЯ КЛОНИРОВАНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ
 МЕТОДОМ HAND-MADE CLONING
 (обзор литературы)**

*FARM ANIMAL CLONING TECHNOLOGY BY HAND-MADE CLONING
 (literature review)*

¹Биотехнологическая лаборатория «Альтраген» (ООО «Альтраген»)
 Адрес: 352333, Краснодарский край, г. Усть-Лабинск, ул. Тельмана, д. 47
Biotechnological laboratory "Altragen" ("Altragen" LLC)

Address: 352333, Krasnodarsky Krai, Ust-Labinsk, Telmana st., 47

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова».

Адрес: 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 2.

Moscow State University named after M. V. Lomonosov.

Address: Leninskie Gory, 1 bld. 2, Moscow, 119991, Russian Federation

Кириенко Константин Владимирович; к. б. н.; ведущий эмбриолог.

E-mail: kkiriyenko@rambler.ru

Kirienko Konstantin Vladimirovich; PhD of Biological Sciences; Leading Embryologist.

E-mail: kkiriyenko@ramblerru

Апрышко Валентина Петровна; к. б. н.; ведущий эмбриолог.

E-mail: supermycolog@mail.ru

Apryshko Valentina Petrovna; PhD of Biological Sciences; Leading Embryologist.

E-mail: supermycolog@mail.ru

Яковенко Сергей Александрович; к. ф.-м. н.; ведущий эмбриолог биотехнологической
 лаборатории «Альтраген»; научный сотрудник МГУ им. М. В. Ломоносова, физический факультет,
 кафедра биофизики. E-mail: altravita@mail.ru

*Yakovenko Sergey Aleksandrovich, PhD of Physical and Mathematical Sciences; Leading Embryologist
 of the Biotechnological Laboratory "Altragen"; Researcher of Moscow State University, Faculty of Physics,
 Biophysics Department. E-mail: altravita@mail.ru*

Аннотация: Тема настоящего обзора посвящена технике Hand-made Cloning, т. е. технике «ручного» клонирования, которая является альтернативным методом переноса ядер соматических клеток. Классический метод ядерного переноса с целью получения клонированных животных требует использования дорогостоящего и сложного оборудования, в том числе инвертированного микроскопа и микроманипуляторов. Инновационный подход техники Hand-made Cloning подразумевает манипулирование с ооцитами и эмбрионами, лишенными блестящей оболочки, так как удаление *zona pellucida* существенно облегчает и ускоряет отдельные этапы технологии клонирования, что приводит к сравнимому, или даже более высокому уровню рождаемости, чем при использовании традиционного клонирования. Применение Hand-made Cloning радикально снижает затраты на приобретение дорогостоящего оборудования и потребность в квалифицированной рабочей силе. Кроме того, техника Hand-made Cloning позволяет интенсифицировать производственный процесс получения клонированных эмбрионов и увеличить эффективность технологии клонирования в целом.

Summary: The topic of this review is devoted to the Hand-made Cloning technique, i.e. the technique of "manual" cloning, which is an alternative method of somatic cells nuclear transfer. The classical method of nuclear transfer to obtain cloned animals requires the use of expensive and sophisticated equipment, including an inverted microscope and micromanipulators. The innovative approach of the Hand-made Cloning technique involves the manipulation of *zona pellucida* free oocytes and embryos, since the removal of the *zona pellucida* greatly facilitates and speeds up the individual steps of the cloning technology, resulting in a comparable or even higher birth rate than using traditional cloning. The application of Hand-made Cloning radically reduces the cost of acquiring expensive equipment and the need for skilled labor. In addition, the Hand-made Cloning technique makes it possible to intensify the production process for obtaining cloned embryos and increase the efficiency of cloning technology as a whole.

Введение

После рождения в 1996 г. овечки Долли методом переноса ядра соматической клетки (somatic cell nuclear transfer, SCNT), клонирование стало широко использоваться для получения сельскохозяйственных животных [52]. Клонированных животных получают бесполом путем из реконструированных эмбрионов, посредством слияния энуклеированного ооцита (цитопласта) с ядром соматической клетки (кариопласта), содержащим двойной набор хромосом (2n) [52]. В настоящее время SCNT имеет два методических исполнения: традиционное клонирование (с использованием микроманипуляторов) и так называемое «ручное» клонирование (Hand-made cloning, НМС).

Техника НМС – это один из вариантов SCNT, для выполнения которого нет необходимости в использовании микроманипуляторов и инвертированного микроскопа (основного дорогостоящего оборудования, используемого при традиционном SCNT), а все манипуляции выполняются «вручную» с использованием бинокулярной лупы. Данный метод приобрел популярность из-за своей низкой стоимости и нетребовательности к квалификации персонала, необходимого для его выполнения. Техника НМС может быть использована не только для внутривидового, но и с целью межвидового клонирования (для сохранения исчезающих видов), в получении трансгенных животных, для нужд регенеративной терапии, а также в создании экспериментальных животных, как моделей для изучения заболеваний [50]. Эта техника была впервые предложена австралийским эмбриологом Габором Вайтой [39]. В настоящее время НМС применяется для клонирования различных видов животных с равной или даже большей эффективностью, в сравнении с традиционной техникой SCNT.

История создания НМС

Клонирование млекопитающих путем переноса клеточных ядер в энуклеированные ооциты считается революционной и самой передовой отраслью биологии, однако его основные принципы были изложены уже более 80 лет назад [41], метод был успешно апробирован на земноводных в начале 1950-х годов [5]. Впоследствии были успешно получены фертильные клонированные лягушки, что проложило путь для клонирования млекопитающих [12].

Первая клонированная мышь была получена в 1981 г. с использованием в качестве донора ядра стволовой клетки, полученной из внутренней клеточной массы эмбриона, и перенесенной

в энуклеированную зиготу [13], а технология переноса клеточного ядра, используемая в настоящее время большинством лабораторий на млекопитающих, была опубликована еще в 1984 году [51].

С технической точки зрения, за последние 25 лет, единственным реальным изменением в технологии стало использование в качестве доноров кариопластов соматических клеток, вместо ранних эмбриональных клеток [52]. Получение овечки Долли (в качестве донора ядра использовалась дифференцированная эпителиальная клетка молочной железы) произвело революцию в мире клонирования, и впоследствии были клонированы различные виды животных.

В течении последней четверти века велся поиск различных технических решений, направленных на совершенствование технологии клонирования, и после многочисленных неудач была предложена реальная альтернатива традиционному клонированию. Как ни странно, основной идеей нового подхода явилось радикальное упрощение технологии, что повлекло за собой значительное сокращение затрат времени, снижение инвестиций в оборудование и требований к квалификации персонала [46].

Принцип нового подхода оказался прост. Сложившееся мнение о необходимости для развития эмбриона блестящей оболочки (*zona pellucida*) ограничивало разработку и внедрение новых методических подходов. Предпринимались лишь спорадические попытки нарушить эту догму. Однако, постепенно накапливающиеся данные, сначала о возможности оплодотворения *in vitro* без блестящей оболочки [53], а затем о возможности активации партеногенеза и культивирования эмбрионов крупного рогатого скота и свиней [2, 3] постепенно открыли путь для манипуляций *in vitro* без *zona pellucida*. Первая опубликованная работа, в которой осуществили ядерный перенос в энуклеированные цитопласты без *zona pellucida*, была выполнена в 1995 году [44]. К сожалению, метод энуклеации (центрифугирование ооцитов без *zona pellucida* в градиенте плотности) был ненадежным и после слияния с эмбриональными клетками не было получено телят. Однако изобретение в 1998 г. группой Пеура «ручной» энуклеации при помощи лезвия и приклеивания полярного тела (в качестве ориентира) к оолеме фитогемагглютинином с последующим слиянием двух энуклеированных ооцитов в один, позволило создать надежную систему реконструирования [32]. К сожалению, даже после получения нескольких клонированных телят, эта группа уче-

ных оказалась от использования предложенной ими техники реконструирования [31].

Собрать воедино методические подходы и сформировать альтернативную технику SCNT удалось лишь к 2001 году. Решение оказалось простым: энуклеацию осуществляли вручную при помощи лезвий, перед слиянием соматическую клетку приклеивали к поверхности цитопласта с помощью фитогемагглютинаина, а реконструированные эмбрионы культивировали индивидуально в капиллярах или микролунках [45, 48, 49].

Для предотвращения агрегации отдельных реконструированных эмбрионов без *zona pellucida* во время культивирования наиболее эффективной оказалась модифицированная система культивирования WOW (well-of-the-well, «лунка в лунке») [3]. В отличие от обычно используемых микрокапель, система WOW с микролунками конической формы предоставляет уникальные преимущества для культивирования эмбрионов без *zona pellucida*, удерживая бластомеры вместе и обеспечивая стабильное микроокружение для развивающегося эмбриона. Значительный вклад в разработку техники НМС наряду с системой культивирования WOW внес Габор Вайта [48].

В связи с тем, что все манипуляции можно выполнить вручную, без использования сложных инструментов, технология получила название «ручное клонирование» (Hand-made Cloning, НМС) [49]. Несмотря на появление такой упрощенной альтернативной техники, некоторые специалисты в области клонирования до сих пор предпочитают использовать микроманипуляторы для энуклеации ооцитов (как с блестящей оболочкой, так и без нее) [2, 3]. Позднее в результате работы нескольких исследовательских групп по внедрению и усовершенствованию техники НМС было получено клонированное потомство от различных видов животных, таких как крупный рогатый скот [1, 39, 49], овцы [19] свиньи [2, 8], верблюды [28] и мыши [34].

Основные этапы техники НМС

Техника НМС уникальна тем, что для энуклеации и слияния цитопласта с донорской клеткой используются ооциты без *zona pellucida*. Основные этапы НМС представлены на рисунке 1.

В результате энуклеации при отрезании части ооцита, содержащей экструдирующееся веретено деления, происходит потеря части цитоплазмы (15–50 % объема ооцита). Чтобы компенсировать эту потерю, с донорской клеткой сливают две энуклеированные половинки ооцитов, таким образом у реконструированного эмбриона проис-

ходит восстановление объема цитоплазмы [29]. Уменьшение объема цитоплазмы реципиентного ооцита/ов может негативно повлиять на способность реконструированного эмбриона развиваться до стадии бластоцисты [54].

Дозревание ооцитов *in vitro* и энуклеация

Дозревание ооцитов *in vitro* проводят в течение 22–24 часов с использованием специальных сред, содержащих такие гормоны, как ФСГ, ЛГ и эстрадиол [14]. После дозревания ооцит-кумулюсные комплексы денудировывают при помощи мягкой обработки на вортексе в растворе гиалуронидазы. Экструзию веретена деления у ооцитов провоцируют обработкой в течение 1–2 ч де-

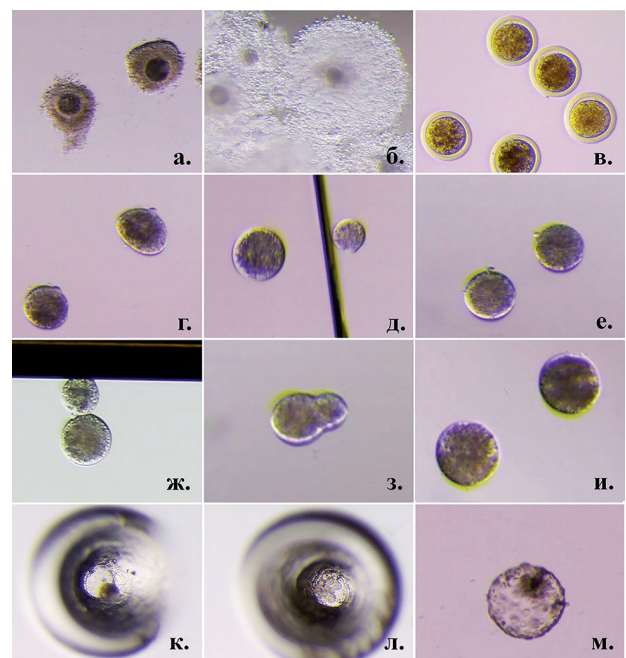


Рис. 1. Основные этапы клонирования техникой НМС (на примере ооцитов/эмбрионов крупного рогатого скота). а. – Ооцит-кумулюсные комплексы выделенный из яйчника; б. – Ооцит-кумулюсные комплексы после дозревания *in vitro*; в. – Зрелые денудированные ооциты на стадии МII после удаления клеток кумулюса с помощью гиалуронидазы; г. – Ооциты без *zona pellucida* после обработки демекольцином и проназой с экструдирующимся веретеном деления; д. – Энуклеация ооцита с помощью микролезвия путем отрезания части ооцита, содержащей веретено деления; е. – Донорская клетка, приклеенная с помощью фитогемагглютинаина к оолеме одного из цитопластов; ж. – Комплекс цитопласт/кариопласт/цитопласт между электродами в камере для электрослияния; з. – Триплет в процессе слияния; и. – Слитый триплет (реконструированный эмбрион) через 1 час после электрослияния; к. – реконструированный эмбрион, культивирующийся в лунке WOW; л. – 9-клеточный клонированный эмбрион, в лунке WOW; м. – клонированный эмбрион на стадии бластоцисты.

мекольцином (0,4–0,5 мкг/мл) с последующим удалением *zona pellucida* проназой, после чего лишенные блестящей оболочки ооциты поступают для энуклеации. Энуклеация осуществляется путем ориентированного отсечения микролезвием части ооцита, содержащей экструдирующееся веретено деления и/или полярное тельце [46, 48, 49].

Отбор клеток доноров кариопластов

В технологии клонирования очень важен выбор клеток доноров ядер. Кариопласты могут отличаться в отношении типа клеток, из которых они были получены, и стадии клеточного цикла.

На реконструированных эмбрионах козы не было обнаружено достоверных различий в жизнеспособности клонированных эмбрионов, полученных из фетальных фибробластов, или из фибробластов взрослого животного [14]. Сравнительное исследование влияния донорских клеток, полученных из различных источников у буйвола (фетальные фибробласты, фибробласты от новорожденных телят и от взрослого животного, клетки кумулюса), на эффективность технологии НМС показало, что кумулюсные клетки превосходят все остальные типы клеток по способности клонированных эмбрионов развиваться до стадии бластоцисты [38]. В другом исследовании в качестве кариопластов были использованы соматические клетки, выделенные из мочи, в результате чего методом НМС удалось получить клонированного теленка буйвола [26].

В работах по клонированию буйволов в качестве клеток доноров с успехом использовали лимфоциты, выделенные из периферической крови и соматические клетки, выделенные из молока [15, 16]. Для должного репрограммирования клеточного ядра в реконструированном эмбрионе также важен отбор донорских клеток на стадии G0/G1 клеточного цикла. Исследование влияния росковитина на улучшение синхронизации донорских клеток на стадии G0/G1 показало, что обработка росковитином (30 мкМ) клеток доноров способствует более высокой частоте развития клонированных эмбрионов до стадии бластоцисты (62,9 %) по сравнению с использованием клеток, находящихся в экспоненциальной фазе роста [37].

При получении НМС эмбрионов свиньи использовали обработку дигитонином (пермебилизирующего агента) и экстрактом икринок *Xenopus laevis* свиных фибробластов, которые впоследствии использовались как донорские клетки [24]. Интересно, что и дигитонин, и экстракт икринок значительно увеличивали частоту формирования бластоцист у клонированных

эмбрионов. Для получения НМС козьих эмбрионов использовали три типа клеток доноров: фибробласты взрослых животных, эмбриональные стволовоподобные клетки и лимфоциты [9]. Эмбриональные стволовоподобные клетки превосходили другие типы клеток по способности клонированных эмбрионов развиваться до стадии бластоцисты.

Электрослияние, активация и культивирование НМС эмбрионов

Донорская клетка прикрепляется к одному из цитопластов при помощи фитогемагглютинина, после чего мембраны комплекса цитопласт/кариопласт сливаются при помощи прямоугольного электрического импульса в камере для электрослияния. Возможен вариант слияния триплета цитопласт/кариопласт/цитопласт. Были оптимизированы параметры электрослияния при реконструировании эмбрионов буйвола и козы [14, 37]. Выравнивание триплетов цитопласт/кариопласт/цитопласт в переменном электрическом поле проводили при 4 В с последующим одноэтапным слиянием прямоугольным импульсом постоянного тока 2,1–3,36 кВ/см в течение 4–5 мкс. После электрослияния реконструированный эмбрион подвергают воздействию Са-ионофора и 6-диметиламинопурина (6-DMAP) с целью снятия блока МП и партеногенетической активации развития. Реконструированные эмбрионы после активации переносят в культуральную среду для последующего развития эмбрионов. Было обнаружено, что НМС эмбрионы с ранним дроблением превосходят по жизнеспособности эмбрионы, первое дробление которых происходит с запозданием (> 24 ч после культивирования *in vitro*) [17]. В исследовании по получению НМС эмбрионов минипигов был использован уникальный способ агрегации и культивирования клонированных эмбрионов [40]. Три клонированных эмбриона, находящихся на 4-клеточной стадии развития, объединяли в один, после чего культивировали *in vitro* до стадии бластоцисты и переносили в матку суррогатной матери. Данная стратегия объединения эмбрионов позволила почти в два раза повысить частоту образования бластоцист (73,6 % против 35,1 %), чем при культивировании одного клонированного эмбриона.

Эпигенетическое репрограммирование ядра донорской клетки

Аномалии, наблюдаемые у клонированных животных, полученных в результате проведения традиционного SCNT или с использованием техники НМС, в значительной степени связаны

с ненадлежащим эпигенетическим репрограммированием хроматина ядра донорской клетки в течение раннего развития клонированного эмбриона. Основной причиной неудач технологии клонирования при SCNT является aberrантное эпигенетическое репрограммирование, в особенности геномное гиперметилование [36].

Эпигенетические модификации генома могут быть вызваны искусственно в условиях *in vitro* с использованием химических агентов при культивировании клеток доноров или в процессе культивирования самих эмбрионов. Так, в исследовании по обработке донорских клеток вальпроевой кислотой (VPA, ингибитор гистондеацетилазы) увеличилась частота развития НМС эмбрионов до стадии бластоцисты с одновременным снижением доли дегенеративных эмбрионов [42].

Исследование действия трихостатина-А (TSA, ингибитор гистондеацетилазы) и 5-аза-2'-дезокситидина (5-аза-dC, ингибитор ДНК-метилтрансферазы) показало их превосходное действие, оказываемое на развитие НМС эмбрионов буйвола [35]. Обработка свиных реконструированных эмбрионов TSA позволила увеличить их развитие до стадии бластоцисты с 54 до 80 % и получить живых поросят [23]. Также с целью улучшения репрограммирования генома при получении НМС эмбрионов применяют другой ингибитор гистондеацетилазы (HDAC) скриптэйд (scriptaid) [30]. Использование скриптэйда в концентрации 1 мкМоль/л через 10 часов после реконструирования НМС эмбрионов буйвола значительно увеличило долю дробящихся эмбрионов, а также их развитие до стадии бластоцисты. С целью улучшения репрограммирования генома может также применяться аскорбиновая кислота [6]. Добавление аскорбиновой кислоты в концентрации 50 мкг/мл в среду для культивирования улучшало развитие эмбрионов до стадии бластоцисты и увеличивало общее число клеток в ней [18].

Получение трансгенных животных с использованием техники НМС

Получение генетически модифицированных организмов уже стало реальностью и с каждым днем приобретает все большую популярность в связи с их широким применением в трансгенном животноводстве и биофармацевтике. В настоящее время множество исследовательских групп по всему миру получают трансгенных с.-х. животных, используя хорошо зарекомендовавшую себя технику НМС в сочетании с трансгенозом. Данный симбиоз технологий уже широко используется и является признанным методом получения трансгенных свиней [47].

Недавно были получены нокаутированные по двум генам свиньи с использованием системы CRISPER/Cas9 и техники НМС [11]. В свиных эмбриональных фибробластах были нокаутированы два гена: α 1,3-галактозилтрансфераза (GGTA1) и гидроксилаза цитидинмонофосфат-N-ацетилнейраминовой кислоты (СМАН). Полученные трансгенные свиньи могут быть использованы как доноры для трансплантации органов человеку (ксенотрансплантации), в связи со сниженной реакцией отторжения трансплантата. В другом исследовании с использованием рекомбинантных донорских клеток были получены НМС трансгенные поросята, несущие ген *fat-1* нематоды (*Caenorhabditis elegans*) (n-3 десатураза жирных кислот) [56]. Фермент n-3 десатураза жирных кислот, отсутствующий у млекопитающих, превращает n-6 жирные кислоты в n-3 полиненасыщенные жирные кислоты, что повышает питательную ценность свинины за счет синтеза омега-3 жирных кислот. Так же с использованием трансгенных фибробластов, несущих ген *mfat-1* (кодон-оптимизированный ген *fat-1*) и техники НМС, были получены трансгенные ягнята [55]. Сочетанное использование технологии трансгеноза и техники НМС позволило получить модельных по болезни Альцгеймера поросят [20].

Преимущества и недостатки НМС

Ряд исследовательских групп в области клонирования провели критическую оценку техники НМС и сообщили о ее преимуществах и недостатках [27, 39, 46, 50].

Несомненные преимущества новой техники клонирования были продемонстрированы на двух видах сельскохозяйственных животных: на крупном рогатом скоте и свиньях.

Эффективность энуклеации достаточно высока (96–98 %), поэтому процедура может быть успешно проведена практически на всех ооцитах МП, при этом отпадает необходимость в дальнейшем окрашивании и отборе цитопластов без хроматина. Соответственно, нет необходимости в приобретении дорогостоящего инвертированного флуоресцентного микроскопа и использования потенциально вредной УФ-микроскопии.

Резкое снижение стоимости оборудования и инструментов (для НМС требуется только бинокулярная лупа и электропоратор, в отличие от используемых при классическом SCNT микроманипуляторов, инвертированных микроскопов, микрокузниц для изготовления инструмента или дорогих микропипеток) на порядок снижает требуемые инвестиции, чтобы превратить обычную лабораторию в современный центр клонирования [39].

Специалист, обладающий базовыми знаниями в области эмбриологии, может освоить НМС крупного рогатого скота за одну неделю, а НМС свиней – за 2–3 недели, причем частота развития реконструированных эмбрионов до стадии бластоцисты может достигать 50 % [21].

Применяя технику НМС, опытный специалист по клонированию может получить от 30 до 50 реконструированных эмбрионов на стадии бластоцисты из 200 ооцитов, полученных со скотобойни. Данные свидетельствуют об отсутствии снижения частоты наступления беременности после криоконсервации эмбрионов, полученных методом НМС [46].

Перенос эмбрионов без *zona pellucida* также не представляет из себя никакой технической проблемы. Все большее число наблюдений показывает, что отсутствие блестящей оболочки не мешает нормальному развитию эмбрионов.

Широкомасштабное применение систем культивирования эмбрионов без *zona pellucida* повысило общую эффективность эмбриологического этапа у домашних животных и не привело к каким-либо неблагоприятным последствиям [25].

Как у крупного рогатого скота, так и у свиней возможно достичь уровня беременности порядка 50 % на 1 перенесенный клонированный эмбрион без *zona pellucida* [7]. По имеющимся данным, у крупного рогатого скота не наблюдалось существенной разницы в частоте возникновения врожденных аномалий развития между эмбрионами SCNT и НМС, а у полученных после НМС поросят, не было обнаружено серьезных нарушений развития. С помощью НМС был получен максимальный приплод (10 поросят) от одной свиноматки, в том числе и при пересчете на один перенесенный клонированный эмбрион (22 %) [7]. Аналогичные результаты были получены при переносах клонированных эмбрионов без *zona pellucida* у лошадей и мышей [22, 33].

Следует, конечно, отметить и недостатки, присущие НМС по сравнению с использованием традиционного SCNT, хотя они являются достаточно условными. Единственная отрицательная особенность НМС заключается в том, что свободные от зон ооциты, цитопласты и реконструированные эмбрионы могут приклеиваться друг к другу; их последующее разделение требует времени и иногда приводит к потерям. Соблюдая некоторую осторожность и используя среды с повышенным содержанием макромолекул этой проблемы можно полностью избежать. Другой часто упоминаемой проблемой является отсутствие защитного слоя – блестящей оболочки, что может привести к контаминации болезнетворны-

ми агентами [10]. Однако, говоря об этом, нельзя игнорировать тот факт, что *zona pellucida* не является целостной и в технологии традиционного SCNT, поэтому теоретическая опасность контаминации приблизительно одинакова для обоих способов [46].

Культивирование эмбрионов без *zona pellucida* может также приводить к дезорганизации бластомеров, что может негативно повлиять на процесс компактизации [43]. Однако, данного феномена можно полностью избежать, используя культивирование эмбрионов по типу «лунка в лунке».

Может вызывать опасения гетероплазмия, вызванная тремя разными источниками митохондрий, однако до сих пор отсутствуют экспериментальные или практические доказательства негативного влияния такой гетероплазмии.

Дальнейшие перспективы НМС

Самым большим потенциальным преимуществом является возможность автоматизации техники НМС. Микроканальная или микрофлюидная технология сегодня широко используется в различных отраслях знаний, в том числе в биологии, а ее применение уже опробовано в эмбриологии. Единственная серьезная проблема, которую еще предстоит решить, – это интеграция отдельных этапов в единую производственную линию. Это открыло бы совершенно новые горизонты для технологии клонирования в частности и для эмбриологии в общем, позволяя получать эмбрионы высшего качества с помощью строго стандартизированных и воспроизводимых методов [46].

Список литературы

1. Bhojwani S., Developmental Competence of HMC Derived Bovine Cloned Embryos Obtained from Somatic Cell Nuclear Transfer of Adult Fibroblasts and Granulosa Cells / S. Bhojwani, G. Vajta, H. Callesen, K. Roschlau, A. Kuwer, F. Becker, H. Alm, H. Torner, W. Kanitz, R. Poehland // J. Reprod. Dev. 2005, 51, 465–475.
2. Booth P. J. Application of the zona-free manipulation technique to porcine somatic nuclear transfer. / P. J. Booth, S. J. Tan, P. Holm, H. Callesen // Cloning Stem Cells. 2001;3(4):191–7. doi: 10.1089/15362300152725909.
3. Booth P. J. Simplification of bovine somatic cell nuclear transfer by application of a zona-free manipulation technique. / P. J. Booth, S. J. Tan, R. Reipurth, P. Holm, H. Callesen // Cloning Stem Cells. 2001;3(3):139–50. doi: 10.1089/153623001753205098.
4. Booth P. J. Application of the zona-free manipulation technique to porcine somatic nuclear transfer. / P. J. Booth, S. J. Tan, P. Holm, H. Callesen // Cloning Stem Cells 3, (2001)191–197. doi: 10.1089/15362300152725909.
5. Brigg R. Nuclear transplantation studies on the early gastrula (*Rana pipiens*). / R. Briggs, T. J. King // Dev. Biol. 1952. 2, 252–270.
6. Chawalit S. Trichostatin A and ascorbic acid assist in the development of porcine handmade cloned embryos via different

physiologic pathways. / S. Chawalit, N. T. Nguyen, J. K. Tseng, N. W. Lo, C. F. Tu, J. C. Ju // *Reprod Sci*. 2012, 19(9), 976–86.

7. Du Y. Piglets born from handmade cloning, an innovative cloning method without micromanipulation. / Y. Du, P. M. Kragh, Y. Zhang, J. Li, M. Schmidt, I. B. Bøgh, X. Zhang, S. Purup, A. L. Jørgensen, A. M. Pedersen, K. Villemeoes, H. Yang, L. Bolund, G. Vajta // *Theriogenology*. 2007 Nov;68(8):1104–10. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.07.021.

8. Du Y. High overall in vitro efficiency of porcine handmade cloning (HMC) combining partial zona digestion and oocyte trisection with sequential culture / Y. Du, P. M. Kragh, X. Zhang, S. Purup, H. Yang, L. Bolund, G. Vajta // *Cloning Stem cells*, 2005, 7(3), 199–205. doi: 10.1089/clo.2005.7.199.

9. Dutta R. Production and characterization of putative ntES cells from handmade cloned goat embryos derived from adult fibroblast donor cells / R. Dutta, D. Malakar, Y. S. Akshey, S. Sahu, M. K. Jena, D. Banerjee et al. // *J Reprod Stem Cell Biotechnol*. 2011;2:64–76.

10. Elsheikh A. S. Developmental ability of mouse late 2-cell stage blastomeres fused to chemically enucleated oocytes *in vitro*. / A. S. Elsheikh, Y. Takahashi, M. Hishinuma, H. Kanagawa // *J Vet Med Sci*. 1997;59:107–113. doi: 10.1292/jvms.59.107.

11. Gao H. Production of alpha1,3-galactosyltransferase and cytidine monophosphate-N-acetylneuraminic acid hydroxylase gene double-deficient pigs by CRISPR/Cas9 and handmade cloning. / H. Gao, C. Zhao, X. Xiang et al. // *J reprod dev*. 2017;63(1):17–26.

12. Gurdon J. B. “Fertile” intestine nuclei. / J. B. Gurdon, V. Uehlinger // *Nature* 1966, 210, 1240–1241. doi: 10.1038/2101240a0.

13. Illmensee K. Nuclear transplantation in *Mus musculus*: developmental potential of nuclei from preimplantation embryos. / K. Illmensee, P. C. Hoppe // *Cell*, 1981, 23, 9–18. doi: 10.1016/0092-8674(81)90265-8.

14. Jena M. K. Handmade cloned and parthenogenetic goat embryos – A comparison of different culture media and donor cells. / M. K. Jena, D. Malakar, A. K. De, S. Garg, Y. S. Akshey, R. Dutta et al. // *Small Rumin Res*. 2012;105:255–262. doi: 10.1016/j.smallrumres.2012.03.001.

15. Jyotsana B. Use of peripheral blood for production of buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos by handmade cloning. / B. Jyotsana, A. A. Sahare, A. K. Raja, K. P. Singh, N. Nala, S. K. Singla, M. S. Chauhan, R. S. Manik, P. Palta // *Theriogenology* 2016, 86(5), 1318–1324. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.07.

16. Jyotsana B. Handmade Cloned Buffalo (*Bubalus bubalis*) Embryos Produced from Somatic Cells Isolated from Milk and Ear Skin Differ in Their Developmental Competence, Epigenetic Status, and Gene Expression. / B. Jyotsana, A. A. Sahare, A. K. Raja, K. P. Singh, S. K. Singla, M. S. Chauhan, R. S. Manik, P. Palta // *Cell Reprogram*. 2015, 17(5), 393–403. doi: 10.1089/cell.2015.0027.

17. Kaith S. Early cleavage of handmade cloned buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos is an indicator of their developmental competence and quality. / S. Kaith, M. Saini, A. K. Raja, A. A. Sahare, B. Jyotsana, P. Madheshiya et al. // *Reprod Domest Anim*. 2015;50:214–220. doi: 10.1111/rda.12472.

18. Kere M. Ascorbic Acid Improves the Developmental Competence of Porcine Oocytes After Parthenogenetic Activation and Somatic Cell Nuclear Transplantation / M. Kere, C. Siriboon, N.-W. Lo, N. T. Nguyen, J. C. Ju // *J Reprod Dev*. 2013, 59(1), 78–84. doi: 10.1262/jrd.2012-114.

19. Khan S. Comparison of efficiency of in vitro cloned sheep embryo production by conventional somatic cell nuclear transfer and handmade cloning technique. / S. Khan, M. Tali, A. Khan, S. Bhat, A. Ashraf, M. H. Bhat, F. Khan,

R. A. Shah // *Reprod Dom Anim*. 2018;00:1–7. Doi: 10.1111/rda.13138/

20. Kragh P. M. Hemizygous minipigs produced by random gene insertion and handmade cloning express the Alzheimer's disease-causing dominant mutation APPsw. / P. M. Kragh, A. L. Nielsen, J. Li, Y. Du, L. Lin, S. Schmidt, I. B. Bøgh, I. E. Holm, J. E. Jakobsen, M. G. Johansen, S. Purup, L. Bolund, G. Vajta, A. L. Jørgensen // *Transgenic Res*. 2009;18:545–558.

21. Kragh, P. M. Efficient in vitro production of porcine blastocysts by handmade cloning with combined electric and chemical activation. / P. M. Kragh, Y. Du, T. J. Corydon, S. Purup, L. Bolund, G. Vajta // *Theriogenology* (2005) 64, 1536–1545. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.03.02.

22. Lagutina I. Somatic cell nuclear transfer in horses: effect of oocyte morphology, embryo reconstruction method and donor cell type. / I. Lagutina, G. Lazzari, R. Duchi, S. Colleoni, N. Ponderato, P. Turini, G. Crotti, C. Galli // *Reproduction*. 2005 Oct;130(4):559-67. doi: 10.1530/rep.1.00772.

23. Li J. High in vitro development after somatic cell nuclear transfer and trichostatin A treatment of reconstructed porcine embryos. / J. Li, O. Svarcova, K. Villemeoes, P. Kragh, M. Schmidt, I. B. Bøgh, Y. Zhang, Y. Du, L. Lin, S. Purup, Q. Xue, L. Bolund, H. Yang, P. Maddox-Hyttel, G. Vajta // *Theriogenology* 2008, 70(5), 800–8. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.05.046.

24. Liu Y. Increased blastocyst formation of cloned porcine embryos produced with donor cells pre-treated with *Xenopus* egg extract and/or digitonin. / Y. Liu, O. Ostrup, J. Li, G. Vajta, L. Lin., P. M. Kragh, S. Purup, P. Hyttel, H. Callesen // *Zygote*, 2012, 20 (1): 61–6. doi: 10.1017/S096719941000064X.

25. Madani S. An Alternative Way to Improve Mammalian Embryo Development In Vitro: Culture of Zona Pellucida-Free Embryos. / S. Madani, Z. Machaty, G. Vajta // *Cellular Reprogramming*. 2022. Vol. 24, No. 3, 111-117. doi: 10.1089/cell.2022.0012.

26. Madheshiya, P. K. Production of a Cloned Buffalo (*Bubalus bubalis*) Calf from Somatic Cells Isolated from Urine. / P. K. Madheshiya, A. A. Sahare, B. Jyotsana, K. P. Singh, M. Saini, A. K. Raja, S. Kaith, S. K. Singla, M. S. Chauhan, R. S. Manik, P. Palta // *Cell Reprogram*, v.17, n.3, p.160–169, 2015. doi: 10.1089/cell.2014.0097.

27. Mahdi E. Handmade cloning: an alternative technique for somatic cell nuclear transfer. / E. Mahdi, H. Fakhrisadat // *Annals of Biological Research*. 2012;3:3043–3048.

28. Moulavi F. Development of a modified method of handmade cloning in dromedary camel. / F. Moulavi, S. M. Hosseini // *PLoS ONE*. 2019. 14(4): e0213737. Doi: 10.1371/journal.pone.0213737.

29. Panda S. K. Effect of cytoplasmic volume on developmental competence of buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos produced through hand-made cloning. / S. K. Panda, A. George, A. P. Saha, R. Sharma, R. S. Manik, M. S. Chauhan, P. Palta, S. K. Singla // *Cell. Reprogram*. 2011. 13: 257–262. doi: 10.1089/cell.2010.0096.

30. Panda S. K. Effect of scriptaid, a histone deacetylase inhibitor, on the developmental competence of Handmade cloned buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos. / S. K. Panda, A. George, A. Saha, R. Sharma, A. K. Singh, R. S. Manik, M. S. Chauhan, P. Palta, S. Singla // *Theriogenology* 2012, 77(1), 195–200. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.07.033.

31. Peura T. T. Development of bovine embryo-derived clones after increasing rounds of nuclear recycling. / T. T. Peura, M. W. Lane, I. M. Lewis, A. O. Trounson // *Mol Reprod Dev*. 2001 Apr;58(4):384-9. doi: 10.1002/1098-2795(20010401)58:4<384::AID-MRD5>3.0.CO;2-N.

32. Peura T. T. The effect of recipient oocyte volume on nuclear transfer in cattle. / T. T. Peura, I. M. Lewis, A. O. Trounson

// Mol Reprod Dev. 1998 Jun;50(2):185–91. doi: 10.1002/(SICI)1098-2795(199806)50:2<185::AID-MRD9>3.0.CO;2-G.

33. Ribas R. Modifications to Improve the Efficiency of Zona-Free Mouse Nuclear Transfer. / R. Ribas, B. Oback, W. Ritchie, T. Chebotareva, J. Taylor, A. C. Mauricio, M. Sousa, I. Wilmut // Cloning and Stem Cells. Mar 2006.10-15. doi: 10.1089/clo.2006.8.10.

34. Ribas R. Development of a zona-free method of nuclear transfer in the mouse. / R. Ribas, B. Oback, W. Ritchie, T. Chebotareva, C. Clarke, I. Wilmut // Cloning Stem Cells, 2005, 7, 126-138. Doi: 10.1089/clo.2005.7.126

35. Saini M. Treatment of Donor Cells and Reconstructed Embryos with a Combination of Trichostatin-A and 5-aza-2'-Deoxycytidine Improves the Developmental Competence and Quality of Buffalo Embryos Produced by Handmade Cloning and Alters Their Epigenetic Status and Gene Expression. / M. Saini, N. L. Selokar, H. Agrawal, S. K. Singla, M/ S. Chauhan, R. S. Manik, P. Palta // Cell Reprogram. 2017, 19(3), 208–215. doi: 10.1089/cell.2016.0061.

36. Selokar N. L. Downregulation of DNA Methyltransferase 1 in Zona-Free Cloned Buffalo (*Bubalus bubalis*) Embryos by Small Interefering RNA Improves In Vitro Development But Does Not Alter DNA Methylation Level. / N. L. Selokar, M. Saini, H. Agrawal, P. Palta, M. S. Chauhan, R. Manik, S. K. Singla // Cell Reprogram. 2015, 17(2), 89–94. doi: 10.1089/cell.2014.0056.

37. Selokar N. L. Effect of post-fusion holding time, orientation and position of somatic cell-cytoplasts during electrofusion on the development of handmade cloned embryos in buffalo (*Bubalus bubalis*). / N. L. Selokar, R. A. Shah, A. P. Saha, M. Muzaffar, M. Saini, M. S. Chauhan, R. S. Manik, P. Palta, S. K. Singla // Theriogenology 2012, 78(4), 930–6. doi: 10.1016/j.theriogenology.2012.03.018

38. Shah R. A. Pregnancies established from handmade cloned blastocysts reconstructed using skin fibroblasts in buffalo (*Bubalus bubalis*). / R. A. Shah, A. George, M. K. Singh, D. Kumar, T. Anand, M. S. Chauhan, R. S. Manik, P. Palta, S. K. Singla // Theriogenology 2009, 71(8), 1215-9. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2008.10.004.

39. Singla S. K. Hand-made Cloning: A Guide for Cloning Water Buffaloes. / S. K. Singla, A. Raja, N. Nala, M. S. Chauhan, R. S. Manik, P. Palta // MGM J Med Sci 2014;1(3):126–131.

40. Siriboon C. Production of viable cloned miniature pigs by aggregation of handmade cloned embryos at the 4-cell stage. / C. Siriboon, C. F. Tu, M. Kere, M. S. Liu, H. J. Chang, L. L. Ho, M. E. Tai et al. // Reprod Fertil Dev. 2014;26:395–406. doi: 10.1071/RD12243.

41. Spemann H. Embryonic Development and Induction. / H. Spemann. Yale University Press, 1938. P. 211.

42. Sun J. M. Suberoylanilide hydroxamic acid, a novel histone deacetylase inhibitor, improves the development and acetylation level of miniature porcine handmade cloning embryos. / J. M. Sun, K. Q. Cui, Z. P. Li, X. R. Lu, Z. F. Xu,

Q. Y. Liu, B. Huang, D. S. Shi // Reprod Domest Anim. 2017, doi: 10.1111/rda.12977.

43. Suzuki H. Developmental ability of zona-free mouse embryos is influenced by cell association at the 4-cell stage. / H. Suzuki, M. Togashi, J. Adachi, Y. Toyoda // Biol Reprod. 1995;53:78–83. doi: 10.1095/biolreprod53.1.78.

44. Tatham B. G. Enucleation by centrifugation of in vitromatured bovine oocytes for use in nuclear transfer. / B. G. Tatham, A. T. Dowsing, A. O. Trounson // Biol Reprod. 1995 Nov;53(5):1088-94. doi: 10.1095/biolreprod53.5.1088.

45. Thouas G. A. The GO system – a novel method for microculture for in vitro development of mouse zygotes to the blastocyst stage. / G. A. Thouas, G. M. Jones, A. O. Trounson // Reproduction. 2003 Aug;126(2):161-9. doi: 10.1530/rep.0.1260161.

46. Vajta G. Handmade cloning: the future way of nuclear transfer? / G. Vajta // Trends Biotechnol. 2007;25(6):250–3. doi: 10.1016/j.tibtech.2007.04.004.

47. Vajta G. Establishment of an efficient somatic cell nuclear transfer system for production of transgenic pigs. / G. Vajta, H. Callesen // Theriogenology. 2012, 77(7), 1263–74. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2011.10.040.

48. Vajta G. Somatic cell cloning without micromanipulators. / G. Vajta, I. M. Lewis, P. Hyttel, G. A. Thouas, A. O. Trounson // Cloning. 2001;3(2):89–95. doi: 10.1089/15204550152475590.

49. Vajta G. Handmade somatic cell cloning in cattle: analysis of factors contributing to high efficiency in vitro. / G. Vajta, I. M. Lewis, A. O. Trounson, S. Purup, P. Maddox-Hyttel, M. Schmidt, H. G. Pedersen, T. Greve, H. Callesen // Biol Reprod. 2003 Feb;68(2):571–8. doi: 10.1095/biolreprod.102.008771.

50. Verma G. Handmade cloning: recent advances, potential and pitfalls. / G. Verma, J. Arora, R. Sethi et al. // J Animal Sci Biotechnol 6, 43 (2015). doi: 10.1186/s40104-015-0043-y.

51. Willadsen S. M. Nuclear transplantation in sheep embryos. / S. M. Willadsen // Nature 1986, 320, 63–65.

52. Wilmut I. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. / I. Wilmut, A. Schnieke, J. McWhir, A. J. Kind, K. H. S. Campbell // Nature 385, 810–813 (1997). <https://doi.org/10.1038/385810a0>.

53. Wu G.-M. Birth of piglets by in vitro fertilization of zonafree porcine oocytes. / G.-M. Wu et al. // Theriogenology. 2004. 62, 1544–1556.

54. Zakhartchenko V. Enucleation of bovine oocytes with minimal cytoplasmic volume: Effect on development of nuclear transfer embryos. / V. Zakhartchenko, M. Stojkovic, G. Palma, E. Wolf, G. Brem // Theriogenology, 1997, 47, 238.

55. Zhang P. Handmade Cloned Transgenic Sheep Rich in Omega-3 Fatty Acids. / P. Zhang, P. Liu, H. Dou, L. Chen, L. Chen, L. Lin et al. (2013) // PLoS ONE. 2013. 8(2): e55941. doi: 10.1371/journal.pone.0055941.

56. Zhang, P. Handmade Cloned Transgenic Piglets Expressing the Nematode Fat-1 Gene / P. Zhang, Y. Zhang, H. Dou, J. Yin, Y. Chen, X. Pang, G. Vajta // Cell Reprogram. 2012, 14(3), 258–266. doi: 10.1089/cell.2011.0073.

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

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-23-26

УДК: 616.995.421-084:574.476:598.115

Ключевые слова: гамазовые клещи, хищные клещи, змеи, способ борьбы

Key words: gamasid mites, predatory mites, snakes, method of fighting

Белова Л. М., Гаврилова Н. А.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ БОРЬБЫ С ГАМАЗОВЫМИ КЛЕЩАМИ ЗМЕЙ A BIOLOGICAL WAY TO COMBAT GAMASE MITES OF SNAKES

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

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

Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine

Address: 196084, Russia, Saint Petersburg, 5 Chernigovskaya

Белова Лариса Михайловна, доктор биол. наук, заведующая кафедрой паразитологии им. В. Л. Якимова,
e-mail: larissabelova2010@yandex.ru

Belova Larisa, Dr. Habil. (Biol. Sci.), Head of the Dept. of Parasitology,

e-mail: larissabelova2010@yandex.ru

Гаврилова Надежда Алексеевна, доктор вет.наук, профессор, профессор кафедры паразитологии
им. В. Л. Якимова, e-mail: nadezhda.gavrilova65@mail.ru

Gavrilova Nadezhda, Dr. Habil. (Vet. Sci), Prof., Dept of Parasitology,

e-mail: nadezhda.gavrilova65@mail.ru

Аннотация. В данной работе представлены результаты изучения биологического способа борьбы с гамазовыми клещами *Ophionyssus natricis*, паразитирующими на различных видах змей, содержащихся в неволе, при помощи подселения в террариум хищных клещей *Hypoaspis miles*. Гамазовых клещей *O. natricis* помещали в террариумы со змеями *Python regius* (королевский питон), *Boa constrictor imperator* (удав обыкновенный императорский), *Corallus hortulanus* (садовый удав), *Lampropeltis triangulum sinaloae* (синалойская молочная змея). После нападения клещей на змей в террариумы помещали хищных клещей – *H. miles*. Поведение клещей *H. miles* наблюдали внутри террариумов и *in vitro*. Клещи *O. natricis* в большей степени нападали на обыкновенного императорского и садового удава, в меньшей – королевского питона и синалойскую молочную змею. Со второго дня после нападения клещей все змеи проявляли беспокойство, залегали в поилках с водой. Наблюдениями за клещами *O. natricis* и *H. miles in vitro* была установлена гибель паразитических клещей в чашке Петри на следующие сутки после подсаживания гипоасписа. В террариумах отмечали уменьшение клещей *O. natricis* на 3-е сутки у наиболее зараженной змеи *Boa constrictor imperator*. На 5 сутки отметили отсутствие клинических признаков у всех змей (животные не проявляли беспокойства, не терлись о стенки террариумов и не залегали в поилках), а также имаго и протонимф на коже всех змей. Случаев нападения *H. miles* за период наблюдения на подопытных животных не было выявлено. Хищные клещи находились в слое подстилки, преимущественно в «холодном» углу террариумов. На основании полученных данных был сделан вывод о том, что хищный клещ *H. miles* является эффективным биологическим средством борьбы с гамазовым клещом *O. natricis*, паразитирующим на змеях.

Summary. This paper presents the results of studying the biological method of combating the gamasid mites *Ophionyssus natricis*, parasitizing on various species of snakes kept in captivity, by introducing predatory mites *Hypoaspis miles* into the terrarium. Gamasid mites *O. natricis* were placed in terrariums with snakes *Python regius* (royal python), *Boa constrictor imperator* (common imperial boa), *Corallus hortulanus* (garden boa), *Lampropeltis triangulum sinaloae* (Sinaloi milk snake). After ticks attacked snakes, predatory ticks, *H. miles*, were placed in terrariums. The behavior of *H. miles* mites was observed inside terrariums and *in vitro*. *O. natricis* mites attacked the common imperial and garden boa to a greater extent, and to a lesser extent, the royal python and the Sinaloi milk snake. From the second day after the attack of ticks, all the snakes showed anxiety, lay down in drinking bowls with water. Observations of *O. natricis* and *H. miles* mites *in vitro* showed the death of parasitic mites in a Petri dish on the next day, after planting the hypoaspis. In terrariums, a decrease in *O. natricis* mites was noted on the 3rd day in the most affected snake *Boa constrictor imperator*. On the 5th day, the absence of clinical signs was noted in all snakes (the animals did not show anxiety, did not rub against the walls of terrariums and did not lie in drinkers), as well as adults and protonymphs on the skin of all snakes. There were no cases of *H. miles* attacks on experimental animals during the observation period. Predatory mites were found in the litter layer, mainly in the «cold» corner of the terrariums. On the basis of the data obtained, it was concluded that the predatory mite *H. miles* is an effective biological agent for the control of the gamasid mite *O. natricis*, which parasitizes snakes.

Введение

В связи с популяризацией герпетокультуры, повышенным интересом людей к рептилиям, развитием селекционной работы с данной группой животных, а также ведением бизнеса, основанного на продаже экзотических животных, увеличивается количество змей, содержащихся в неволе. Вместе с тем, определенный процент выловленных из природы змей несет риск заноса различных паразитических организмов как в частные, так и в зоопарковые коллекции [1,7].

Наиболее часто змеи поражаются гамазовыми клещами, в частности – *Ophionyssus natricis*. В природе гамазовые клещи нападают на змей периодически, но в неволе при создании идеальных условий для размножения *O. natricis*, вероятность паразитирования клещей на рептилиях резко возрастает [2, 4, 8].

После прикрепления клещей змеи становятся беспокойными, при возможности залегают в поилки или искусственные водоемы в террариумах и находятся там часами, что негативно сказывается на состоянии кожи пресмыкающихся. У гремучих змей и ложноногих при высокой интенсивности инвазии (ИИ) клещами может нарушаться работа термочувствительных ямок. Высокая ИИ гамазовыми клещами приводит змей к обезвоживанию, летаргии и гибели. *O. natricis* также может нападать на людей, вызывая везикуло-буллезное поражение кожи [3, 7, 9].

Проблема борьбы с гамазовыми клещами, паразитирующими на змеях, остается актуальной, поскольку сами рептилии чувствительны ко многим химическим веществам, входящим в состав инсектоакарицидов [1, 6, 9].

При анализе литературных данных было установлено, что для борьбы с вредителями растений, а также против паразитов муравьев и улиток используют хищного клеща *Hypoaspis miles*. В виде небольших заметок имелись данные о применении *H. miles* для борьбы с клещами ящериц и змей [5, 10].

Целью данной работы стало изучение биологического способа борьбы с гамазовыми клещами *Ophionyssus natricis*, паразитирующими на различных видах змей, содержащихся в неволе, при помощи подселения в террариум хищных клещей *Hypoaspis miles*.

Материал и методы

Работа была выполнена в лаборатории по изучению паразитарных болезней при кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Для изучения взаимодействия клеща *O. natricis* с различными видами змей в неволе, а также взаимодействия *O. natricis* с *H. miles* в отношениях жертва-хищник, был поставлен лабораторный опыт.

В 4 террариума поместили змей *Python regius* (королевский питон), *Boa constrictor imperator* (удав обыкновенный императорский), *Corrallus hortulanus* (садовый удав), *Lampropeltis triangulum sinaloae* (синалойская молочная змея).

Для содержания подопытных животных были созданы оптимальные условия: соблюдены температурные режимы («холодный» и «горячий» углы), поддерживалась оптимальная влажность, у змей был неограниченный доступ к воде. За время проведения опыта (45 дней) проведено три кормления, и у всех змей произошла линька.

В террариумы поместили гамазовых клещей *O. natricis*. Ежедневно оценивали количество взрослых особей клещей, найденных на теле змей. Вели наблюдения за изменением поведения подопытных животных.

После накопления популяции паразитических клещей (не менее 10 особей на одной змее) в террариум помещали хищных клещей *H. miles*. Среду, содержащую особей хищника (препарат «Гипоаспис»), располагали в непосредственной близости к кокосовому субстрату, увлажняли субстрат и поддерживали высокую влажность в террариуме.

Поведение клещей *H. miles* наблюдали внутри террариумов, а также *in vitro*. Зону террариумов ограничили вазелином для исключения распространения клещей за его пределы.

В чашку Петри поместили клещей *O. natricis* (21 имаго и 4 нимфы) и имаго *H. miles* (7 особей). Просмотр осуществляли при помощи лупы Микромед МС-1 при увеличении 10х4.

Внутри террариумов производили ежедневные наблюдения за количеством паразитических клещей на теле змей, осматривали поилки на предмет мертвых особей как паразитических, так и хищных клещей. Отмечали изменения в поведении подопытных животных.

Результаты исследований

Анализируя результаты наблюдения за клещами *O. natricis* и *H. miles in vitro* была отмечена гибель паразитических клещей в чашке Петри на следующие сутки, после подсаживания гипоасписа. Это связано с тем, что хищный клещ является почвенным жителем и ведет себя спокойно при прямом солнечном свете, который требовался для наблюдения за паукообразными в поле зрения лупы. Во время наблюдения

хищник игнорировал жертв, однако был замечен единичный случай нападения гипоасписа на протонимфу *O. natrix*, что дало основание продолжить наблюдения после создания оптимальных условий *in vitro* для хищника (влажность, исключение прямого солнечного света).

Имаго клещей на обыкновенном императорском удаве были обнаружены спустя 2 суток (рис.1), на синалойской молочной змее через 7 суток после заражения.

На вторые сутки после заражения все змеи находились полностью или частично в поилках, что свидетельствовало о появлении зуда. На 4-7 сутки все рептилии проявляли беспокойство, агрессию («предупредительные выпады») (*P. regius* и *C. hortulanus*), находились в поилках полностью.

При осмотре поилок было обнаружено большое количество погибших имаго клещей: более 15 погибших имаго в поилке *B. c. imperator* и 9 особей в поилке у *C. hortulanus*. Эти данные свидетельствуют о сильной инвазии у данных змей и подтверждают теорию предпочтения паразита в выборе своих жертв (террариумы располагались близко относительно друг друга, и клещи могли перемещаться от одного кормового объекта к другому).

В поилке у *P. regius* за время проведения опыта было обнаружено только 3 особи имаго паразита. В поилке у *Lampropeltis triangulum sinaloae* гамазовые клещи не были обнаружены.

При осмотре подопытных животных установили ИИ гамазовыми клещами, которая варьировалась у разных видов змей. У обыкновенного императорского удава питались 33 особи имаго и 10 протонимф; у садового удава – 12 особей имаго и 3 протонимфы; королевского питона – 7 особей имаго и 5 протонимф; синалойской молочной змеи – 3 особи имаго, а протонимф не было обнаружено.

В террариумах отметили снижение количества имаго *O. natrix* на 3-е сутки у наиболее пораженной змеи *Boa constrictor imperator*. На 5 сутки отметили отсутствие имаго и протонимф на коже всех змей, а также клинических признаков у змей (животные не проявляли беспокойства, не терлись о стенки террариумов и не залегали в поилках).

Случаев нападения хищных клещей *H. miles* за период наблюдения на подопытных животных не было выявлено. Хищные клещи находились в слое подстилки, преимущественно в «холодном» углу террариумов и не нападали на змей.

Дальнейшее наблюдение за подопытными животными в течение двух недель свидетельствовало об отсутствии паразитических клещей



Рис. 1. Клещи *O. natrix*, питающиеся на императорском удаве

O. natrix на теле змей. Животные не проявляли характерных клинических признаков, указывающих на инвазию.

Заключение

Подводя итоги проделанной работы, можно сделать вывод о том, что *H. miles* является эффективным биологическим средством борьбы с *O. natrix*.

Учитывая биологические особенности гамазовых клещей, с целью недопущения распространения инвазии, вновь приобретенных змей необходимо изолировать от общей коллекции в карантинный бокс (пластиковая тара) и произвести тщательный осмотр кожных покровов, особенно тщательно осмотрев орбитальные и губные щитки, расправить подбородочную складку. При обнаружении отека, покраснения и отхождения чешуек следует проверить на предмет клещей с помощью лупы.

При обнаружении клещей змею необходимо сразу выкупать в воде, с полным погружением тела змеи под воду на 2-5 мин, а затем промыть тело змеи смоченной водой марлей, особое внимание уделив голове. Затем протереть сухой марлей. Террариум установить в хорошо вентилируемом месте на 1-2 суток. После истечения сроков можно высадить змею в пустой террариум без поилки, при этом необходимо ежедневное купание и поение змеи вне террариума, с последующей просушкой тела змеи в течение 7 дней. Далее можно возвращать поилку в террариум. Террариум выдерживать пустым в течение 1-1,5 месяцев, сменить весь пористый субстрат, находящийся у других групп животных, обработать пористые элементы декора.

Качественное и своевременное проведение всех рекомендуемых мероприятий по недопущению

нию инвазии *O. natrix* служит залогом к исправлению ситуации в частных коллекциях и зоопарках.

Список литературы

1. Васильев Д. Б. Ветеринарная герпетология. М: Изд-во «Аквариум», 2016. 420 с.
2. Лобацевич А.А. Змеиный клещевой дерматит и методы борьбы с клещевой инвазией в частных коллекциях / А.А. Лобацевич // Материалы 44 межвузовской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии». 2017. С. 26-29.
3. Лобацевич А.А. Строение липидного слоя кожи змей как этиологический фактор заражения змеиным клещом *Ophionyssus natricis* / А.А. Лобацевич // Материалы 72-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ. 2018. С.111-112.
4. Bilal D. The First Case of *Ophionyssus natricis* (Gervais, 1844) on a Sea Snake (*Natrix tessellata*, Laurente 1768) in Turkey / D. Bilal // Iran J Parasitol. 2014. Oct-Dec; 9(4). P. 594–596.
5. Lionel H. An effective candidate for the biological control of the snake mite (*Ophionyssus natricis*) / H. Lionel, Z.M. Schilliger, E.C. Dipl, M. Damien, H. Jesse, M. R. Bonwitt // J. Zoo Wild Med. Vol. 44(3). 2013. P. 654–659.
6. Robert W. Preliminary Notes on the Use of the Predatory Soil Mite *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) as a Biological Control Agent for Acariasis in Lizards / W. Robert, B.S. Mendyk // Journal of Herpetological Medicine and Surgery. Vol. 25:1-2. 2015. P. 24-27.
7. Vergles Rataj A. Parasites in pet reptiles / Rataj A. Vergles, R. Lindtner-Knific, K.Vlahovic, U. Mavri, A.Dovc // Acta Veterinaria Scandinavica. 2011. P. 51-53.
8. Wozniak E. J. The biology, clinical significance and control of the common snake mite, *Ophionyssus natricis*, in captive reptiles / E. J. Wozniak, D. F. De Nardo // J. Herpetol. Med. Surg. Vol.10. 2000. P. 4–10.
9. Wright K. Causes, Prevention, and Treatment of Snake Mites, Acariasis / K. Wright // Reptile Magazine. Vol.101. 2013. P. 28-30.
10. Ydergaard S. The predatory mite *Hypoaspis miles*: temperature dependent life table characteristics on a diet of sciarid larvae, *Bradysia paupera* and *B. Tritici* / S. Ydergaard, A. Enkegaard, H. F. Brodsgaard // Entomologia Experimentalis et Applicata. Vol. 85.1997. P.177-187.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-26-31

УДК: 619:616.995.132

Ключевые слова: зоофильные мухи, телязиоз, сезонная динамика, крупный рогатый скот

Keywords: zoophilic flies, thelaziosis, seasonal dynamics, cattle

Деткова Е. А., Луцук С. Н.

РОЛЬ ЗООФИЛЬНЫХ МУХ В РАСПРОСТРАНЕНИИ ТЕЛАЗИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ЛАБИНСКОМ РАЙОНЕ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

THE ROLE OF ZOOPHILIC FLIES IN THE SPREAD OF BOVINE TELESIOSIS IN THE LABINSKY DISTRICT OF THE KRASNODARSKIY KRAI

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Адрес: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12, Россия.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

«Stavropol State Agrarian University». Address: 355017, 12, Zootekhnicheskyy Lane, Stavropol, Russia

Деткова Елизавета Александровна, аспирант кафедры паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии. E-mail: berryliz@mail.ru

Detkova Elizaveta Aleksandrovna, post-graduate student, department of parasitology and veterinary sanitary inspections, anatomy and pathanatomy. E-mail: berryliz@mail.ru

Луцук Светлана Николаевна, профессор, кафедры паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии. E-mail: s.lutsyk@mail.ru

Lutsuk Svetlana Nikolaevna, professor, department of parasitology and veterinary sanitary inspections, anatomy and a pathanatomy. E-mail: s.lutsyk@mail.ru

Аннотация. В условиях Юга России распространение телязиозной инвазии у крупного рогатого скота осуществляется в основном с помощью зоофильных мух семейства *Muscidae*, в период с апреля по октябрь. Доминантным видом является *Musca osiris*, индекс обилия – 25,6%, а также *Musca autumnalis* – 22,6% и *Musca amica* – 17,3%. Максимальная численность насекомых – 29,6 особей на животном, интенсивность инвазирования – 8,6%, отмечается в июне-июле. Телязиозом болеет крупный рогатый скот всех возрастов, в среднем экстенсивность инвазии 4,5%, но чаще болеет молодняк группы 6-12 месяцев, экстенсивность инвазии – 5,3%. Возбудителем болезни преимущественно является *Th. rhodesi*, экстенсивность инвазирования – 86%.

Summary. In the conditions of the South of Russia, the spread of thelazia invasion in cattle is carried out mainly with the help of zoophilic flies of the Muscidae family, in the period from April to October. The dominant species is *Musca osiris*, the abundance index is 25.6%, as well as *Musca autumnalis* 22.6% and *Musca amica* 17.3%. The maximum number of insects is 29.6 individuals on the animal, the intensity of invasion is 8.6%, noted in June-July. Cattle of all ages are sick with thelaziosis, on average, the intensity of invasion is 4.5%, but more often young animals of the group of 6-12 months are susceptible to the disease, the intensity of invasion is 5.3%. The causative agent of the disease is predominantly *Th. rhodesi*, invasion extensiveness – 86%.

Введение

Телязиоз крупного рогатого скота – гельминтозное заболевание, наиболее распространенное в южных регионах России [2]. У зараженных животных развивается кератоконъюнктивит, приводящий к потере зрения. Животные теряют аппетит, становятся апатичными, что сказывается на качестве и выходе мясной продукции.

Несмотря на широкое распространение телязиоза, недостаточно изучена роль отдельных видов мух в различных природно-климатических зонах, при циркуляции этой инвазии у крупного рогатого скота в условиях Юга России на примере Лабинского района Краснодарского края.

Для установления оптимальных сроков противотелязиозных мероприятий, необходимо определить видовой состав переносчиков заболевания – зоофильных мух, сезонность паразитирования данных насекомых, а также интенсивность инвазирования крупного рогатого скота различными видами телязий.

Материалы и методы

Исследование проводили в весенне-летний и осенний периоды 2021 – 2023 года на животноводческих площадках, расположенных в равнинной и в горной зоне Лабинского района Краснодарского края. Объектом исследования послужил крупный рогатый скот абердин-ангусской породы.

Из данных литературы известно, что возбудителями телязиоза у крупного рогатого скота яв-

ляется *Thelazia rhodesi*, *Th. gulosa*, *Th. skrjabini* [3], идентификацию которых проводили по методу, описанному Г.А. Котельниковым (1974, 1984) [6,7]. Всего было выделено 124 особи телязий у животных различного возраста.

Переносчиками телязий, по ранее опубликованным данным, являются мухи семейства *Muscidae* (*Musca autumnalis*, *M. amica*; *M. osiris*; *M. larvipara*) [5]. Сбор имагинальных стадий мух, паразитирующих на крупном рогатом скоте, осуществляли с помощью энтомологического сачка. Из комплекса насекомых, нападающих на животных, учитывали сезонную динамику и численность семейства *Muscidae*. В период с марта по ноябрь еженедельно определяли количество мух на теле 10 голов крупного рогатого скота за 5 минут времени. Часть собранных мух фиксировали в 70%-ном спирте. Всех мух идентифицировали по определителю Г. А. Гуцевич (1969) [4]. Всего собрано 829 особей.

Данные, собранные во время исследований, обрабатывали по методике В. Н. Беклемешева (1961), определяя индекс обилия (ИО) [1].

Часть собранных особей мух с помощью энтомологического сачка содержали в садках в течение 20 суток и вскрывали по методу Котельникова Г. А. (1984) [5].

Идентификацию инвазионных личинок проводили по признакам, описанным Третьяковой О.Н. (1965) [8].

Таблица 1

Видовой состав зоофильных мух, собранных с области глаз крупного рогатого скота

№ п/п	Вид мух	Равнинная зона		Горная зона	
		Кол-во экземпляров, шт	ИО, %	Кол-во экземпляров, шт	ИО, %
1.	<i>M. osiris</i>	111	26,7	100	24,5
2.	<i>M. autumnalis</i>	88	21,0	100	24,3
3.	<i>M. amica</i>	75	17,9	69	16,8
4.	<i>M. hortorum</i>	20	4,8	17	4,1
5.	<i>M. larvipara</i>	55	13,1	62	15,0
6.	<i>M. vitripennis</i>	69	16,5	63	15,3
Всего:		418	100	411	100

Примечание: ИО – Индекс обилия.

Инвазированность крупного рогатого скота различных возрастных групп телязьями

Показатель	Возрастная группа крупного рогатого скота				Всего
	0 – 6 месяцев	6 – 12 месяцев	От 1 до 2-х лет	От 2 до 5-ти лет	
Всего обследовано, голов	256	409	344	317	1326
Из них инвазировано, голов	11	24	16	10	61
Экстенсивность инвазии, %	4,3 ± 0,9	5,9 ± 1,1	4,6 ± 0,7	3,1 ± 0,4	4,5 ± 0,7
Обнаружено всего телязй, особей	11	52	35	26	124
Интенсивность инвазии (ИИ)	1 ± 0,2	2,2 ± 0,5	2,2 ± 0,2	2,6 ± 0,3	2 ± 0,3
В том числе <i>Th. rhodesi</i>					
Инвазировано, голов	10	21	13	8	52
Кол-во особей телязй	10	48	30	18	107
ИИ	1,0 ± 0,1	2,3 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,0 ± 0,2
Экстенсивность инвазии, %	100	92,3	85,7	69,2	86,2
В том числе <i>Th. skrjabini</i>					
Инвазировано, голов	1	-	-	-	1
Кол-во особей телязй	1	-	-	-	1
ИИ	1,0 ± 0,2	-	-	-	1,0 ± 0,2
Экстенсивность инвазии, %	0,8	-	-	-	0,8
В том числе <i>Th. gulosa</i>					
Инвазировано, голов	-	3	3	2	8
Кол-во особей телязй	-	4	5	8	16
ИИ	-	1,3 ± 0,4	1,6 ± 0,3	4 ± 0,4	2,3 ± 0,3
Экстенсивность инвазии, %	-	7,7	14,3	26,0	13,0

Результаты исследования

При учете количества мух, еженедельно, с марта по ноябрь, за 5 минут времени на 10-ти головах крупного рогатого скота в условиях равнинной и горной зон Лабинского района Краснодарского края был установлен видовой состав мух, паразитирующих на данных животных, который представлен в таблице 1.

При этом отмечено, что доминирующим видом, паразитирующим на крупном рогатом скоте, является *M. osiris*, ее индекс обилия составляет 26,7% в равнинной зоне и 24,5% в горной зоне. На втором месте два вида *M. autumnalis* с индексом обилия 21% в равнинной зоне и 24,3% в горной зоне и *M. amica* – 17,9% и 16,8% соответственно.

Изучая интенсивность инвазирования крупного рогатого скота различными видами телязй по возрастным группам животных (таблица 2), мы выявили, что экстенсивность телязиозной инвазии животных Лабинского района, в среднем составляет 4,5%.

Однако, экстенсивность инвазирования и интенсивность инвазии различными видами телязй у животных отличается в зависимости от

возрастной группы. Так, у всех возрастных групп крупного рогатого скота чаще других встречается *Th. rhodesi*, экстенсивность инвазирования (ЭИ) данного вида телязй составляет – 86,2%, интенсивность инвазии (ИИ) – 2,0 ± 0,2. *Th. gulosa* у крупного рогатого скота регистрируется с 6-ти месяцев. Показатели ЭИ данной особи телязй составляют 13%, ИИ – 2,3 ± 0,3. Обнаружение *Th. skrjabini* было только в единичном случае, ЭИ данного вида составляет 0,8%, ИИ – 1,0 ± 0,2.

Для того, чтобы в оптимальные сроки проводить противотелязиозные мероприятия мы изучали сезонность паразитирования мух переносчиков и экстенсивность инвазии телязьями крупного рогатого скота в равнинной и горной зонах Лабинского района Краснодарского края.

Клиническое обследование животных проводили один раз в декаду на протяжении всего пастбищного сезона с начала апреля по начало ноября. Результаты приведены на рисунках 1 и 2, а также в таблице 3.

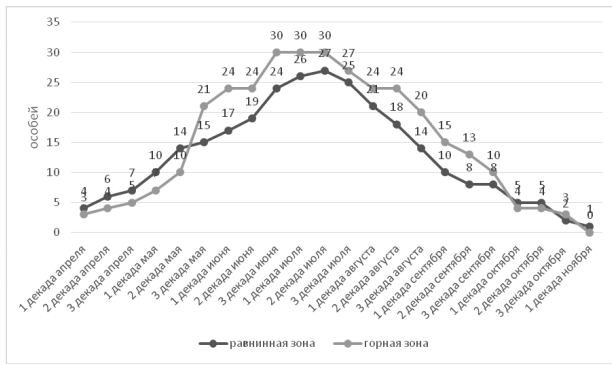


Рис. 1. Динамика сезонной активности лета зоофильных мух в равнинной и горной зонах Лабинского района за 2023 год

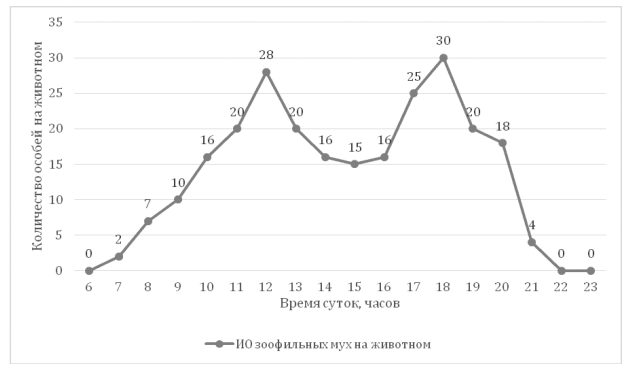


Рис. 2. Суточная динамика активности зоофильных мух в пик паразитирования

Таблица 3

Динамика проявления клинических признаков телязиоза у крупного рогатого скота за 2023 год

Месяц исследования	Количество обследованных животных с клиническими признаками	Животные с подтвержденным заболеванием	Экстенсивность телязиозной инвазии, %
апрель			
1 декада	17	-	-
2 декада	20	-	-
3 декада	27	-	-
май			
1 декада	52	-	-
2 декада	58	-	-
3 декада	63	-	-
июнь			
1 декада	93	8	8,6
2 декада	108	8	7,4
3 декада	105	7	6,6
июль			
1 декада	100	7	7,0
2 декада	89	6	6,7
3 декада	92	5	5,4
август			
1 декада	89	4	4,5
2 декада	84	3	3,6
3 декада	89	4	4,5
сентябрь			
1 декада	64	3	4,6
2 декада	59	3	5,0
3 декада	49	1	2,0
октябрь			
1 декада	30	1	3,3
2 декада	28	1	3,6
3 декада	10	-	-
Итого:	1326	61	5,2%

Оптимальные сроки для проведения противотелязиозных мероприятий для Лабинского района Краснодарского края

Месяц обработки	Вид мероприятий	Количество
Май (с первой декады, перед выпуском на пастбище)	Инсектицидная обработка методом купания	3 Каждую декаду
	Инсектицидная обработка методом купания	4 Еженедельно
Июнь	Инсектицидная обработка методом купания	4 Еженедельно
Июль	Инсектицидная обработка методом купания	3 Каждую декаду
Август	Инсектицидная обработка методом купания	3 Каждую декаду
Сентябрь	Инсектицидная обработка методом купания	3 Каждую декаду
Октябрь	Инсектицидная обработка методом купания	3 Каждую декаду
Ноябрь (первую декаду, перед постановкой на стойловое содержание)	Инсектицидная обработка методом купания	1

Анализируя данные, приведенные на рисунке 1, можно отметить, что единичные особи зоофильных мух встречаются с первой декады апреля – в равнинной зоне, в среднем, 4 особи, в горной зоне – 3 особи. Увеличение количества особей отмечено с первой декады мая, в равнинной зоне – 10 особей, в горной – 7 особей на животном. Пик активности в равнинной зоне начинается с третьей декады июня – 24 особей, достигая максимума во вторую декаду июля – 27 особей. Пик активности в горной зоне отмечается с первой декады июня – 24 особи, достигая максимума к третьей декаде июня. Спад активности зоофильных мух фиксировался со второй декады августа, достигая минимума в первую декаду ноября в равнинной зоне, где в это время была отмечена в среднем 1 особь, и по третью декаду октября в горной зоне – 2 особи на одном животном.

Наблюдая за активностью мух-переносчиков в течении суток, отмечено, что активность насекомых зависит от светового дня (рис. 2).

В суточной активности переносчиков отмечены два пика продолжительностью 4 часа. Во временном промежутке с 10:00 по 14:00 зафиксирован первый период активности, показатели обилия насекомых на одном животном составили, в среднем, 28 особей. В вечерние часы, с 16:00 по 20:00, отмечается второй пик активности, показатели обилия насекомых достигают до 30 особей на одно животное. После наступления сумерек, с приближением ночного времени, количество насекомых на животных резко снижа-

ется. В ночное время, после 21:00 зоофильные мухи прекращают свой лёт.

При анализе данных о экстенсивности инвазии телязиозом крупного рогатого скота (таблица 3) была выявлена особенность – клинические признаки болезни у животных проявляются только с первой декады июня (количество животных с подтвержденным диагнозом – 8 голов, ЭИ составила – 8,6%) и держатся на высоком уровне до третьей декады июля, затем постепенно снижаются к третьей декаде сентября (в среднем, животных с подтвержденным заболеванием телязиоз – 1 голова, ЭИ 3,6 – 2%).

Исходя из полученных данных во время наблюдения за активностью мух-переносчиков телязиоза и экстенсивностью инвазии крупного скота, мы можем предложить оптимальные сроки для проведения противотелязиозных мероприятий для Лабинского района Краснодарского края (таблица 4).

Данные сроки противотелязиозных мероприятий наиболее приемлемы для борьбы с переносчиками заболевания – зоофильными мухами изучаемой местности.

Обсуждение

В последнее десятилетие на территории Краснодарского края не проводились исследования по телязиозу крупного рогатого скота, но заболевание активно распространяется и наносит экономический ущерб, вызывая слепоту у животных, тем самым их преждевременную выбраковку. Поэтому для определения оптимальных сро-

ков противотелязиозных мероприятий нами был изучен видовой состав переносчиков заболевания и их фенологические особенности паразитирования (сезонная и суточная активность), экстенсивность инвазирования телязиозом крупного рогатого скота, а также корреляция проявления клинических признаков заболевания у животных в зависимости от активности паразитирования переносчиков.

В процессе исследований были выявлены некоторые аспекты, на которых мы хотели бы остановиться.

Проводя исследования и наблюдения, мы выявили, что в Лабинском районе Краснодарского края у 4,5% крупного рогатого скота абердин-ангусской породы регистрируется экстенсивность инвазии телязиозом. Болеют животные всех возрастов, но чаще телята от 6 до 12 месяцев. Преобладающим возбудителем болезни является *Th. rhodesi* (в 86,2% случаях). Значительную роль в распространении телязиоза играют переносчики, которые в данном регионе, по нашим наблюдениям, являются мухи семейства *Muscidae*. Видовой состав представлен 6 видами этого семейства, доминирующими видами являются *M. osiris* (ИО 25,6%), *M. autumnalis* (ИО 24,3%) и *M. amica* (ИО 17,3%).

Лет мух начинается с апреля месяца, а первые случаи заболевания телязиозом крупного рогатого скота регистрируются в июне. Это, по-видимому, связано развитием личинки телязии в теле зоофильной мухи до инвазионной особи.

Наиболее высокий уровень экстенсивности и интенсивности инвазии, а также пика активности зоофильных мух – переносчиков телязиоза, приходится на период с начала июня по сентябрь. В другие периоды уровень активности ниже. Это связано с климатическими особенностями Краснодарского края, где в это время температурный режим, комфортный для развития активности мух-переносчиков телязиоза.

Основываясь на полученных результатах исследований и производственной деятельности, мы предложили для Лабинского района Краснодарского края проводить противотелязиозные мероприятия по определенным временным про-

межуткам, которые являются оптимальными в борьбе с переносчиками заболевания.

Заклучение

В Лабинском районе Краснодарского края телязиоз среди крупного рогатого скота Абердин-ангусской породы регистрируется у 4,5% животных. Болеет крупный рогатый скот всех возрастов, но чаще молодняк группы 6-12 месяцев (5,9%). Возбудителем болезни преимущественно является *Th. rhodesi*, в 86,2% случаях и *Th. gulosa* в 13%.

Видовой состав зоофильных мух представлен 6 видами мух, доминантными видами являются – *M. osiris* с индексом обилия – 25,6%, *M. autumnalis* – 22,6% и *M. amica* – 17,3% соответственно.

Наиболее высокий уровень проявления телязиоза у крупного рогатого скота приходится на июнь-сентябрь.

Список литературы

1. Беклемишев В.Н. Термины и понятия, необходимые при количественном изучении популяции эктопаразитов и нидиколов / В. Н. Беклемишев // Зоол. журнал. 1961. Т. 40. Вып. 2. С. 149-158.
2. Беспалова Н.С. Распространение телязиоза крупного рогатого скота на территории Российской Федерации / Н.С. Беспалова, Н.А. Григорьева // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: мат. Междунар. науч. конф. – Москва, 2015. – Вып. № 16. – С. 37–38.
3. Городович Н.М. Диагностика, терапия и профилактика телязиозов крупного рогатого скота, вызываемых *Th. gulosa* и *Th. skrjabini*: автореф. дис. канд. вет. наук: 03.0019 / Городович Николай Михайлович. Б., 1967. 25 с.
4. Гуцевич А.В. Определитель насекомых Европейской части СССР. М.: Изд-во АН СССР, 1969, Т. 5, Ч. 1. С.149-163.
5. Дашинимаев Б.Ц. Распространение телязиоза крупного рогатого скота в Читинской области / Б. Ц. Дашинимаев // Ветеринарные проблемы Забайкалья: Сб. научн. тр. Новосибирск. 1993. С. 6-9.
6. Котельников Г.А. Диагностика гельминтозов животных / Г. А. Котельников. Москва: Колос, 1974. 240 с.
7. Котельников Г.А. Гельминтологическое исследование животных и окружающей среды / Г. А. Котельников. Москва: Колос, 1984. 208 с.
8. Третьякова О.Н. Методика исследования глаз крупного рогатого скота на зараженность телязиями / О. Н. Третьякова // Материалы научн. конф. ВОГ. 1965. Ч. 3. С. 269-270.

Хотите быть в курсе всех новостей журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии»? – вступайте в группу в ВК

<https://vk.com/ivbspbed>

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-32-37

УДК: 619:616.98:578.824.11

Ключевые слова: вакцинация, эпизоотологический мониторинг, вирус бешенства, контроль качества вакцинации.
Key words: vaccination, epizootological monitoring, rabies virus, quality control of vaccination.

¹Алиев А. А., ¹Березкин В. А., ^{1,3}Дресвянникова С. Г., ²Тарлавин Н. В.,
²Веретенников В. В., ¹Красков Д. А., ⁴Искендерова Н. Э., ⁴Лаврик А. А.

**КОНТРОЛЬ НАПРЯЖЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ЖИВОТНЫХ,
ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ БЕШЕНСТВА, И РЕКОМЕНДАЦИИ
ПРИМЕНЕНИЯ ДАННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА**
*CONTROL OF IMMUNITY TENSION OF ANIMALS VACCINATED
AGAINST RABIES AND RECOMMENDATIONS FOR THE USE
OF THIS STUDY IN THE CONDITIONS OF ST. PETERSBURG*

¹СПб ГБУ «Санкт-Петербургская городская станция по борьбе с болезнями животных».
Адрес: 195043, Санкт-Петербург, 2-я Жерновская ул., д. 46
St. Petersburg State Budgetary Institution "St. Petersburg City Animal Disease Control Station".

Address: 195043, Saint Petersburg, 2nd Zhernovskaya str., 46

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный ветеринарный университет».

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

FSBEI HE «St. Petersburg State Veterinary University».

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

³ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

Адрес: 344000, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, д. 1

FSBEI HE "Don State Technical University".

Address: 344000, Rostov-on-Don, Gagarin Sq., 1

⁴ООО «НовиСтем», Белгород

Адрес: 308009, Белгород, ул. Константина Заслонова, д. 199Б

"NoviStem" LLC, Belgorod

Address: 308009, Belgorod, Konstantina Zaslouova str., 199B

Алиев Али Абакарович, доктор ветеринарных наук, профессор, первый заместитель начальника

Aliev Ali Abakarovich – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, First Deputy Head

Березкин Владислав Александрович, ветеринарный врач эпизоотолог, email: berezki.v@yandex.ru

Berezkin Vladislav Aleksandrovich, Veterinarian Epizootologist, email: berezki.v@yandex.ru

Дресвянникова Светлана Георгиевна, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела доп. образования ГБУ
«Санкт-Петербургская горветстанция», доцент кафедры «биология и общая патология» ДГТУ

*Dresvyannikova Svetlana Georgievna, PhD of Veterinary Sciences, Head of the Department of Additional Education
of "St. Petersburg Veterinary Station", Associate Professor of the Department of Biology and General Pathology of DSTU.*

Тарлавин Николай Владимирович, кандидат ветеринарных наук, ассистент кафедры эпизоотологии им. В. П. Урбана

Tarlavin Nikolay Vladimirovich, PhD of Veterinary Sciences, Assistant at the Department of Epizootology named after V. P. Urban

Веретенников Владислав Валерьевич, кандидат ветеринарных наук, ассистент кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана

*Veretennikov Vladislav Valerievich, Phd of Veterinary Sciences, Assistant at the Department
of Epizootology named after V. P. Urban*

Красков Дмитрий Андреевич, ветеринарный врач центра диагностики болезней птиц

и сельскохозяйственных животных

Kraskov Dmitry Andreevich, Veterinarian of the Center for Diagnostics of Diseases of Birds and Farm Animals

Искендерова Надежда Эльдаровна, заместитель генерального директора по развитию

Iskenderova Nadezhda Eldarovna, Deputy General Director of Development

Лаврик Алексей Анатольевич, директор по науке

Lavrik Alexey Anatolyevich, Director of Science

Аннотация. Отметка о вакцинации против бешенства в ветеринарном паспорте животного, несет только информативный характер. В реалиях современного мира доказательством вакцинации является наличие антител в крови животного, которое можно установить, проведя лабораторный тест. Для этого используют серологический тест – FAVN (fluorescent antibody virus neutralization test). Тест измеряет количество антител, вырабатываемых в крови животного после вакцинации против бешенства. Данный тест обычно требуют проводить при вывозе животного за границу с выдачей соответствующего сертификата. Вирус бешенства в Российской Федерации циркулирует как в популяции собак, так и среди диких животных, поэтому проведение тестирования на антирабические антитела

иммунизированных животных может быть актуальным и в иных случаях. В этой статье была поставлена цель – выяснить, в каких случаях необходимо использовать данное исследование.

Summary. *The mark of vaccination against rabies in the veterinary passport of the animal is only informative. In the realities of the modern world and due to the fact that science is taking leaps and bounds, the proof of vaccination is the presence of antibodies in the blood of an animal, which can be established by conducting a laboratory test. For this purpose, one of the most complex serological tests used in laboratory practice is used – RFFIT (rapid fluorescent focus inhibition test) and FAVN (fluorescent antibody virus neutralization test). The test measures the amount of antibodies produced in the animal's blood. This test is usually required to be carried out when exporting an animal abroad with the issuance of an appropriate certificate. The rabies virus in the Russian Federation circulates in the dog population and wild fauna, so testing for anti-rabies antibodies is necessary. In this article, the goal was to find out in which cases it is necessary to use this study.*

Введение

Бешенство остается одним из самых древних смертоносных заболеваний. Еще в древности было известно, что болезнь может передаваться через укус животного. В работах Аристотеля (300 г. до н. э.) бешенство отмечается как одно из заболеваний, поражающих собак и любое животное, которого собака кусает. Во всем мире ежегодно от данной зооантропонозной болезни погибают около 59 000 человек [6, 15]. Вирус бешенства относится к порядку *Mononegavirales*, вирусам с несегментированным геномом с отрицательной цепью РНК, он имеет отчетливую форму «пули» и относится к семейству *Rhabdoviridae*, которое включает как минимум три рода вирусов животных: *Lyssavirus*, *Ephemerovirus* и *Vesiculovirus*. Род *Lyssavirus* включает вирус летучих мышей *Lagos*, *Mokola* и *Duvenhage*, вирус европейских летучих мышей 1 и 2 и вирус австралийских летучих мышей. Заражению бешенством подвержены все виды теплокровных млекопитающих разного возраста. Инкубационный период может длиться от 14 дней и до 2 месяцев, а течение болезни может протекать в буйной, тихой и паралитической форме, летальность при появлении клинических симптомов приближается к 100% [8]. Передается вирус через слюну больных бешенством животных при укусах или при ослюнении поврежденной кожи или слизистых оболочек [12, 16]. В 2015 году Всемирная организация по охране здоровья животных (МЭБ), Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций (ФАО), Программа Организации Объединенных Наций по окружающей среде (ЮНЕП) и Глобальный альянс по борьбе с бешенством (GARС) учредили Объединенную Коллаборацию и Форум против заболевания бешенством и разработали всеобъемлющую глобальную стратегию «Ноль заболеваний к 30-му году»: Глобальный стратегический план по прекращению смертности людей от бешенства, передаваемого собаками, к 2030 году [5].

Профилактические мероприятия

Иммунизация против бешенства является наиболее эффективным методом профилактики заболевания у собак. У людей защита от инфекции может быть достигнута путем профилактической или вынужденной вакцинации. В новейшее время имеются различные вакцины против бешенства, но первую в мире антирабическую вакцину создал великий Луи Пастер в 1885 году, и она была приготовлена из высушенного спинного мозга больных вирусом бешенством кроликов [1].

Вакцинируя собак, мы снижаем риск заражения людей бешенством через укусы животных, тем самым защищая здоровье населения. Вакцина против бешенства стимулирует иммунную систему к выработке защитных антител против вируса бешенства. В случае контакта с вирусом эти антитела нейтрализуют вирус, предотвращая его распространение и возникновение болезни. Широко распространенная вакцинация домашних животных помогает предотвратить передачу бешенства от диких животных [11]. В мире признали бешенство проблемой и организовали широкомасштабные усилия по борьбе с ним. Основные направления противоэпизоотических мероприятий определяют разрыв главных движущих сил эпизоотического процесса путем парентеральной и оральной иммунизаций, а также проведением карантинных мероприятий подозреваемого животного [4]. В Российской Федерации программа по борьбе с бешенством формируется на федеральном уровне, действуют государственные программы по безвозмездной вакцинации домашних животных, которые проводятся различными вакцинами против бешенства, а также проводится вакцинация животных без владельца (бездзорные животные). В Санкт-Петербурге мероприятия проводятся Управлением ветеринарии и подведомственным учреждением Санкт-Петербургской городской станцией по борьбе с болезнями животных (далее Санкт-Петербургская горветстанция). [3]

В целях проведения иммунизации диких плотоядных на особо охраняемых природных территориях регионального значения на территории Санкт-Петербурга, силами Санкт-Петербургской горветстанции совместно с сотрудниками комитета по природопользованию проводится пероральная вакцинация диких животных [7]. В местах обитания диких животных в лесах раскладывают брикеты, состоящие из съедобных для плотоядных продуктов, в которых содержится вакцина в капсуле. В качестве биомаркера в состав приманки включен антибиотик тетрациклинового ряда. Согласно инструкции для контроля эффективности поедания вакцины проводят отстрел нескольких животных, отбирают пробы (нижнюю челюсть) и отправляют ее для дальнейшего исследования в лабораторию [9]. Российскими учеными в лабораторных условиях было установлено, что данный метод применения вакцины весьма эффективен, и у диких плотоядных животных вырабатываются антитела, превышающие минимальный пороговый уровень для защиты от вируса бешенства [2, 10].

В связи с тем, что на территории Российской Федерации (РФ) не регламентирована обязательная сдача проб на антитела к бешенству у домашних животных, граждане РФ воспринимают данное исследование исключительно для того, чтобы вывезти животных за границу, так как этого требует Директива ЕС № 2003/60/ЕС от 24.01.2003 г. о порядке ввоза животных в страны ЕС, а также ряд других стран, таких как Китай, Израиль, Турция и т. д. Санкт-Петербургская горветстанция сотрудничает с одной из трех лабораторий, которые имеют аккредитацию для проведения данного исследования. Аккредитация проводится референсным центром Всемирной организации по охране здоровья животных (Франция).

В данном исследовании мы выяснили, для чего и в каких целях, помимо выезда за границу, по нашему мнению, необходимо использовать вакцину жителям Санкт-Петербурга.

Методология и методы исследований

Объектами исследований были популяции хищных домашних плотоядных (кошки, собаки), экспертные заключения лаборатории, отчетная документация Управления ветеринарии Санкт-Петербурга, а также федеральных служб Российской Федерации (Россельхознадзора, Роспотребнадзора). В 2021–2022 гг. на территории Санкт-Петербурга исследовали 1438 проб сыворотки крови животных, которых вакцинировали против бешенства, из них

762 собаки и 676 кошек. Титр антирабических антител определяли методом флуоресцентных вируснейтрализующих антител (FAVN тест), согласно рекомендациям OIE. Расчет титра антител заключается в расчете 50 % эффективной дозы (ED50) по формуле Спирмена – Кербера и сравнении тестируемой и стандартной сывороток. Полученные данные статистически обрабатывали общепринятыми методами с использованием гистограмм, диаграмм, таблиц, компьютерных программ (Microsoft Office Excel 2007), после чего образцы крови собак и кошек были далее разделены на следующие группы порогового титра: $<0,5$ МЕ/мл (низкие), $\geq 0,5$ — <1 МЕ/мл (средние), ≥ 1 МЕ/мл (высокие). Данные, собранные при эпизоотическом мониторинге, являются информационной основой для рационализации и повышения эффективности мероприятий по предупреждению и ликвидации рабической инфекции на территории Санкт-Петербурга. Также они дают возможность оценить последствия (экономические, социальные и экологические).

Результаты исследований

На территории Российской Федерации, согласно отчетам, ежегодно регистрируются случаи гидрофобии у людей и бешенства у животных (по данным, опубликованным Россельхознадзором и Роспотребнадзором). Всего в 2022 году выявлено 767 очагов бешенства в 64 эндемичных регионах, где заболело и пало 811 животных, из них 401 голова домашних плотоядных (49,5 %), 341 голова диких зверей (42 %), 69 голов — сельскохозяйственных животных (8,5 %). Наибольшее число неблагополучных пунктов в 2022 году отмечено во Владимирской (72) и Челябинской (60) областях. В 2023 году за первый квартал выявлен 271 очаг бешенства в 33 регионах Российской Федерации, где заболело и пало 279 животных, из которых 116 голов домашних плотоядных (кошки и собаки), диких животных — 145 голов, сельскохозяйственных — 18.

В состав Северо-Западного федерального округа входят 11 субъектов РФ, из них 3 субъекта являются благополучными по бешенству: Санкт-Петербург, Ленинградская область и Мурманская область, 4 имеют неопределенный статус по бешенству: Калининградская область, Архангельская область, Республика Карелия, Республика Коми, статус неблагополучия по бешенству относится к 4 субъектам: Вологодской области, Псковской области, Ненецкому автономному округу, Новгородской

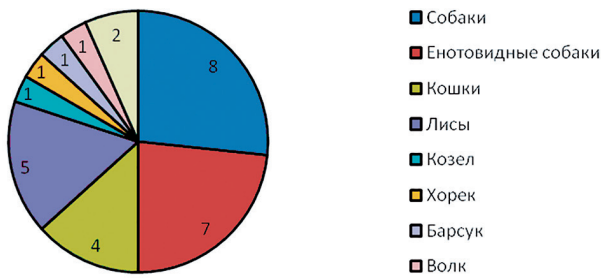


Рис. 1. Удельный вес животных в общей структуре их заболевания бешенством на территории Северо-Западного Федерального округа (в головах)

области. За период с 2020 по 2022 год было зафиксировано 30 случаев заболеваний бешенством у животных, из них: 24 случая в Псковской области, 2 случая в Республике Коми, 1 случай в Новгородской области, 2 случая в Ненецкой автономной области и 1 случай в Вологодской области. По видовому составу преимущественно преобладают собаки – 8 голов, за ними идут енотовидная собака – 7 голов, лисы – 5 голов, кошки – 4 головы, песцы – 2 головы и по 1 голове козел, хорь, барсук, волк.

Согласно таблице 1, уровень заболеваемости диких и домашних плотоядных животных год от года варьирует, но остается стабильным, динамики значительного увеличения или уменьшения случаев болезни нет. В 2019–2021 гг. основной причиной смертности людей от бешенства

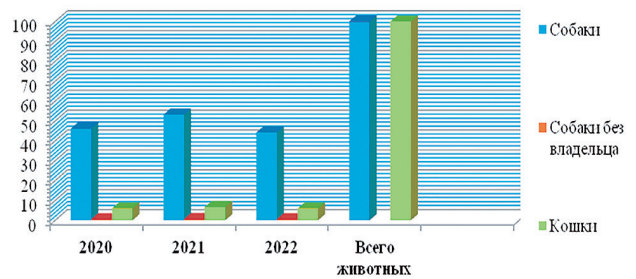


Рис. 2. Удельный вес вакцинированных домашних животных и животных без владельца (собак) к общей структуре поголовья в г. Санкт-Петербург в 2020–2022 гг.

является отказ от получения антирабической медицинской помощи после заражения вирусом бешенства. Заболевания гидрофобией у людей в Северо-Западном федеральном округе за последние три года не зафиксированы.

На территории Санкт-Петербурга согласно сведениям ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге и Ленинградской области» животными в среднем наносятся от 5 до 10 травм ежедневно. Как представлено в таблице 2, в 2020 и 2021 годах количество травм, нанесенных домашними животными, было практически одинаковым, а в 2022 году произошло увеличение количества травм в сравнении с предыдущими годами примерно на 900 случаев. Кроме этого, при сборе информации при расследовании случаев нанесения травм было установ-

Таблица 1

Случаи гидрофобии у людей и случаи бешенства собак, кошек, диких животных в РФ за 2019–2021 гг.

Год	Число случаев у людей	Число случаев у домашних животных	Число случаев у диких животных
2019	3	575	580
2020	8	729	660
2021	6	562	455
Всего:	17	1 866	1 695

Таблица 2

Число травм, нанесенных собаками и кошками в Санкт-Петербурге за 3 года

Год	Всего	Травмы, нанесенные собаками		Травмы, нанесенные кошками		Число случаев бешенства
		Из них привитых животных	Из них непривитых животных	Из них привитых животных	Из них непривитых животных	
2020	3 139	646	471	225	1 797	0
2021	3 047	673	418	384	1 572	
2022	3 986	525	773	865	1 823	

Количество вакцинированных домашних животных и животных без владельца на территории Санкт-Петербурга

№	Вид	Количество вакцинированных голов			В % от общего количества животных в городе: ≈ 300 тысяч собак, ≈ 1 млн кошек		
		2020 г.	2021 г.	2022 г.	2020 г.	2021 г.	2022 г.
1	Кошки	60 279	67 072	59 704	6	6,7	5,9
2	Собаки	138 539	159 654	132 632	46,1	53,2	44,2
3	Собаки (без владельца)	1 792	1 938	1 714	0,59	0,64	0,57
Всего		200 610	228 664	194 050	52,69	60,54	50,6

лено, что практически половина собак не была вакцинирована против бешенства, а количество невакцинированных кошек достигало 65–70 % (таблица 2).

Санкт-Петербург является благополучным регионом по бешенству на протяжении 37 лет благодаря реализации государственных программ, которые финансируются за счет средств бюджета города. Данные государственные программы выполняет Санкт-Петербургская горветстанция. В программу входит: электронное мечение и иммунизация собак сертифицированными в Российской Федерации ассоциированными вакцинами, в состав которых входит бешенство. В отношении животных без владельца (безнадзорные животные) действует специальная государственная программа, в которую входит отлов, кастрация, вакцинация и выпуск животного в естественную среду обитания.

С каждым годом наблюдается тенденция увеличения содержания животных-компаньонов на урбанизированных территориях. Согласно отчетным данным Управления ветеринарии Санкт-Петербурга в городе содержится около 1 млн кошек и 300 тысяч собак. Проанализировав данные ветеринарного учета и отчетности по проведению противоэпизоотических мероприятий, в частности вакцинации собак и кошек против бешенства, представлены в таблице 3 и на рисунке 2.

В 2020–2022 годах объем вакцинаций собак против бешенства сохранялся на одном уровне, хотя и наблюдался некоторый рост в 2021 году на 7 % по сравнению с 2020 годом, и на 9 % по сравнению с 2022 годом. Вакцинация животных без владельца против рабической инфекции остается на стабильном уровне. Если обратить внимание на то, что из общего количества собак в Санкт-Петербурге вакцинировано только 44–50 %, а кошек 6–7 %, то можно говорить о том, что большая часть животных не имеет специфической защиты против вируса бешенства и контакт с больным животным может нести угрозу не только жизни животного, но и жизни человека.

При вакцинации против бешенства в ветеринарный паспорт вносится соответствующая отметка о проведенной вакцинации. Однако показателем качества вакцинации является тест на титр антител к бешенству. С помощью теста определяется количество антител, вырабатываемых в крови животного в ответ на введение вакцины. Международное эпизоотическое бюро утвердило, что для защиты организма от заражения вирусом бешенства, минимальный уровень антител должен быть 0,5 МЕ/мл и выше. Эту информацию вносят в сертификат, который требуется оформить при вывозе домашнего питомца за границу.

Проанализировав имеющиеся данные по исследованию уровня антител после вакцина-

Таблица 4

Количество животных, исследованных на уровень антител к бешенству в Санкт-Петербурге за 2021 и 2022 годы

Вид животного	Всего исследовано	Уровень титров антител в МЕ/мл		
		Из них <0,5	Из них 0,5-1	Из них ≥1
Собака	762	27	53	682
Кошка	676	7	10	659
Всего:	1438	34	63	1341

ции, мы выявили, что в ряде случаев организм вакцинируемого животного не вырабатывал антитела либо вырабатывал недостаточно (таблица 4).

Как представлено в таблице 4, в 2,3 % случаев у животных не вырабатывался достаточный уровень антител, необходимый для защиты от рабической инфекции. Причины недостаточной выработки антител в ответ на вакцинацию могут быть разные, например такие, как: масса тела животного, возраст, генетические особенности породы, тип вакцины, способ введения, а также проведение исследования в период окончания срока действия вакцинации [13, 14, 17].

Заключение

Результаты настоящего исследования показали, что титр антител к бешенству является важнейшим показателем защищенности организма вакцинированного животного, а наличие отметки о вакцинации против бешенства в ветеринарном паспорте животного несет только информативный характер.

Несмотря на то что в Санкт-Петербурге на протяжении 37 лет не выявляли бешенство, данное заболевание может быть занесено на территорию Санкт-Петербурга при перемещении животных из других стран и городов России.

Исходя из вышесказанного, можно рекомендовать проводить исследование на титр антител к бешенству в следующих случаях:

- если животное явилось источником травмы у человека при наличии вакцинации (данный способ будет самым эффективным для подтверждения того, что ваше животное не является источником возбудителя инфекции).
- в случае контакта вашего питомца с диким животным.
- через один месяц после первичной антирабической вакцинации щенков (для проверки эффективности вакцинации).
- при перемещении животного в неблагополучные по бешенству субъекты Российской Федерации.

Список литературы

1. Абрамова Е. Г. Бешенство и антирабические иммунобиологические препараты: от прививки Пастера к современным биотехнологиям / Е. Г. Абрамова, А. К. Никифоров, А. А. Мовсесянц, И. М. Жулидов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2019. № 5. С. 83–94.
2. Авилов М. В. Экспериментальный метод оценки иммуногенности живой вакцины против бешенства диких животных / В. М. Авилов, В. А. Бабак, И. А. Пунтус [и др.] // Ветеринария Кубани. 2019. № 3. С. 7–9.
3. Березкин В. А. Диагностические исследования у собак в рамках противоэпизоотических мероприятий в Санкт-Петербурге за 2018 год / В. А. Березкин, О. В. Козыренко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2021. № 2. С. 28–30.
4. Ершебулов З. Д. Сравнительная эффективность вакцин в жидкой и лиофилизированной формах при оральной вакцинации собак против бешенства / З. Д. Ершебулов, А. Т. Жунушов, Ж. Т. Аманова // Ветеринария сегодня. 2021. № 4(39). С. 317–322.
8. Макаров В. В., Барсуков О. Ю., Барсуков Ю. И. Бешенство: “Zero deaths by 30” // Актуальные вопросы ветеринарной биологии № 3 (55), 2022 стр. 23–31.
10. Макаров В. В. Бешенство: Естественная история на рубеже столетий / В. В. Макаров, А. М. Гулюкин, М. И. Гулюкин. Москва: ЗооВетКнига, 2015. 121 с.
11. Макаров В. В. Оральная вакцинация лисиц против бешенства безальтернативна / В. В. Макаров // Ветеринарная патология. 2009. № 4(31). С. 104–107.
12. Морозов Н. В. Визуализация клинического и субклинического бешенства собак на урбанизированной территории / Н. В. Морозов, В. В. Сочнев, О. В. Козыренко, Е. А. Помазов // Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. 2022. № 1(33). С. 51–56.
13. Осипова Н. И. Оральная вакцинация диких плотоядных животных против бешенства / Н. И. Осипова // Ветеринария. Реферативный журнал. 2010. № 1. С. 188.
14. Шишков А. В. Формирование гуморального иммунного ответа у лис на вакцинный вирус бешенства штамма RV-97 // А. В. Шишков, А. В. Борисов, Д. В. Михалишин [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. 2022. Т. 18. С. 448–464.
15. Brunker K. Rabies Virus / K. Brunker, N. Mollentze // Trends in Microbiology. 2018. №26(10). С. 886–887.
16. Fooks A. R. Rabies / A. R. Fooks, F. Cliquet, S. Finke, C. Freuling, T. Hemachudha, R. S. Mani, T. Müller, S. Nadin-Davis, E. Picard-Meyer, H. Wilde, A. C. Banyard // Nature Reviews Disease Primers. 2017. №3. P. 17091.
17. Handous M. Evaluation of the immune response of dogs after a mass vaccination campaign against rabies in Tunisia / M. Handous, I. Turki, A. Ghram // BMC Veterinary Research. 2023. №19. P. 24.
18. Jakel V. Factors influencing the antibody response to vaccination against rabies. / V. Jakel, M. König, K. Cussler, K. Hanschmann, H.-J. Thiel // Developmental Biology. 2008. №131. P. 431–437.
19. Nahata K. D. On the use of phylogeographic inference to infer the dispersal history of Rabies virus: a review study / K. D. Nahata, N. Bollen, M. S. Gill, M. Layan, H. Bourhy, S. Dellicour, G. Baele G. // Viruses. 2021. №13(8). С. 1628.
20. Ribadeau-Dumas F. La rage [Rabies] / F. Ribadeau-Dumas, L. Dacheux, H. Bourhy // Med Sci (Paris). 2013. №29(1). С. 47–55.
21. Wallace R. M. Risk factors for inadequate antibody response to primary rabies vaccination in dogs under one year of age / R. M. Wallace, A. Pees, J. B. Blanton, S. M. Moore // PLOS Neglected Tropical Diseases. 2017. №11. С. 57–61.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-38-42

УДК: 578.4:616-022.39

Ключевые слова: бешенство, вирус, таксономия, структура, состав, патогенность, эпидемиология
Key words: rabies, virus, taxonomy, structure, composition, pathogenicity, epidemiology

^{1,2}Макаров В. В., ³Барсуков О. Ю., ¹Барсуков Ю. И., ²Лохмачёва С. В.

ЛИССАВИРУСЫ (краткий обзор литературы)

LYSSAVIRUSES
(brief literature review)

¹ФГБУ «Центр ветеринарии».

Адрес: 129344, г. Москва, ул. Лётчика Бабушкина, д. 20
FGBU "Veterinary Center".

Address: 129344, Moscow, Letchika Babushkina str., 20

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
FSAEI of Higher Education "Peoples' Friendship University of Russia".

Address: 117198, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 6

³Областная ветеринарно-санитарная станция.

Адрес: 140009, Московская область, г. Люберцы, ул. Инициативная, д. 46
Regional veterinary and sanitary station,

Address: 140009, Moscow Region, Lyubertsy, Initiativnaya str., 46

В. В. Макаров, доктор биологических наук, профессор, vvm-39@mail.ru
V. V. Makarov, Scientific adviser, Doctor of Biological Sciences, Professor, vvm-39@mail.ru

О. Ю. Барсуков, ветеринарный врач, руководитель противоэпизоотического отдела
O. Yu. Barsukov, Veterinarian, Head of the Anti-Epizootic Department

Ю. И. Барсуков, кандидат ветеринарных наук, директор
Yu. I. Barsukov, PhD of Veterinary Sciences, Director

С. В. Лохмачёва, аспирант департамента ветеринарной медицины, ветеринарный врач,
e-mail: sofialv99@gmail.com

S. V. Lokhmacheva, Postgraduate Student of the Department of Veterinary Medicine, Veterinarian,
e-mail: sofialv99@gmail.com

Аннотация. Краткий информационный обзор посвящен общей характеристике рода лиссавирусов – возбудителей классического бешенства и подобных зоонозных заболеваний. Приведены современные данные и иллюстрации по таксономии, структуре и составу, антигенности, патогенности и эпидемиологии.

Summary. A brief informational review is devoted to the general characteristics of the genus of lyssaviruses – the causative agents of classical rabies and rabies-like zoonotic diseases. Modern data and illustrations on taxonomy, structure and composition, antigenicity, pathogenicity and epidemiology are given.

Таксономия

Лиссавирусы (*Lyssavirus*) – род семейства рабдовирусов (*Rhabdoviridae*), содержащих одноцепочечную линейную (-) РНК, вызывающих инфекционные заболевания позвоночных, беспозвоночных и растений. Вирусы, поражающие животных, пулевидной морфологии,¹ а поражающие растения – бациллоподобны. Длина вирусных частиц от 130 до 380 нм. Семейство включает 30 родов. Современная ранговая классификация ICTV (2019)² представлена следующим образом [4]:

Ранг	Таксоны
Реалм	<i>Riboviria</i>
Царство	<i>Orthornavirae</i>
Тип	<i>Negarnaviricota</i>
Класс	<i>Monjiviricetes</i>
Порядок (отряд)	<i>Mononegavirales</i>
Подсемейство	<i>Alpharhabdovirinae</i>
Семейство	<i>Rhabdoviridae</i>
Род	<i>Lyssavirus</i>

¹ Название семейства происходит от греческого ραβδο – палка.

² Международный комитет по таксономии вирусов. <https://ru.wikipedia.org/wiki/>

Группа по Балтимору – V: (-)оцРНК (вирусы, содержащие одноцепочечную линейную нефрагментированную РНК негативной полярности).

В таблице приводится состав рода.

На основе полногеномного секвенирования лиссавирусы образуют отдельную монофилетическую группу. Геномная структура лиссавирусов высоко консервативна – они содержат только минимальный набор из пяти генов структурных белков: 3' – N (нуклеопротеин) – Р (фосфопротеин, кофактор репликации РНК) – М (матриксный белок) – G поверхностный гликопротеин) – L (вирусные РНК-полимеразы) – 5'. Генетические различия лиссавирусов как критерий видовой дифференциации значительно уже, чем у рабдовирусов других родов, что объясняется эволюционной ограниченностью их уникальной патобиологии и экологических связей с резервуарами и векторами. Основные видовые отличительные признаки сводятся к генетическим расстояниям идентичности нуклеотидов полного гена N с порогом 80–82 %, топологии и согласованности филогенетических деревьев, полученных с помощью различных эволюционных моделей, антигенным паттернам в реакциях с антинуклеокапсидными моноклональными антителами (взамен серологических показателей в тестах нейтрализации вируса поликлональными сыворотками к G-гликопротеину ранее), дополнительно самостоятельности экологических ниш (гостальность паразитарной системы, патобиологические отношения с восприимчивыми животными, географический ареал) [4].

Структура и состав

Частицы лиссавирусов животных имеют форму пули размером 60–110×130–250 нм и состоят из двух структурных единиц. Внутренний спиральный нуклеокапсид диаметром ~ 50 нм содержит РНК, окружающий ее N-белок и несколько копий РНК-полимеразы. Наружная оболочка включает М-белок и трансмембранный G-гликопротеин, соответственно выстилающий с внутренней стороны и покрывающий с внешней стороны липидный бислой вирусной мембраны, образующейся из цитоплазматической мембраны клетки-хозяина в процессе почкования. «Зазубренные» шипы (длиной 8 нм) из трех гликозилированных эктодоменов G выступают через вирусную мембрану, служат лигандом для распознавания вирусом рецепторов чувствительных клеток, являются поэтому протективным антигеном и участвуют в

реакции нейтрализации, определяют иммуногенность и серотиповую специфичность, обладают геагглютинирующей способностью (рисунок 1) [4, 8].

Физико-химический состав частиц лиссавирусов представляют РНК (2–3 %), белки (67–74 %), липиды (20–26 %), углеводы (3 %). Одна молекула нефрагментированной одноцепочечной РНК с отрицательным смыслом длиной ~ 11,9–12,3 т. п. н. тесно связана с N-белком внутри РНП. Пять основных полипептидов – N, м. м. 58–62 кДа, Р – 35–40, М – 22–25, G – 65–80 и L – 190, структурные компоненты, некоторые из них выполняют также другие функции во внутриклеточном инфекционном процессе, в частности, участвуют в модуляции иммунного ответа хозяина. N ингибирует активацию интерферона I типа (IFN), некоторые изоформы Р подавляют как индукцию IFN, так и IFN-зависимую передачу сигналов, М в кооперации с Р модулирует апоптоз и ингибирует образования IFN-β. Липопротеиновый бислой вирусной мембраны состоит из смеси липидов хозяина, включая фосфолипиды, нейтральные липиды и гликолипиды [4, 7, 8].

Антигенность

Формирование филогрупп лиссавирусов (см. таблицу) основано на кросс-реактивности в реакции серонейтрализации, которая коррелирует с генетическим расстоянием между видами. Это имеет важное прикладное значение – используемые в мире современные антирабические средства для профилактики и лечения классического бешенства (вакцины, иммуноглобулины) иммуногенны и протективны против заражения большинством патогенных европейских и азиатских членов рода: EBLV-1 и 2, ABLV, аналогичные перекрестные антигенные связи с вирусами филогруппы I обнаружили также относительно новые IRKV, KHUV, ARAV, GBLV, TWBLV, выявленные в различных отдаленных друг от друга регионах Азии. Не исключено, что в классификационном отношении все они представляют собой био- или топоварианты общего предшественника-космополита (возможно, прототипного RABV), дивергировавшие в процессе адаптации к разным хозяевам и на разных территориях, что подтверждается их гостальным и независимым географическим распределением (см. ниже рисунок 3).

Вторую филогруппу составляют африканские LBV, MOKV и SHIBV на основании

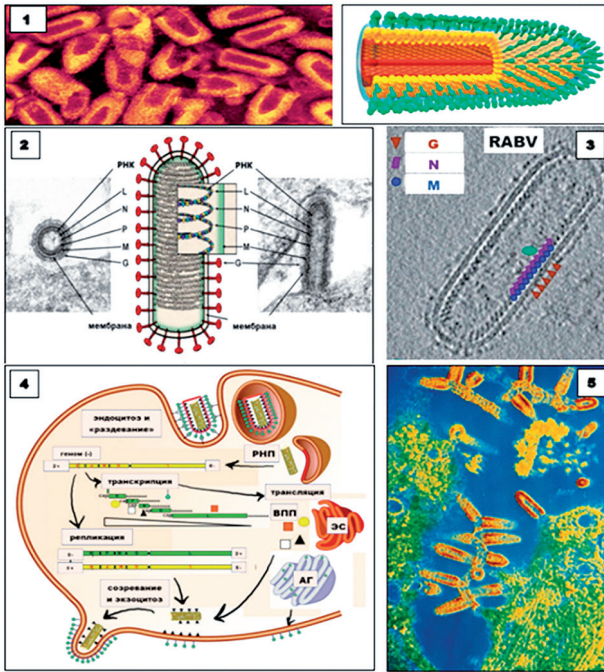


Рис. 1.

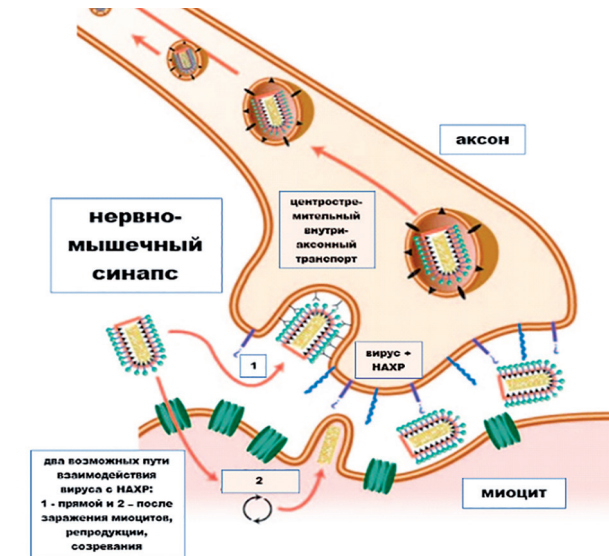
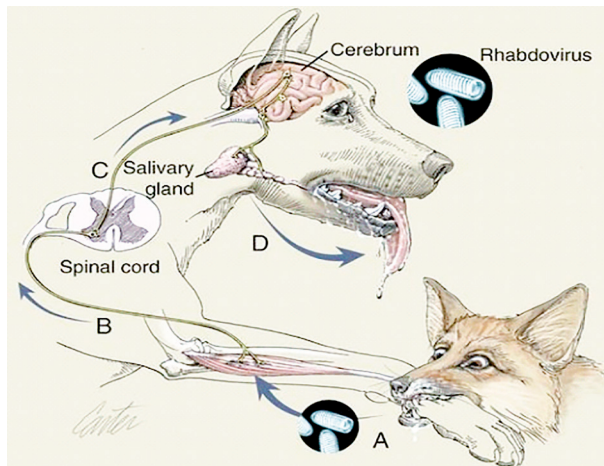


Рис. 2.

того же перекрестного антигенного родства G-гликопротеина и отсутствия нейтрализующих связей с вирусами филогруппы I. Возможно, что независимую филогруппу сформируют новые европейские изоляты лисса-вирусов летучих мышей LLBV, WCB, и африканский IKOV.

В то же время N-белок (нуклеопротеин) лисса-вирусов обладает общей серологической реактивностью для всех представителей рода, что может служить основой диагностики всех лисса-вирусов в тривиальных реакциях с поликлональными сыворотками на общие антигены, например, методом иммунофлюоресценции³ [4, 9].

Патогенность

Лисса-вирусы – исключительно нейротропные патогены, вызывают острый прогрессирующий энцефаломиелит (бешенство животных и гидрофобия человека). Чувствительность ко всем представителям рода всех млекопитающих обусловлена общностью ворот инфекции – никотинового ацетилхолинового рецептора нервного окончания, универсального медиатора передачи нервных импульсов в синаптических соединениях. Тривиальная передача инфекции происходит по эпизоотическим цепям векторного типа исключительно при травмирующих контактах с больным животным-источником (укусах, царапинах, казуистически при контаминации поврежденных внешних и внутренних покровов) путем интраневральной инъекции вирусосодержащей слюны без участия абиотических факторов передачи и членистоногих переносчиков. В результате инъекционного трансдермального заражения возбудитель проникает в моторные или сенсорные нейроны и центростремительно распространяется до цен-



Рис. 3.

³ Это укладывается в универсальные представления об идентификации родовой, групповой и т. п. (по внутренним антигенам) и видовой, типовой (по мембранным, экспонированным антигенам) принадлежности в классификации вирусов на серогруппы и серотипы, соответственно.

Таблица 1

Вирус				Ареал	Резервуар / вектор	Заболуеваемость	
Вид	Наименование	Сокр.	Фило-группа			Животные (региструемые случаи)	Люди
<i>Lissavirus rabies</i>	Rabies virus	RABV	I	Евразия, Африка	Плотоядные	До миллиона и более в год	До 70 тысяч случаев в год
					Рукокрылые	Единичные индекс-случаи*	Единичные индекс-случаи
				Америка	Плотоядные	Тысячи среди диких плотоядных и домашних	Единичные индекс-случаи
					Рукокрылые	До тысячи и более среди КРС	Единичные индекс-случаи
<i>Lissavirus hamburg</i>	European bat lissavirus 1	EBLV-1	I	Европа	Насекомоядные рукокрылые	Уникальные индекс-случаи	Уникальный индекс-случай
<i>Lissavirus helsinki</i>	European bat lissavirus 2	EBLV-2	I	Европа	Насекомоядные рукокрылые	Неизвестно	Уникальные индекс-случаи
<i>Lissavirus bokeloh</i>	Bokeloh bat lissavirus	BBLV	I	Европа	Насекомоядные рукокрылые	Нет данных	
<i>Lissavirus lleida</i>	Lleida bat lissavirus	LLEBV	III-IV	Европа (Испания)	Насекомоядные рукокрылые	Нет данных	
<i>Lissavirus australis</i>	Australian bat lissavirus	ABLV	I	Австралия	Плодо- и насекомоядные рукокрылые	Уникальный индекс-случай	2 индекс-случая
<i>Lissavirus aravan</i>	Aravan virus	ARAV	I	Центральная Азия	Насекомоядные рукокрылые	Нет данных	
<i>Lissavirus irkut</i>	Irkut virus	IRKV	I	Восточная Сибирь	Насекомоядные рукокрылые	Неизвестно	Уникальные индекс-случаи
<i>Lissavirus gannoruwa</i>	Gannoruwa bat lissavirus	GBLV	I	Азия	<i>Pteropus giganteus</i>	Нет данных	
<i>Lissavirus khujand</i>	Khujand virus	KHUV	I	Центральная Азия	Насекомоядные рукокрылые	Нет данных	
<i>Lyssavirus formosa</i>	Taiwan bat lyssavirus	TWBLV	I	Ю.-В. Азия	<i>Japanese pipistrelles</i>	Нет данных	
<i>Lissavirus caucasicus</i>	West Caucasian bat virus	WCBV	III-IV	Кавказский регион	Насекомоядные рукокрылые	Нет данных	
<i>Lyssavirus duvenhage</i>	Duvenhage virus	DUVV	I	Южная Африка	Насекомоядные рукокрылые	Неизвестно	Единичные индекс-случаи
<i>Lyssavirus ikoma</i>	Ikoma lyssavirus	IKOV	III-IV	Африка	Не установлен	Уникальный индекс-случай	Нет данных
<i>Lyssavirus lagos</i>	Lagos bat virus	LBV	II	Африка	Плодо- и рукокрылые	Уникальные индекс-случаи	Нет данных
<i>Lyssavirus mokola</i>	Mokola virus	MOKV	II	Субсахарная Африка	Не установлен	Спорадические случаи	Уникальный индекс-случай
<i>Lyssavirus shimoni</i>	Shimoni bat virus	SHIBV	II	Восточная Африка	<i>Hipposideros commersoni</i>	Нет данных	

* индекс-случай – внезапное возникновение заболевания, указывающее на присутствие и скрытую активность неизвестного источника возбудителя, служащее его индикатором, индекс-вспышка – то же при заболевании нескольких особей.

тральной нервной системы (ЦНС), используя ретроградный аксональный транспорт по нейронным связям (рисунок 2). Нервная система, как ЦНС, так и периферические нервы, представлена забарьерными органами с иммунной привилегией,⁴ защищенными от иммунного надзора хозяина, что приводит к отсутствию ответа и на проникший туда возбудитель. Нейропатологические изменения в инфицированном головном мозге гистологически относительно легкие, по сравнению с общепринятой инфекционной цитопатоморфологией вирусиндуцированные эффекты направлены прежде всего на значительное функциональное изменение ЦНС. Из других органов и тканей вирусы выделяются казуистически лишь в низких титрах. Исключение представляют слюнные железы – единственный путь экстраневрального выхода во внешнюю среду, где вирус проходит дополнительные циклы репродукции и выделяется в слюну для завершения экскреции и передачи по эпизоотической цепи. Острая генерализованная дисфункция ЦНС приводит к летальному исходу заболевания [1, 2, 5, 7].

Эпидемиология

Диагностика в случаях заболевания животных и человека традиционно ограничивается классическим фатальным энцефаломиелитом аналогично инфекции RABV первого генотипа, хотя при инфекции лиссавирусами новых генотипов возможны и иные фатальные клинические проявления.

В природе лиссавирусы связаны с конкретными резервуарами, преимущественно с хищниками и летучими мышами, в рамках паразитарных систем двух архетипов – наземной и воздушно-наземной. Распространение инфекций на млекопитающих других видов в подавляющем большинстве случаев приводит к тупиковому концу цепной передачи. Основными хозяевами лиссавирусов в филогенетическом плане их естественноисторического происхождения являются представители отряда рукокрылых (*Chiroptera*). Хищники (отряд *Carnivora*) поддерживают циркуляцию только вируса бешенства (RABV). Лиссавирусы распространены по всему миру, кроме Антарктиды и нескольких

изолированных островов, имеют разные ареалы циркуляции относительно типологии паразитарных систем. В пределах одного географического кластера могут одновременно существовать разные независимые циклы заражения и экотипы, как, например, в Северной Америке, где первичными резервуарными хозяевами являются рукокрылые и хищники (еноты, скунсы, рыжие и серые лисицы, койоты, песцы), и в Бразилии – соответственно домашние плотоядные, еноты, лисицы и даже приматы (рисунок 3).

Помимо универсально патогенного RABV, восприимчивости и гостальности рукокрылых патогенность для животных разных видов, в том числе домашних, установлена у EBLV-1, ABLV, IKOV, MOKV, SHIBV. Многие из лиссавирусов, например, EBLV-1 и 2, ABLV, DUVV, IRKV, MOKV, вызывают фатальную инфекцию человека, неотличимую от классического бешенства (см. таблицу). Имеющиеся данные свидетельствуют о реальном эпидемическом и эпизоотическом потенциале представителей этого рода [1, 2, 3, 6, 9].

Список литературы

1. Макаров В. В. Бешенство: естественная история на рубеже столетий / В. В. Макаров, А. М. Гулюкин, М. И. Гулюкин. М.: ЗооВетКнига, 2015. 121 с.
2. Макаров В. В. Новые особо опасные инфекции, ассоциированные с рукокрылыми / В. В. Макаров, Д. А. Лозовой. Владимир: РУДН, ФГБУ ВНИИЗЖ; 2016. 160 с.
3. Calisher Ch. Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses / Ch. Calisher, J. Childs, H. Field et al. // Clin. Microbiol. Rev. 2006. 19. P. 531–545.
4. Genus: Lyssavirus. // https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/mononegavirales/w/rhabdoviridae/795/genus-lyssavirus
5. Johnson N. The immune response to rabies virus infection and vaccination. / N. Johnson, A. Cunningham, A. Fooks // Vaccine. 2010 May 21;28(23):3896-901. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.03.039. Epub 2010 Apr 3. PMID: 20368119.
6. Kuzmin I. Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited / I. Kuzmin, B. Bozick, S. Guagliardo et al. // Emerging Health Threats Journal. 2011. 4. 7159. DOI: 10.3402/ehj.v4i0.7159
7. Rabies. Scientific Basis of the Disease and Its Management. 4th Edition – May 5, 2020. Eds: A. Fooks, A. Jackson.
8. Riedel C. Components and Architecture of the Rhabdovirus Ribonucleoprotein Complex. / C. Riedel, A. Hennrich, K. Conzelmann // Viruses. 2020 Aug 29;12(9):959. doi: 10.3390/v12090959. PMID: 32872471; PMCID: PMC7552012.
9. WHO Expert Consultation on Rabies: first report // WHO technical report series. 2004. № 931.

⁴ Части организма, в которых отсутствуют механизмы как адаптивного, так и врожденного иммунного ответа (антигенпрезентирующие клетки, лимфоциты, макрофаги, воспаление, отторжение трансплантата), отграниченные анатомическими барьерами – эмбрион с плацентарным барьером, нервная система с гематоэнцефалическим барьером, тестикулы, глаза. Типичный пример в инфекционной патологии – аборт и орхиты при бруцеллезе. [https://en.wikipedia.org/wiki/Immune_privilege]

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-43-52

УДК: 619:616.98:578.835.2:616-078.33(049.32)

Ключевые слова: вирус ящура серотипа SAT 2, иммуноферментный анализ, гуморальный иммунитет

Keywords: foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2, enzyme immunoassay, humoral immunity

¹Луговская Н. Н., ¹Силантьева Е. А., ¹Михалишин Д. В., ¹Мороз Н. В., ²Малыгин М. П.,
¹Харитонов А. А., ¹Доронин М. И., ¹Гочмурадов Ы. М., ¹Оковытая Т. В., ¹Борисов А. В.

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ
К СТРУКТУРНЫМ БЕЛКАМ ВИРУСА ЯЩУРА ГЕНОТИПА SAT2/VII
В ЖИДКОФАЗНОМ БЛОКИРУЮЩЕМ ВАРИАНТЕ ИФА**
*DIAGNOSTIC TEST-SYSTEM FOR DETECTION OF ANTIBODIES TO STRUCTURAL PROTEINS
OF FMD VIRUS GENOTYPE SAT2/VII IN THE LIQUID-PHASE BLOCKING ELISA*

¹ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

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

Federal Centre for Animal Health, Federal Center for Animal Health

Address: 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets

²Областное бюджетное учреждение здравоохранения «Ивановский областной наркологический диспансер»

Адрес: 153008, Россия, г. Иваново, ул. Постышева, д. 54/1

Regional budgetary healthcare institution

"Ivanovo Regional Narcological Dispensary".

Address: 153008, Russia, Ivanovo, Postysheva str., 54/1

Луговская Н. Н., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура,
e-mail: lugovskaya@arriah.ru

*Lugovskaya N. N., PhD of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Foot and Mouth Disease
Prevention, e-mail: lugovskaya@arriah.ru*

Силантьева Е. А., аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура, e-mail: silantyeva_ea@arriah.ru
*Silantyeva E. A., Post-graduate Student, Veterinarian at the Laboratory of Foot and Mouth Disease Prevention,
e-mail: silantyeva_ea@arriah.ru*

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

*Mikhalishin D. V., Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of Foot and Mouth Disease Prevention,
e-mail: mihalishindv@arriah.ru*

Мороз Н. В., кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по производству
Moroz N. V., PhD of Veterinary Sciences, Deputy Director for Production

Малыгин М. П., заведующий отделением, e-mail: ivreg@doctor-malygin.ru
Malygin M. P., head of the department, e-mail: ivreg@doctor-malygin.ru

Харитонов А. А., ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура, e-mail: haritonova_aa@arriah.ru
*Kharitonova A. A., Veterinarian at the Laboratory of Foot and Mouth Disease Prevention,
e-mail: haritonova_aa@arriah.ru*

Гочмурадов Ы. М., аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура,
e-mail: gochmuradov@arriah.ru

*Gochmuradov Y. M., Post-graduate Student, Veterinarian at the Laboratory of Foot and Mouth Disease Prevention,
e-mail: gochmuradov@arriah.ru*

Доронин М. И., доктор биологических наук, руководитель сектора биотехнологии лаборатории профилактики
ящура, e-mail: doronin@arriah.ru

*Doronin M. I., Doctor of Biological Sciences, Head of the Biotechnology Sector of the Laboratory of Foot and Mouth
Disease Prevention, e-mail: doronin@arriah.ru*

Оковытая Т. В., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура,
e-mail: okovitaya@arriah.ru

*Okovytaya T. V., PhD of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Foot and Mouth Disease
Prevention, e-mail: okovitaya@arriah.ru*

Борисов А. В., кандидат ветеринарных наук, заместитель заведующего лабораторией профилактики ящура,
e-mail: borisov_av@arriah.ru

*Borisov A. V., PhD of Veterinary Sciences, Deputy Head of the Laboratory for the Prevention of Foot and Mouth
Disease, e-mail: borisov_av@arriah.ru*

Аннотация. Разработана диагностическая тест-система для определения антител к структурным белкам вируса ящура генотипа SAT2/VII на основе жидкофазного блокирующего варианта ИФА. Разработка включала изготовление и оценку качества следующих компонентов реакции: антигена вируса ящура, сенсибилизирующих (улавливающих) и детекторных антител, контрольных образцов сыворотки крови; определение рабочих разведений специфических компонентов с их последующей лиофилизацией. Были проведены испытания и анализ пригодности набора для определения антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2. Данная тест-система позволяла обнаруживать специфические антитела к вирусу ящура серотипа SAT 2 в сыворотке крови вакцинированных или переболевших свиней и крупного рогатого скота. В тестовую панель входили 276 образцов сыворотки крови от иммунизированного моно- или поливалентной противоящурной вакциной (типы А, О, Asia 1 и/или SAT 1, SAT 2, SAT 3) и не вакцинированного против ящура крупного рогатого скота разных возрастных групп; экспериментальные сыворотки крови, отобранные от вакцинированных или зараженных ящуром серотипа SAT 2 свиней и крупного рогатого скота до и после проведения опыта. На основе статистического анализа результатов ИФА определили диагностические характеристики нового набора по данной выборке образцов: чувствительность – 96,84 %, специфичность – 97,79 %, точность – 97,46 %. Полученное значение k-критерия 0,944 свидетельствовало о высокой степени согласованности результатов с диагностическим статусом животных.

Summary. A diagnostic test system for the detection of antibodies to structural proteins of the FMDV genotype SAT2/VII based on a liquid-phase blocking ELISA variant has been developed. The development included the manufacture and quality assessment of the following reaction components: FMDV antigen, sensitizing (catching) and detection antibodies, control samples of blood serum; determination of working dilutions of specific components with their subsequent lyophilization. Tests and analysis of the suitability of the kit for the detection of antibodies to structural proteins of foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2 were carried out. This test system made it possible to detect specific antibodies to foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2 in the blood serum of vaccinated or recovered pigs and cattle. The test panel included 276 blood serum samples from immunized with mono- or polyvalent FMD vaccine (types A, O, Asia 1 and/or SAT 1, SAT 2, SAT 3) and not vaccinated against FMD cattle of different age groups; experimental blood sera taken from pigs and cattle vaccinated or infected with FMD serotype SAT 2 before and after the experiment. Based on the statistical analysis of the ELISA results, the diagnostic characteristics of the new set for this set of samples were determined: sensitivity – 96.84 %, specificity – 97.79 %, accuracy – 97.46 %. The obtained k-criterion value of 0.944 indicated a high degree of agreement between the results and the diagnostic status of the animals.

Введение

Ящур – острая высококонтагиозная везикулярная болезнь домашних и диких парнокопытных жвачных животных, которая вызывается РНК-содержащим афтовиром семейства Picornaviridae. Классифицировано 7 следующих серотипов ящура: А, О, С, SAT 1, SAT 2, SAT 3 и Asia 1. Ящур влечет за собой значительные экономические потери, связанные с негативным влиянием на производство животноводческой продукции, и является препятствием для региональной и международной торговли животными и продуктами животного происхождения. По оценкам ВОАН (Всемирная организация здравоохранения животных, основана как OIE), болезнь циркулирует у 77 % мирового поголовья домашнего скота в Африке, на Ближнем Востоке и в Азии, а также на ограниченной территории Южной Америки [6]. В связи с чем существует риск заноса инфекции в страны, свободные от ящура без вакцинации. Борьба с ящуром заключается в проведении своевременных профилактических мероприятий, таких как эффективный эпидемиологический контроль за болезнью; вакцинирование против ящура домашних и сельскохозяйственных животных; надзор за передвижением диких парнокопытных животных в приграничных районах, подверженных

рisku проникновения возбудителя из стран, неблагополучных по ящурю; мониторинговые исследования по оценке иммунного статуса сельскохозяйственного и домашнего скота, включая ретроспективную диагностику ящура.

На территории Африканского континента периодически регистрируются вспышки ящура серотипа SAT 2. Для выявления генетических связей между различными изолятами и штаммами обычно применяют нуклеотидное секвенирование по Сенгеру. Представители вируса ящура серотипа SAT 2 характеризуются высокой генетической изменчивостью и разделяются на 14 топотипов (I – XIV). Такое генетическое и антигенное разнообразие приводит к проблемам в специфической профилактике ящура при применении культуральных инактивированных противоящурных вакцин, а также затрудняет штаммоспецифическую диагностику выделенных изолятов вируса ящура. В результате возникает необходимость создания новых средств диагностики и специфической иммунопрофилактики в отношении ящура серотипа SAT 2.

В настоящее время эпизоотическая ситуация на Африканском континенте преимущественно связана с представителями возбудителя данного заболевания генотипа SAT2/VII, который распространен в странах Северной Африки, в частности, в Египте, где вспышки отмечали в период с

2012 по 2022 гг., и Ливии (2012 г.). На территории Западной Африки, в частности, в Камеруне (2014 г.), Нигерии (2019–2021 гг.), также преимущественно циркулирует вирус ящура данного генотипа. В указанных странах проводились мероприятия по ликвидации и борьбе с ящуром. При этом появлялись новые представители данного генотипа, которые имели геномные и аминокислотные замены, что приводило к появлению новых свойств. Прогнозы экспертов неутешительны в отношении распространения данного варианта вируса ящура за пределы эндемичных территорий. Вспышки ящура серотипа SAT 2 зарегистрированы в 2023 году в некоторых странах Евразийского континента, в том числе, в Ираке, Иордании, Турции, ранее в Саудовской Аравии (2000 г.) и Палестине (2012 г.) [5].

Учитывая усиление торгово-экономических связей Российской Федерации со странами Африканского континента в последние годы, а также тесное сотрудничество со странами СНГ и Ираном, где не проводится профилактическая вакцинация поголовья скота против ящура серотипа SAT 2, возникает серьезный риск заноса вируса ящура данного серотипа на территорию Российской Федерации. В связи с чем большую актуальность приобретают производство вакцин против ящура серотипа SAT 2, разработка и внедрение диагностических тест-систем для оценки эффективности вакцинации и напряженности иммунитета против ящура серотипа SAT 2 у сельскохозяйственных и домашних парнокопытных животных, а также для обнаружения постинфекционных противоящурных антител в сыворотке крови невакцинированных животных.

Целью данной работы было создание диагностического набора на основе жидкофазного блокирующего варианта иммуноферментного анализа для определения антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2 топотипа VII, оценка его пригодности и возможности применения для выполнения вышеуказанных задач.

Материалы и методы

Для проведения идентификации и филогенетического анализа штаммов вируса ящура серотипа SAT 2 осуществляли секвенирование по Сенгеру. Для исследования делали элюирование вирусной РНК, обратную транскрипцию и полимеразную цепную реакцию (ОТ-ПЦР) с последующим гель-электрофорезом в 1,0 %-ном агарозном геле. Для анализа необработанных последовательностей использовали редактор выравнивания последовательностей

BioEdit последней версии. Выравнивания, содержащие нуклеотидные последовательности кДНК вируса ящура, были построены с использованием программы Clustal W. Эволюционная история была выведена с использованием критерия максимального правдоподобия, основанного на 3 параметрах классической модели Tamura. Дерево было нарисовано в масштабе, с длиной ветвей, измеренной в количестве замен на сайт. Эволюционный анализ был проведен в MEGA7. Выравнивание аминокислотных последовательностей проводили с использованием Clustal X.

Антиген вируса ящура серотипа SAT 2, штамм SAT2/LIB/39/2012, для реакции жидкофазного блокирующего варианта ИФА (жБИФА) и иммунизации животных получали из инактивированной вирусосодержащей суспензии клеток ВНК-21. Концентрирование антигена производили путем преципитации вирусного белка 8 %-ным полиэтиленгликолем 6000 (ПЭГ 6000) с добавлением 0,85 % NaCl в течение 18–24 часов при 4 °С. Преципитированный белок осаждали при 6000 об/мин и температуре 4 °С за 30 минут. Осадки ресуспендировали в нужном объеме фосфатно-буферного раствора (ФБР). Затем антигенсодержащий материал подвергали первичной очистке хлороформом и фракционировали за 15 минут при 2000 об/мин. Для последующего выделения 146S-антигена ультрацентрифугированием в ступенчатом градиенте плотности сахарозы (10–50 % сахарозы в ФБР) отбирали верхнюю водную фракцию (преципитат Ag). Фракционированный антиген анализировали спектрофотометрически при длине волны 260 нм и электрофоретически в 12 %-ном полиакриламидном геле при постоянном напряжении 200V, как описано ранее [13, 14]. Белковые образцы денатурировали при 100 °С за 5 минут в присутствии 0,5M трисHCl (pH 6,8), 4 % додецил сульфата натрия, 0,2 % бромфенолового синего, 20 % глицерина, 4 % β-меркаптоэтанола. Молекулярный вес белков определяли в соответствии со стандартными маркерными белками 10–250 кДА, (Precision Plus Protein Standards, Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Концентрацию белка определяли по методу Бредфорда с использованием реагента на основе кумасси G250 и ортофосфорной кислоты, белковых стандартов, содержащих разное количество бычьего сывороточного альбумина, при длине волны 595 нм, как описано ранее [8].

Приготовленный таким образом 146S-антиген использовали для получения гипериммунной сыворотки крови кроликов, морских свинок и сви-

ней, а также в «жидкой фазе» при постановке реакции жБИФА. Антиген вируса ящура серотипа SAT 2 для иммунизации крупного рогатого скота (КРС) концентрировали методом ультрафильтрации. Антиген вводили внутримышечно кроликам, свиньям и КРС в объеме 2 мл, морским свинкам – 1 мл. Иммунизацию животных производили двукратно на 0 и 21-22 сутки, обескровливали – на 28–35 сутки.

Для подбора рабочих разведений компонентов реакции жБИФА, в том числе, улавливающих и детекторных антител, антигена, иммунопероксидазного конъюгата вторичных антител кролика к IgG морской свинки, использовали стандартную панель образцов штаммоспецифической сыворотки крови свиней и КРС, включавшую как гомологичные образцы, так и гетерологичные, полученные на другие типы вируса ящура, а также нормальную сыворотку крови, отобранную от не вакцинированных против ящура животных.

Постановку реакции жБИФА проводили, как описано ранее [17], с некоторыми модификациями. Вкратце, 96-луночные планшеты для ИФА (F96 Maxisorb NUNC-immuno plate, Thermo scientific, Дания) сенсibilизировали SAT2-специфической сывороткой крови кролика, разведенной в карбонатно-бикарбонатном буфере, pH 9,6, в объеме 0,1 мл раствора на лунку, в течение 18 ч при температуре 4 °С либо 1 ч при температуре 37 °С. Перед постановкой основной реакции жБИФА готовили «жидкую фазу»: в лунках круглодонного планшета исследуемые и контрольные образцы сыворотки крови, разведенные 1:16 в трис-буферном растворе (ТБРТ), pH 7,4–7,6, включающем 0,01М трисHCl, 0,8М NaCl, 0,1 % TWEEN20, смешивали с равным объемом рабочего раствора 146S-антигена вируса ящура серотипа SAT 2 в ТБРТ. Конечное разведение сыворотки – 1:32. Для образования иммунного комплекса «антиген-антитело» смесь выдерживали 18 ч при температуре 4 °С либо 1 ч при температуре 37 °С. Затем смесь по 50 мкл переносили в лунки предварительно промытого буферным раствором ТБРТ планшета с иммобилизованными улавливающими антителами и инкубировали в течение 1 ч при температуре 37 °С при постоянном перемешивании в термошейкере. По завершении этапа инкубации и промывки в лунки планшета вносили детекторные антитела (сыворотка крови морской свинки к 146S-антигену вируса ящура типа SAT2), разведенные в ТБРТ, дополненном 1 %-ной блокирующей сывороткой (фетальная сыворотка КРС),

в том же объеме. Далее следовали этапы выявления специфических антител морской свинки с помощью антивидового иммунопероксидазного конъюгата (Дако, Дания) с последующей визуализацией результатов реакции внесением в лунки планшета хромогенного субстрата АБТС (2,2'-азино-ди3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота). Все отдельные этапы реакции жБИФА перед процедурой окрашивания заканчивались трехкратной промывкой лунок планшета раствором ТБРТ. Останавливали процесс окрашивания добавлением в лунки с АБТС 1 %-ного раствора додецил сульфата натрия (SDS). Результаты анализа учитывали инструментальным способом. Оптическую плотность (ОП) продуктов реакции в каждой лунке измеряли при длине волны 415 нм, используя спектрофотометр (ридер) для микропланшетов с вертикальным лучом света. Значения ОП контрольных и исследуемых образцов переводили в значение процента ингибиции (PI) по формуле:

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

где ОПпробы – среднее значение оптической плотности смеси исследуемого или контрольного образца с антигеном вируса ящура; ОПКА – среднее значение оптической плотности контроля антигена; ОПКК – среднее значение оптической плотности контроля конъюгата.

Образцы сыворотки крови, демонстрировавшие значение $PI \geq 50\%$, считали положительными, а животных, от которых получены данные образцы, иммунными к ящуру. Значение $PI < 50\%$ являлось отрицательным, что свидетельствовало об отсутствии специфических антител к вирусу ящура в сыворотке крови обследуемых животных.

Также в работе использовали тест-системы на основе жБИФА для обнаружения антител к структурным белкам вируса ящура серотипов А, О, Asia 1 разных штаммов, разработанных в ФГБУ «ВНИИЗЖ», в соответствии с инструкцией по применению набора для определения антител к структурным белкам вируса ящура в ИФА (табл. 1); наборы для обнаружения антител к вирусу ящура типов А, О или Asia 1 ведущих европейских производителей в соответствии с рекомендациями к набору: PrioCHECK® FMDV, Prionics (Нидерланды/Швейцария); SPCE for antibodies specific to FMDV, IZSLER (Италия) & the Pirbright Institute (Великобритания); ID Screen® FMD Competition, Innovative Diagnostics (Франция).

Таблица 1

Производственные штаммы вируса ящура, использованные в работе

Тип вируса ящура	Название штамма вируса ящура	Обозначение штамма в статье	Топотип	Генетическая линия
SAT 1	SAT1 96/Ахалкалакский/62	SAT1/Akhal/62	_*	-
SAT 2	SAT2/LIB/39/2012	SAT2/LIB/12	VII	Lib-12
	SAT2/ERI/98	SAT2/ERI/98	VII	-
	SAT2/EGY/4/2012	SAT2/EGY/12	VII	Ghb-12
	SAT2/SAU/7/2000	SAT2/SAU/00	VII	-
SAT 3	SAT3 Bech 1/65	SAT3/Bech/65	II	-
A	A 2155/Забайкальский/13	A/Zab/13	ASIA	Sea-97
	A 2029/Турция/06	A/TUR/06	ASIA	Iran-05
	A 2269/ВНИИЗЖ/15	A/ARRIAN/15	ASIA	G-VII
O	O 2047/Саудовская Аравия/08	O/SAU/08	ME-SA	PanAsia2
	O 1734/Приморский/2000	O/Prim/00	ME-SA	-
	O 2212/Приморский/2014	O/Prim/14	SEA	Mya-98
	O 2356/Пакистан/18	O/PAK/18	ME-SA	PanAsia2
	O 2311/Забайкальский/2016	O/Zab/16	ME-SA	Ind 2001
	O 2344/Монголия/2017	O/MOG/17	ME-SA	Ind 2001
Asia 1	Азия-1 1946/Shamir/Израиль/3/89	Asia1/Shamir/89	ASIA	Shamir

Примечание: * – нет данных.

Исследуемым материалом в ИФА служили образцы сыворотки крови свиней и КРС, поступавших в референтную лабораторию диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках мониторинговой программы по ящуру; экспериментальные сыворотки крови. В тестовую панель входили 276 образцов сыворотки крови от иммунизированного моно- или поливалентной противоящурной вакциной (серотипы А, О, Asia 1) и не вакцинированного против ящура скота разных возрастных групп; экспериментальные сыворотки крови, отобранные от вакцинированных против ящура серотипа SAT 2 или зараженных вирусом ящура серотипа SAT 2 свиней и крупного рогатого скота (КРС) до и после проведения опыта; моноспецифические сыворотки крови свиней и КРС, полученные против антигена вируса ящура разных типов.

Статистический анализ производили с помощью интернет-ресурсов, в том числе MedCalc’s Diagnostic test evaluation calculator [16], Kappa Calculator [12].

Результаты и обсуждение

Несмотря на то что ящур серотипа SAT 2 является эндемичной болезнью парнокопытных жвачных животных в африканских странах [7], особенно в дикой природе, существует угроза его более широкого распространения на другие страны. Россия не является исключением, поскольку

имеет тесные торгово-экономические связи с Ираном, Арменией, Азербайджаном, Грузией, Казахстаном, Киргизией, Узбекистаном, Туркменией и Таджикистаном, где поголовье парнокопытных животных не вакцинируется против ящура серотипа SAT 2, а некоторые из перечисленных стран граничат с Турцией и Ираком, где, наряду с Иорданией, в течение 2023 года регистрировались вспышки ящура SAT 2 [5, 7].

В связи с возникшей ситуацией необходимо принимать предупредительные меры, в частности, производство и применение профилактических вакцин против ящура SAT 2 и диагностических средств для оценки гуморального иммунитета. Иммуноферментный анализ (ИФА) в лабораторной диагностике является одним из наиболее удобных инструментов. Мы остановились на жидкофазном блокирующем варианте ИФА (жБИФА), объединяющем в себе достоинства ИФА и реакции вирусной нейтрализации [9], эффективность которого при изучении поствакцинального и постинфекционного противоящурного иммунитета была многократно подтверждена [2, 3, 4, 10, 15, 19, 20].

Выбор штамма вируса ящура перед началом работ по созданию диагностической тест-системы для определения антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT2/VII в ИФА делали по результатам филогенетического анализа (рис. 1).

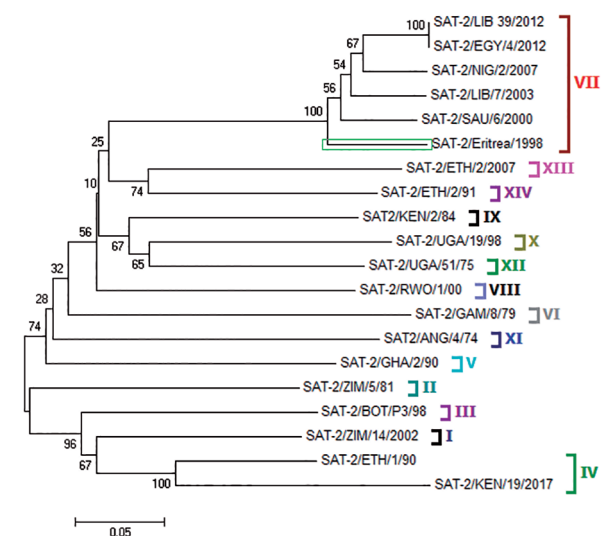


Рис. 1. Филогения штаммов вируса ящура SAT 2

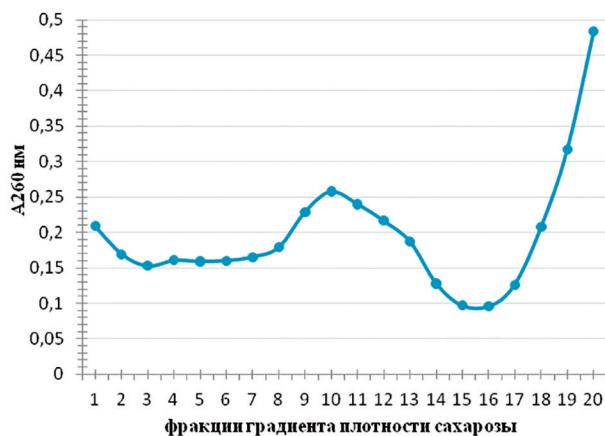


Рис. 2. Седиментационный профиль антигена вируса ящура штамма SAT2/LIB/39/2012 в градиенте плотности сахарозы (разведение 1:10). A₂₆₀ нм – оптическая плотность при длине волны 260 нм

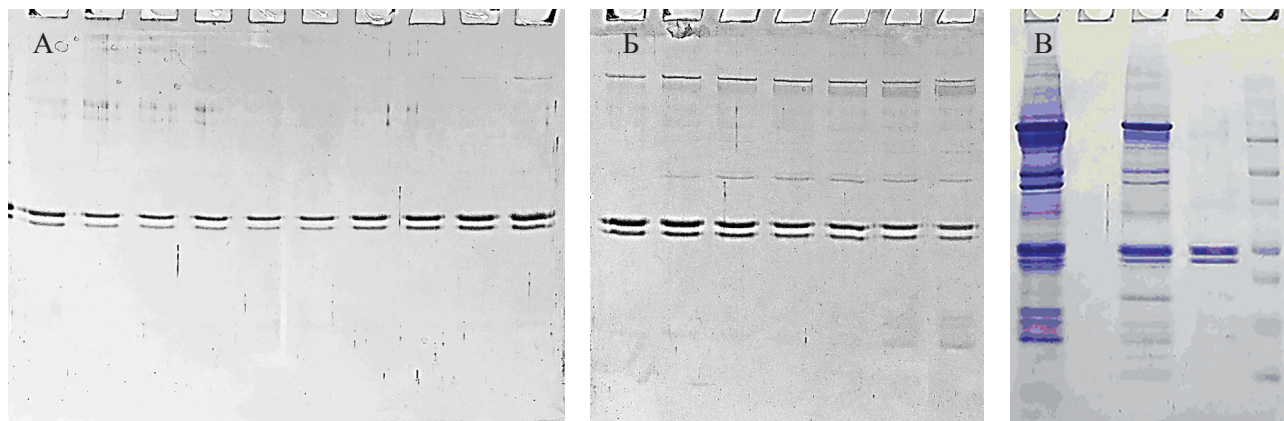


Рис. 3. Электрофорез в 12%-м ПААГе. Этапы получения антигена вируса ящура штамма SAT2/LIB/39/2012:

А, Б – фракционирование антигена при ультрацентрифугировании в градиенте плотности сахарозы; В: 1 – преципитат антигена; 2 – преципитат антигена после переосаждения ультрацентрифугированием за 3 часа, 25000 об/мин, 4 °С; 3 – 146S-антиген; М – маркер Precision Plus Protein (BioRad): 150, 100, 75, 50, 37, 25, 20, 15, 10 kDa

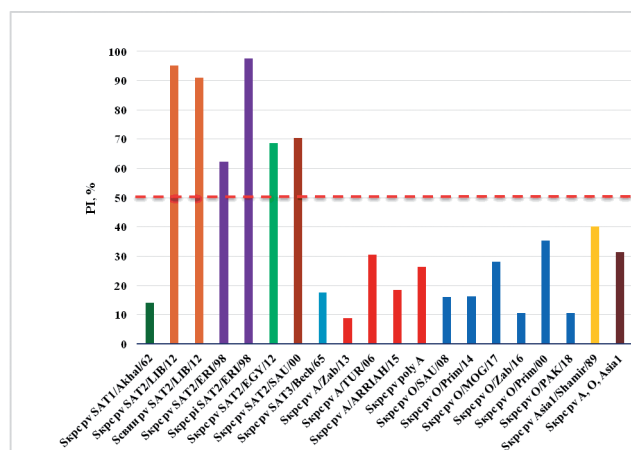


Рис. 4. Серотипоспецифичность SAT2-жБИФА, определенная по результатам исследования активности сывороток крови свиней и КРС, отобранных на 21-35 день после заражения ящуром или прививки моно- и поливалентной противоящурной вакциной. Линией обозначен позитивно-негативный порог, PI – 50%; pv – после вакцинации; рi – после заражения

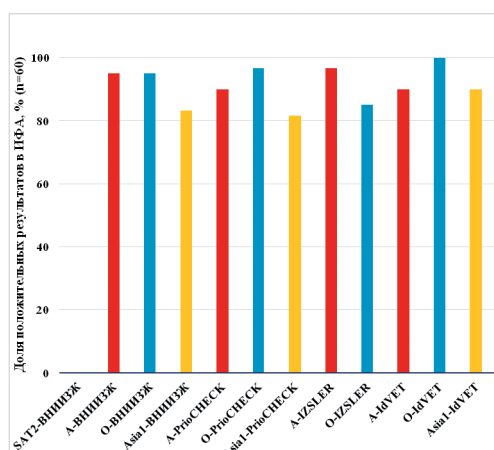


Рис. 5. Специфичность SAT2-жБИФА на примере мониторинговых исследований полевых образцов сыворотки крови КРС, вакцинированного против ящура типов А, О, Asia 1, с использованием наборов разных производителей

Учитывая, что большинство зарегистрированных событий рекомбинации в геноме вируса ящура происходят в генном участке 1D-области, для проведения филогенетического анализа использовали именно этот генный участок (3264...3926 п. н.). Полученная дендрограмма основана на сравнении нуклеотидных последовательностей генных областей 1D-гена кДНК размером 663 п. н., который кодирует белок VP1 (221 а. о.). При сравнении четырех штаммов вируса ящура серотипа SAT 2 топотипа VII (SAT2/VII): SAT2/SAU/7/2000, SAT2/LIB/39/2012, SAT2/EGY/4/2012 и SAT2/ERI/98, было выявлено, что штамм SAT2/ERI/98 отличается от трех других представителей данного генотипа мутациями в нуклеотидной последовательности 1D-гена. Тем не менее в целом, все четыре штамма демонстрировали высокую степень гомологии, что позволило предполагать и их серологическое родство. В результате для разработки иммуноферментной тест-системы был выбран штамм SAT2/LIB/39/2012.

Антиген вируса ящура является основным компонентом реакции. Именно от качества антигена, используемого как для иммунизации лабораторных животных, так и для постановки жБИФА, зависит чувствительность и специфичность тест-системы. Антиген вируса ящура штамма SAT2/LIB/39/2012, получали из инактивированной вирусосодержащей суспензии культуры клеток ВНК-21. Каждый этап концентрирования и выделения антигена контролировали в ходе электрофоретического разделения белковых молекул в полиакриламидном геле (рис. 3). Выделение 146S-антигена осуществляли из преципитата

антигена ультрацентрифугированием в ступенчатом градиенте плотности сахарозы (10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % сахарозы в ФБР) за 3 часа при 25000 об/мин.

Основная масса антигенного белка, представлявшая собой 146S-субъединицы, концентрировалась на разделе 30 %-ного и 40 %-ного слоев сахарозы в виде опалесцирующего кольца. Антиген фракционировали с помощью перистальтического насоса. Каждую фракцию сахарозы анализировали фотометрически, измеряя оптическую плотность в разведении 1:10 при длине волны 260 нм. На основании полученных данных строили седиментационный профиль антигена SAT2/LIB/39/2012 в градиенте плотности сахарозы (рис. 2).

В каждой фракции градиента оценивали накопление 146S-антигена и наличие балластных белков при проведении электрофореза в полиакриламидном геле (рис. 3А, 3Б). Для 146S-антигена отбирали фракции с наибольшей концентрацией структурных белков VP1, VP2, VP3 (23-28 кДа) и наименьшим количеством примесей (фракции 5-11). Концентрация белка в пуле фракций 5-11 составила примерно 0,4 мг/мл. Как видно из рис. 3В, 146S-антиген имел высокую степень очистки.

При подборе рабочих разведений специфических компонентов реакции SAT2-жБИФА использовали проверочную панель, включающую гомологичные образцы сыворотки крови свиней и КРС, вакцинированных против ящура штамма SAT2/LIB/39/2012, а также нормальную сыворотку крови КРС и гетерологичные образцы сыворотки крови КРС, отобранные после иммуни-

Таблица 2

Определение рабочего разведения антигена вируса ящура SAT 2 для реакции SAT2-жБИФА с помощью проверочной панели образцов сыворотки крови

Проверочная панель	Рсред. в SAT2-жБИФА при концентрации специфического антигена в рабочем растворе		
	0,4 мкг/мл	0,2 мкг/мл	0,1 мкг/мл
Скрс, 0 dpv* SAT2/LIB/39/2012	14,3	32,2	35,3
Скрс, 14 dpv SAT2/LIB/39/2012	80,4	85,4	89,8
Скрс, 22 dpv SAT2/LIB/39/2012	93,0	93,7	95,4
Скрс, 35 dpv SAT2/LIB/39/2012	95,2	94,8	95,8
S свин, 16 dpv SAT2/LIB/39/2012	70,6	74,5	74,7
S свин, 21 dpv SAT2/LIB/39/2012	81,6	83,9	80,3
Скрс, 30 dpv A/Zab/13	0,3	34,3	48,0
Скрс, 30 dpv O/Prim/00	36,9	61,9	72,0
Скрс, 30 dpv Asia1/Shamir/89	29,2	56,4	63,5
Скрс нормальная	11,4	24,9	42,8

Примечание: dpv* – дни после вакцинации.

Расчет позитивно-негативного порога тест-системы SAT2-жБИФА

Процент ингибиции	Позитивно-негативный порог, PI
PI _{сред.} (n=132)	17,78%
σ	14,32%
PI _{сред.} + σ	32,1%
PI _{сред.} +2 σ	46,42%
PI _{сред.} +3 σ	60,74%

зации антигеном вируса ящура других серотипов (табл. 2).

Гипериммунную сыворотку крови кроликов и морских свинок, использованную в реакции в качестве улавливающих и детекторных антител, разводили в буферном растворе в 1000 и 3000 раз, соответственно. Как видно из анализа табл. 2, при уменьшении концентрации антигена в растворе от 0,4 до 0,1 мкг/мл значения PI, подсчитанные для гомологичных образцов, практически не изменялись. В то время как для отрицательных, не содержащих специфических антител к вирусу ящура серотипа SAT 2, образцов нормальной и гетерологичной сыворотки наблюдали увеличение значений PI с разведением антигена. В итоге была выбрана оптимальная концентрация антигена вируса ящура серотипа SAT 2 0,4 мкг/мл, которая обеспечивала высокую чувствительность и типо-

специфичность диагностической тест-системы SAT2-жБИФА.

Для более точной качественной интерпретации результатов необходимо было подтвердить пороговое значение PI, ранее определенное для жБИФА в 50 % при конечном разведении исследуемых образцов сыворотки 1:32 [17]. Для этой цели в реакции SAT2-жБИФА тестировали в двух повторностях 132 образца нормальной сыворотки крови свиней и КРС, находили среднее значение PI и стандартное отклонение, определившие пороговый диапазон (табл. 3).

Как видно из табл. 3, сумма PI_{сред.} и удвоенного стандартного отклонения (σ), соответствующая значению cut-off, была близка к порогу в 50 %, что обеспечивалось точностью выбранной концентрации специфических компонентов реакции. Условно, с учетом стандартного отклонения, обозначили сомнительную зону, нижний

Таблица 4

Результаты исследования в реакции жидкофазного блокирующего варианта ИФА сыворотки крови КРС и свиней, инфицированных вирусом ящура штамма SAT2/ERI/98 или вакцинированных против ящура штамма SAT2/LIB/39/2012

Образцы сыворотки	SAT2-жБИФА	
	PI, %	Титр АТ
СКРС 1, 21 dpi* SAT2/ERI/98	97,1	1:362
СКРС 2, 21 dpi SAT2/ERI/98	97,6	1:362
СКРС 3, 28 dpi SAT2/ERI/98	95,9	1:181
СКРС 4, 28 dpi SAT2/ERI/98	96,4	1:362
СКРС пул, 31 dpi SAT2/ERI/98	96,5	1:362
Свин, пул, 24 dpi SAT2/ERI/98	76,2	1:45
СКРС, 0 dpv SAT2/LIB/39/2012	23,3	н/и***
СКРС, 14 dpv** SAT2/LIB/39/2012	76,5	н/и
СКРС, 22 dpv SAT2/LIB/39/2012	92,2	н/и
СКРС 35 dpv SAT2/LIB/39/2012	93,3	н/и
Свин, 0 dpv SAT2/LIB/39/2012 (n=5)	5,15±1,39	н/и
Свин, 16 dpv SAT2/LIB/39/2012 (n=5)	68,01±15,76	н/и
Свин, 21 dpv SAT2/LIB/39/2012 (n=5)	78,67±6,54	н/и
Свин, 28 dpv SAT2/LIB/39/2012 (n=5)	88,95±1,39	н/и

Примечание: dpi* – дни после заражения; dpv** – дни после вакцинации; н/и*** – не исследовали; жирным шрифтом выделены положительные значения PI или титра антител (АТ).

Таблица 5

Матрица для подсчета диагностических характеристик тест-системы SAT2-жБИФА

Статус животных	SAT2-жБИФА		Всего
	положительные	отрицательные	
Вакцинированные против ящура серотипа SAT 2 или переболевшие	92	3	95
Не вакцинированные или вакцинированные против других типов ящура	4	177	181
Всего	96	180	276

Таблица 6

Диагностические характеристики тест-системы SAT2-жБИФА

Статистические показатели	Значение	95 % доверительный интервал
Чувствительность	96,84 %	91,05 % – 99,34 %
Специфичность	97,79 %	97,44 % – 99,39 %
Точность	97,46 %	94,84 % – 98,97 %
к-критерий	0,944	н/о*

Примечание: н/о* – не определяется.

предел которой был равен 40 %, а верхний – 60 % (50 %±10 %).

Разработанную тест-систему испытывали при изучении поствакцинального и постинфекционного иммунитета у свиней и КРС. Результаты исследований представлены в табл. 4 и на рис. 4, 5.

В табл. 4 отражен уровень постинфекционного иммунитета на 21–31 день после заражения КРС и свиней вирусом ящура штамма SAT2/ERI/98 и показана динамика формирования поствакцинального иммунитета к ящуру штамма SAT2/LIB/39/2012 у КРС и свиней. Крупный рогатый скот демонстрировал более сильную иммунную реакцию на инфицирование вирусом, чем свиньи, что вероятно объясняется большей восприимчивостью КРС к данному штамму вируса ящура. Двукратное введение эмульсионной моновалентной вакцины против ящура штамма SAT2/LIB/39/2012 создавало высокий уровень защиты как у КРС, так и у свиней.

Разработанная диагностическая тест-система для выявления антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2 обладала выраженной серотипоспецифичностью. При исследовании сывороток крови свиней и КРС, отобранных на 21–35 день после заражения ящуром или прививки моно- и поливалентной противоящурной вакциной для разных типов ящура только образцы, содержащие специфические антитела к разным штаммам вируса ящура серотипа SAT 2 генотипа SAT2/VII имели положительные значения PI (рис. 4). Тест-система демонстрировала специфичность при монито-

ринговых исследованиях иммунизированного трехвалентной вакциной против ящура типов А, О, Asia 1 поголовья, напряженность иммунитета подтверждалась результатами параллельного исследования данных образцов сыворотки крови с использованием диагностических наборов на ящур серотипов А, О, Asia 1 других производителей (рис. 5).

Пригодность диагностической тест-системы для определения в жБИФА антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2 анализировали, рассчитывая в соответствии с матрицей табл. 5, следующие основные диагностические показатели: чувствительность, или долю истинно положительных результатов при исследовании в жБИФА образцов сыворотки крови, полученных от животных с известным положительным статусом; специфичность, или долю истинно отрицательных результатов при исследовании в жБИФА образцов сыворотки крови, полученных от животных с известным отрицательным статусом; точность, или долю подтвержденных результатов среди общего количества проб с известным статусом; к-критерий – согласованность результатов теста с диагностическим статусом [1, 4, 11, 18, 21].

При анализе результатов, полученных при исследовании образцов сыворотки крови животных в реакции SAT2-жБИФА, был установлен уровень к-критерия – 0,944, что свидетельствовало о высокой степени согласованности результатов исследований с диагностическим статусом

образцов и подтверждало достоверность результатов анализа (табл. 6).

Заключение

Таким образом, в ходе испытаний была изучена пригодность и эффективность диагностической тест-системы для определения антител к структурным белкам вируса ящура генотипа SAT2/VII в ИФА. При анализе данных, полученных по результатам исследований, определены диагностические характеристики тест-системы: чувствительность – 96,84 %; специфичность – 97,79 %; точность – 97,46 %; k -критерий – 97,46%. Соответствующий набор на основе жидкофазного блокирующего варианта ИФА может стать ценным инструментом в рутинной лабораторной практике при контроле иммуногенности вакцины против ящура генотипа SAT2/VII, при оценке напряженности поствакцинального иммунитета у сельскохозяйственных животных и установлении их иммунного статуса в отношении ящура, при обследовании невакцинированного поголовья, а также при выявлении вирусносительства у крупного рогатого скота в комплексе с исследованиями на наличие антител к неструктурным белкам вируса ящура.

Список литературы

1. Караулов А. К. Использование принципов аналитической эпизоотологии в ветеринарной практике / А. К. Караулов, С. А. Дудников, К. П. Николаева, В. М. Гуленкин // Труды федерального центра охраны здоровья животных, т. VI. Владимир, 2008. С. 73–84.
2. Кременчугская С. Р. Изучение гуморального иммунитета у животных, иммунизированных эмульсионными противоящурными вакцинами / С. Р. Кременчугская, Н. Н. Луговская, Т. К. Майорова, А. С. Шарьпов // Ветеринария сегодня, 2017. Т. 1. С. 55–57.
3. Кременчугская С. Р. Оценка эффективности противоящурной вакцинации животных в буферной зоне Российской Федерации в 2014 г. / С. Р. Кременчугская, Н. Н. Луговская, С. Н. Фомина // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. М., 2015. Т. 13. С. 20–28.
4. Луговская Н. Н. Валидация методики определения уровня противоящурных антител в реакции жидкофазного блокирующего «сэндвич»-варианта иммуноферментного анализа / Н. Н. Луговская, Е. Н. Калинина, К. С. Малкова [и др.] // Ветеринария сегодня, 2015. Т. 3. С. 22–29.
5. Россельхознадзор обеспокоен распространением экзотического для Евразийского континента серотипа ящура на Ближнем Востоке и в Западной Азии. 16 марта 2023. Россельхознадзор. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору. // <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/news/217101.html> (Дата обращения: 12.05.2023).
6. Стандарты МЭБ. Руководство по наземным животным. Руководство по диагностическим тестам и

вакцинам для наземных животных. Часть третья. Болезни, входящие в список МЭБ, и другие болезни, имеющие важность для международной торговли. // <https://gg-europe.woah.org/> (Дата обращения: 11.05.2023).

7. Abdel-Aziz A. I. Seroprevalence and molecular characterization of foot-and-mouth disease virus in Chad / A. I. Abdel-Aziz, A. Romey, A. Relmy, K. Gorna et al. // Vet Med Sci. 2020. Vol. 6. P. 114–121.

8. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // Analyt. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.

9. Hamblin C. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA / C. Hamblin, I. T. Barnett, R. S. Hedger // J Immunol Methods. 1986. Vol. 93, N. 1. P.115–121.

10. Hamblin C. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. III. Evaluation of antibodies after infection and vaccination / C. Hamblin, R. P. Kitching, A. I. Donaldson, J. R. Crowther, I. T. Barnett // Epidemiol Infect. 1987. Vol. 99, N. 3. P. 733–744.

11. Jacobson R. H. Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases / R. H. Jacobson // Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1998. Vol. 17, N. 2/ P. 469–486.

12. Kappa Calculator. // <https://www.easycalculation.com/statistics/cohens-kappa-index.php> (Дата обращения: 14.05.2023).

13. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.

14. Lugovskaya N. N. Detection of antibodies to avian infectious virus by a recombinant nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay / N. N. Lugovskaya, A. V. Scherbakov, A. S. Yakovleva et al. // J. Virol. Methods. 2006. Vol. 135, N. 2. P. 292–296.

15. Maradei E. Updating of the correlation between IpELISA titers and protection from virus challenge for the assessment of the potency of polyvalent aphtovirus vaccines in Argentina / E. Maradei, J. La Torre, B. Robiolo, J. Esteves et al. // Vaccine. 2008. Vol. 26. P. 6577–6586.

16. MedCalc's Diagnostic test evaluation calculator. // https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php (Дата обращения: 13.06.2023).

17. OIE Terrestrial Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 3.1.8. // Foot and mouth disease. 2022. P. 1–34.

18. OIE. Terrestrial Manual. Chapter 1.1.5. // Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases. 2022.

19. Periolo O. Largescale use of liquid-phase blocking sandwich ELISA for the evaluation of protective immunity against aphtovirus in cattle vaccinated with oil adjuvanted vaccines in Argentina / O. Periolo, C. Seki, P. Grigera, B. Robiolo et al. // Vaccine. 1993. Vol. 11. P. 754–776.

20. Robiolo B. Confidence in indirect assessment of foot-and-mouth disease vaccine potency and vaccine matching carried out by liquid phase ELISA and virus neutralization tests / B. Robiolo, J. La Torre, E. Maradei, C. Perez Beascoechea et al. // Vaccine. 2010. Vol. 28. P. 6235–6241.

21. Vallat V. OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories Infectious Diseases / V. Vallat. 2nd ed. 2008. 67 p.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-53-60

УДК: 619:616.98:578.834.1:615.371:616-076

Ключевые слова: альфа-коронавирус, титр инфекционной активности вируса, вакцина против коронавирусной инфекции, тест-система

Keywords: *alpha-coronavirus, titer of infectious activity of virus, vaccine against coronavirus infection, test system*

¹Малыгин М. П., ²Доронин М. И.

**ТЕСТ-СИСТЕМА ОПОСРЕДОВАННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИТРА
ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ АЛЬФА-КОРОНАВИРУСА МЕТОДОМ
ОТ-ПЦР-РВ В СЫРЬЕ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ВАКЦИН**
*TEST SYSTEM FOR THE INDIRECT DETERMINATION OF THE TITER OF INFECTIOUS
ACTIVITY OF ALPHA-CORONAVIRUS BY RV-RT-PCR IN RAW MATERIALS
FOR THE MANUFACTURE OF CULTURE VACCINES*

¹Областное бюджетное учреждение здравоохранения
«Ивановский областной наркологический диспансер»
Адрес: 153008, Россия, г. Иваново, ул. Постышева, д. 54/1.
*Regional budgetary healthcare institution
“Ivanovo Regional Narcological Dispensary”.*

Address: 153008, Russia, Ivanovo, Postysheva str., 54/1.
²ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»
Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец
*Federal Centre for Animal Health
Address: 600901, Russia, Vladimir, Yur’evets*

Малыгин М. П., заведующий отделением. E-mail: ivreg@doctor-malygin.ru
Malygin M. P., Head of the Department. E-mail: ivreg@doctor-malygin.ru
Доронин М. И., д. б. н., вед. науч. сотрудник. E-mail: doronin@arriah.ru
Doronin M. I., Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher. E-mail: doronin@arriah.ru

Аннотация. В данной статье отражены сведения о разработке и применении тест-системы опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса на основе обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в сырье для изготовления культуральных вакцин. На основе анализа аминокислотной последовательности матричного белка возбудителя альфа-коронавирусной инфекции разработаны дизайны прямого праймера CCoV RICH-T-F, обратного праймера CCoV RICH-T-R и флуоресцирующего зонда CCoV RICH-T-P для создания тест-системы. Сконструирован вектор назначения pJet1.2sfGFP-CCoV на основе плазмиды pJet1.2sfGFP и целевого участка кДНК альфа-коронавируса (фрагмент М-гена в позициях 26355...26453 п. н.) с применением технологии высокопроцессивного клонирования Golden Gate и эндонуклеазы рестрикции BsaI класса II S. В результате трансфекции полученной плазмидой клеток чувствительной линии почки кошки Крэнделла Риса CRFK in vitro создан положительный контрольный образец. Зависимость между пороговым циклом амплификации и титром инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для вакцин представлена в виде логарифмической функции: $\lg T_{CCoV} = -0,2998 \times C_t + 10,491$ с эффективностью реакции амплификации 99,43 % и достоверностью аппроксимации – 0,9991. Данные, полученные с помощью разработанной тест-системы, коррелировали с результатами метода титрования в культуре клеток на 99,2–100,0 % для 8,0–6,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,9–99,2 % для 5,9–4,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,8–99,1 % для 3,9–1,6 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,5–99,1 % для 1,5–1,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,0–98,2% для 0,9–0,5 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96). Аналитическая чувствительность разработанной тест-системы составила не менее 0,5 lg ТЦД₅₀/см³ с достоверностью результатов исследования не менее 97,0 %. В 95 %-ном доверительном интервале диагностическая чувствительность составила 99,12–100,00 %, диагностическая специфичность – 98,03–100 %, к-критерий – 1,000.

Summary. This article reflects information on the development and application of a test system for indirect determination of the titer of infectious activity of alpha-coronavirus based on RV RT PCR in raw materials for the manufacture of cultural vaccines. Based on the analysis of the amino acid sequence of the matrix protein of the causative agent of alpha-coronavirus infection, the forward primer CCoV RICH-T-F, the reverse primer CCoV RICH-T-R and the fluorescent probe CCoV RICH-T-P were developed for the study. The pJet1.2sfGFP-CCoV destination vector was constructed based on the pJet1.2sfGFP plasmid, the target region of the alphacoronavirus cDNA (the M-RNA gene fragment at positions 26355–26453 nb) using the Golden Gate high-process cloning technology and BsaI class II S restriction endonuclease. Endell Rice CRFK in vitro generated a positive control sample with the resulting plasmid. The relationship between the threshold amplification cycle and the titer of infectious activity of alphacoronavirus in vaccine raw materials is presented as a logarithmic function: $\lg T_{CCoV} = -0.2998 \times C_t + 10.491$ with an efficiency of the amplification reaction of 99.43% and an approximation reliability of 0.9991. The data obtained using the developed test system correlated with the titration method in cell culture by 99.2–100.0 %

for 8.0–6.0 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 98.9–99.2 % for 5.9–4.0 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 98.8–99.1 % for 3.9–1.6 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 97.5–99.1 % for 1.5–1.0 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 97.0–98.2 % for 0.9–0.5 lg TCID₅₀/cm³ (n=96). The analytical sensitivity of the developed test system was at least 0.5 lg TCID₅₀/cm³ with the reliability of the study results at least 97.0 %. In the 95 % confidence interval, the diagnostic sensitivity was 99.12–100.00 %, the diagnostic specificity was 98.03–100 %, the kappa was 1.000.

Введение

Коронавирусная инфекция представляет собой серьезную проблему, которой особенно с 2019 года уделяют огромное внимание международные медицинские организации и ветеринарные службы всех стран мира [24].

Возбудитель данной высококонтагиозной инфекционной болезни принадлежит виду *Canine Coronavirus* (CCoV), роду *Alphacoronavirus*, подсемейству *Orthocoronavirinae*, семейству *Coronaviridae* [10].

Нуклеиновая кислота инфекционного агента представлена одноцепочечной молекулой РНК положительной полярности и размером около 29400–29800 н.о. Около 65 % вирусной рибонуклеиновой кислоты занимают две большие, частично перекрывающиеся открытые рамки считывания (ORF): ORF1a и ORF1b, которые кодируют два полипротеина. С 3'-конца 1/3 генома (примерно 9000 н. о.) состоит из других ORF, несущих информацию о структурных и неструктурных вирусных белках. Структурные протеины альфа-коронавируса включают S-, E-, M- и N-белки, кодируемые ORF2-, ORF4-, ORF5- и ORF6-генами, соответственно [2, 13, 14, 17]. Схема картирования генома CCoV для ORF2-ORF6-генов представлена в таблице 1 с нулевым отсчетом нуклеотидов.

Пять основных генов кодируют следующие вирусные протеины: шипообразный белок

(S-белок), мембранный гликопротеин (M-белок) [20], нуклеокапсид (N-белок), белок оболочки (E-белок) и ORF1ab (репликаза / протеаза) [19, 21, 22]. M-белок — мембранный белок с тройным охватом — играет центральную роль в сборке и морфогенезе вирионов, а также определяет форму вирусной оболочки. Данный белок рассматривается как центральный организатор сборки вирусной частицы, взаимодействующий со всеми другими основными структурными белками коронавируса. для полного формирования вириона. Взаимодействие спайкового S- и M-белков не требуется для процесса сборки. Однако связывание M- и N-белков стабилизирует нуклеокапсид (иммунный комплекс N-белок-РНК), а также внутреннее ядро вирионов и способствует завершению сборки вируса. Таким образом, мембранный белок и его взаимодействия с другими структурными белками необходимы для сборки полных вирусных частиц, содержащих одну молекулу РНК [25, 27].

Альфа-коронавирусная инфекция, как правило, вызывает сильную диарею, рвоту, обезвоживание, потерю аппетита и даже смерть. Выделение вируса с калом происходит в течение 6–9 дней после заражения [2].

Система мер борьбы с альфа-коронавирусной инфекцией и ее профилактики предусматривает иммунизацию животных, а также контроль уровня напряженности иммунитета. Для вакцинации

Таблица 1

Картирование генома альфа-коронавируса (CCoV)

Наименование гена	Тип белка по предназначению	Позиции в геноме, н. о.
5'-UTR	нетранслируемая область	1...314
ORF1a	неструктурный	315...12374
ORF1b	неструктурный	12375...20370
S-белок (spike)	спайковый белок	20371...24717
ORF3a	неструктурный	24820...25035
ORF3b	неструктурный	24980...25195
ORF3c	неструктурный	25192...25926
ORF4 (E-ген (envelope))	оболочечный протеин	25913...26161
ORF5 (M-ген (matrix))	мембранный протеин	26171...26956
ORF6 (N-ген (nucleocapsid))	нуклеопротеин	26973...28121
ORF7a	неструктурный	28126...28431
ORF7b	неструктурный	28436...29077

Примечание: н. о. – нуклеотидные основания.

Состав реакционной смеси для опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса

№ п/п	Наименование компонента смеси	Концентрация компонента на 1 реакцию
1	Праймеры и зонд	по 5 пМ
2	Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты	по 0,20 мМ каждого
3	Хлорид магния	3 мМ
4	Таg-буферный раствор Colorless Flexi (x 5)	20% от объема реакционной смеси
5	Tag ДНК-полимераза	1 е. а.
6	Деионизированная вода, свободная от нуклеаз	довести объем до 20 мкл

Примечание: объем вносимого элюата РНК (в том числе контроля мРНК) – 5 мкл, общий объем реакционной смеси – 25 мкл.

животных применяют культуральные вакцины против альфа-коронавирусной инфекции [19, 22, 25]. При изготовлении вакцинных препаратов до процесса инактивации вирусосодержащую суспензию исследуют на определение титра инфекционной активности возбудителя для оценки его активности в чувствительных клеточных линиях. В 1,0 см³ суспензии вируса определяют количество тканевых цитопатических доз, вызывающих 50 %-ное поражение клеток, что фактически отражает концентрацию вирионов, содержащих вирусную РНК, способную к репликации.

Для определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса, как правило, применяют метод титрования в монослойной перевиваемой клеточной линии почки кошки Крэнделла Риса CRFK (Crandell Feline Kidney), с помощью которой вычисляют минимальную дозу вируса, способную вызвать лизис 50 % клеток [2]. При этом данный метод имеет ряд следующих ограничений в применении: 1) методика титрования в клеточной линии предполагает учет результатов только спустя 72 ч; 2) определенная степень субъективности при оценке результатов анализа; 3) высокая стоимость одного исследования по причине использования в качестве биологической тест-системы клеточной линии; 4) вероятность риска контаминации культуры клеток другими инфекционными агентами, что снижает специфичность проводимого анализа [14].

В связи с этим целесообразно провести разработку альтернативной тест-системы определения титра инфекционной активности возбудителя коронавирусного заболевания животных в сырье для изготовления культуральных вакцин.

Цель исследования заключалась в разработке и применении высокочувствительной и специфичной тест-системы опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса на основе обратной транс-

крипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) в сырье для производства культуральных вакцин.

Материалы и методы

Вирус. В работе использовали вакцинный штамм «РИЧ» альфа-коронавируса, который депонирован во Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящера и других патогенов животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Выделение РНК осуществляли с помощью набора «РИБО-сорб» («Интерлабсервис», РФ) в соответствии с инструкцией производителя.

Обратная транскрипция. Реверсию РНК вируса проводили с применением набора для проведения обратной транскрипции с гексамерами (Applied Biosystems, США).

ПЦР в режиме реального времени. Реакцию амплификации в режиме реального времени проводили с применением стандартных реагентов, концентрации которых отражены в таблице 2.

Разработку высокоспецифических оригинальных олигонуклеотидных праймеров и зонда проводили в соответствии с требованиями, представленными в работах В. Deiman и R. Sooknana [15].

Конструирование положительного контроля проводили с помощью метода высокопроцессивного клонирования Golden Gate [9, 11], позволяющего создать мРНК, кодирующую целевой участок генома альфа-коронавируса. В качестве вектора встраивания применяли плазмиду pJet1.2sfGFP с геном зеленого флуоресцирующего белка для трансфекции (рисунок 1), которую применяют для встраивания в нее таргетных участков генов между T7 promotor и HDV ribozyme. Для обработки плазмиды pJet1.2sf GFP и ампликонов использовали рестриктазу BsaI. Полученной плазмидой проводили трансфекцию компетентных клеток CRFK *in vitro* с помощью

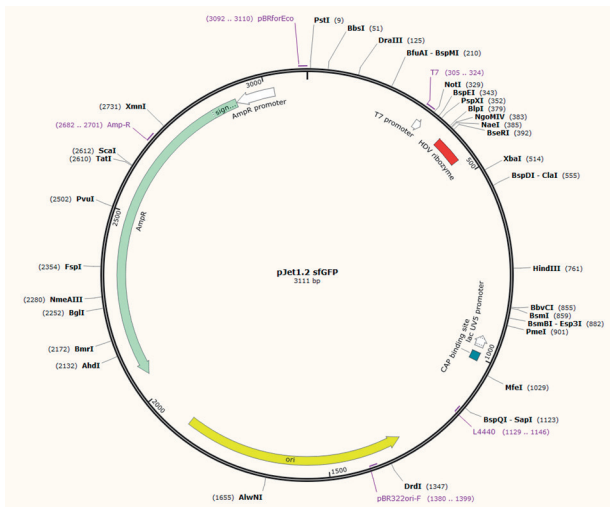


Рис. 1. Схематическое изображение плазмиды pJet1.2sfGFP с сайтами рестрикции и указанием позиций T7 promoter и HDV ribozyme

высокомолекулярного полиэтиленimina (ПЭИ-500) для синтеза в процессе экспрессии генов плазмиды участка мРНК альфа-коронавируса. Суспензию полученных клеток после трансфекции культивировали в течение 72 ч [7], подвергли центрифугированию и полученный супернатант использовали в качестве положительного контроля для тест-системы.

Статистическая обработка данных. Для характеристики разработанной тест-системы рассчитывали следующие диагностические показатели: диагностическая чувствительность (DSe), диагностическая специфичность (DSp), k-критерий (индекс Каппа Коэна) в соответствии с общепринятыми методиками [1, 5, 26].

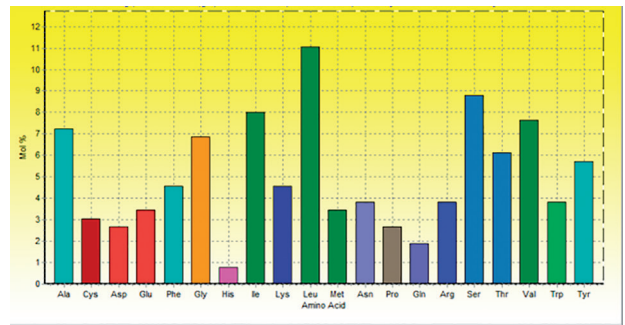


Рис. 2. Анализ аминокислотной композиции М-белка альфа-коронавируса

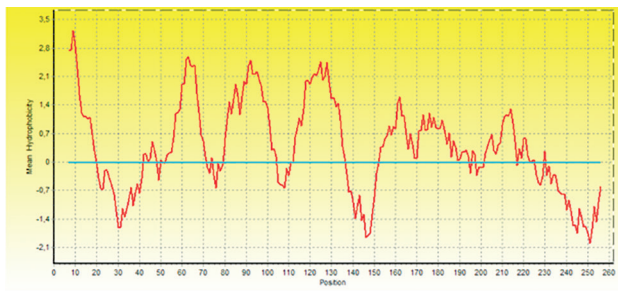


Рис. 3. Гидрофобный профиль аминокислотной последовательности матричного белка альфа-коронавируса вакцинного штамма «РИЧ» по Kyte and Doolittle

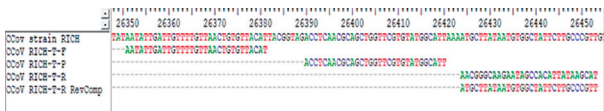


Рис. 4. Дизайн олигонуклеотидного прямого праймера (CCoV RICH-T-F), флуоресцирующего зонда (CCoV RICH-T-P), обратного праймера (CCoV RICH-T-R), обратного праймера в формате RevComp (реверсивная и комплементарная) для амплификации участка М-гена кДНК альфа-коронавируса собак в позициях 26355...26453 п. н. Примечание: размер ампликона – 99 п. н.

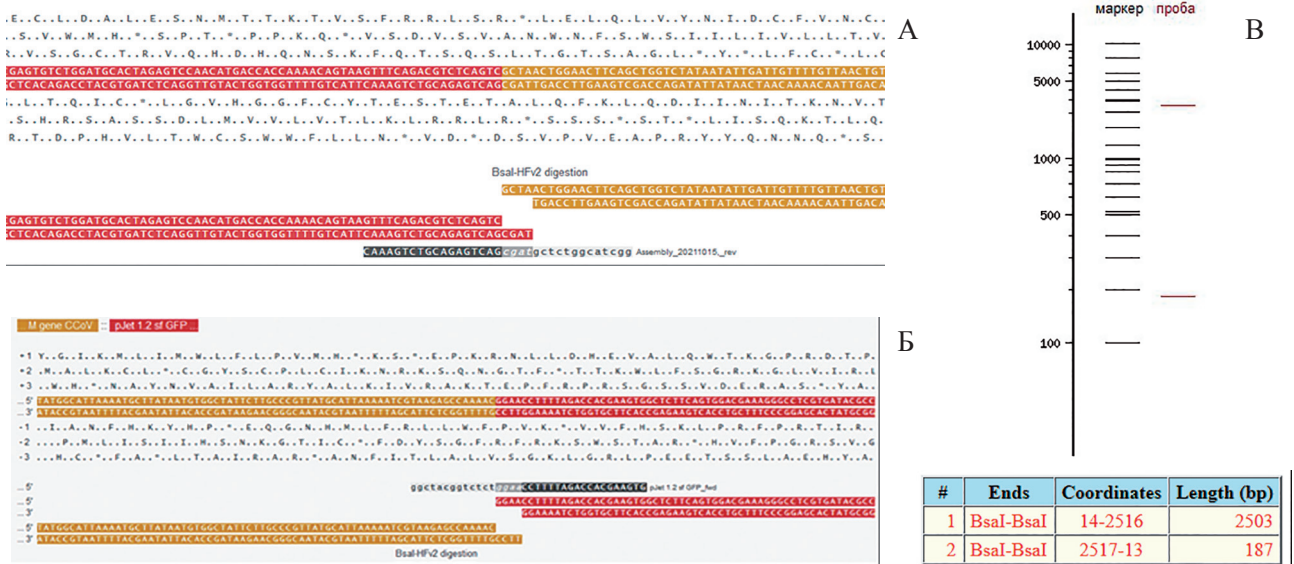


Рис. 5. Процесс модифицирования плазмиды pJet1.2sfGFP для клонирования участка М-гена альфа-коронавируса. Примечание: А – концевые участки плазмиды и гена (слева), Б – концевые участки гена и плазмиды (справа), В – электрофореграмма химерной плазмиды после обработки рестриктазой BsaI, размер ампликона № 1 – 187 п. н., № 2 – 2503 п. н.

Результаты исследований и обсуждение

Анализ М-гена кДНК и матричного белка альфа-коронавируса для разработки тест-системы опосредованного определения титра инфекционной активности вируса в сырье для изготовления культуральных вакцин.

В результате анализа полногеномной нуклеотидной последовательности кДНК альфа-коронавируса производственного штамма «РИЧ» выявили, что для разработки дизайна олигонуклеотидных праймеров и зонда, применяемых в количественном исследовании в ОТ-ПЦР-РВ, целесообразно использовать М-ген, который кодирует матричный белок, задействованный в различных процессах формирования вириона. Данный белок имеет наибольшее представительство среди всех белков вирусной частицы. М-ген занимает в кДНК позиции 26172...26957 п. н. и кодирует белок размером 262 а. о.

При анализе аминокислотной композиции М-белка ССoV вакцинного штамма «РИЧ» определили, что в составе полипептида преобладают лейцин (Leu) (11,1 %), а также серин (Ser) (8,8 %), изолейцин (Ile) (8,0 %), валин (Val) (7,7 %) и аланин (Ala) (7,2 %). В сумме они составили 42,8 % от всего аминокислотного состава. Минимальное содержание в данной последовательности у гистидина (His) (0,8 %) (рисунок 2). Следует отметить, что перечисленные аминокислоты, которые преобладали в композиции М-белка альфа-коронавируса, являлись неполярными (гидрофобными) (валин, изолейцин, лейцин, аланин) и полярными незаряженными аминокислотами (глицин, серин).

Данный анализ позволил построить гидрофобный профиль по средним значениям показателя гидрофобности (в модификации Kyte and Doolittle [4]) (рисунок 3).

Как показано на рисунке 3, можно было выделить семь основных гидрофобных участков в линейной структуре матричного белка альфа-коронавируса штамма «РИЧ». Данные области расположены в позициях 9...13, 55...65, 82...97, 115...133, 156...165, 170...187, 208...213 а. о. Гидрофильными являлись области в следующих позициях М-белка: 20...40, 75...77, 104...110, 135...150, 230...255 а.о. Данные участки определяли функциональность белковой молекулы, активно участвующей в формировании вириона.

При анализе нуклеотидных последовательностей для разработки дизайна олигонуклеотидных праймеров и зонда был выбран участок в диапазоне 26355...26453 п. н. При анализе подобранных последовательностей, отраженных на рисунке 4, было выявлено, что данные праймеры и зонд позволяли выявлять кДНК альфа-коронавируса про-

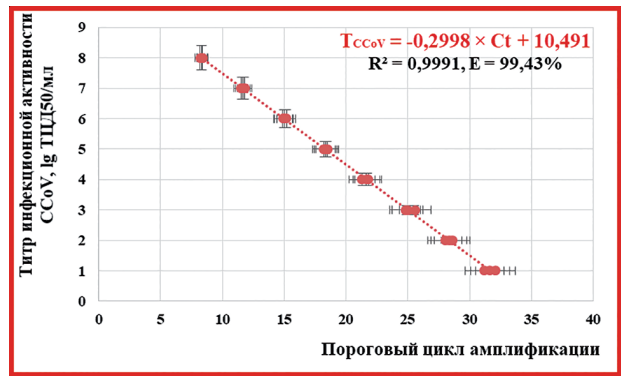


Рис. 6. Зависимость титра инфекционной активности альфа-коронавируса штамма «РИЧ» в сырье для вакцин (T_{CCoV}) и величины порогового цикла амплификации (C_t). Примечание: n=4, отмечены точки, отображающие средние значения пороговых циклов реакции амплификации

изводственного штамма «РИЧ» для проведения последующего количественного анализа. Экстраполируя данный участок на аминокислотную последовательность (61...94 а. о.), было определено, что амплифицируемый участок кДНК соответствовал фрагменту, обладающему гидрофобными и гидрофильными участками. Таким образом, проведен анализ аминокислотной последовательности матричного белка исследуемого инфекционного агента, подобраны олигонуклеотидные праймеры и зонд для проведения опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса штамма «РИЧ» в сырье для изготовления культуральных вакцин.

Получение положительного контроля для опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для производства культуральных вакцин. В данной работе проводили исследования по конструированию плазмиды, содержащей целевой фрагмент нуклеиновой кислоты возбудителя альфа-коронавирусной инфекции, с целью получения положительного контрольного образца для разработки указанной выше тест-системы с применением технологии высокопроцессивного клонирования методом Golden Gate [9, 11].

Для анализа использовали участок РНК альфа-коронавируса вакцинного штамма «РИЧ» в позициях 26355...26453 н. о. (участок РНК М-гена вируса:

AAUAUUGAUUGUUUUGUUAACUGUGU
 ACAUUACGGUAGACCUCAACGCAGCUGGU
 UCGUGUAUGGCAUUA AAAAUGCUUAUAAUG
 UGGCUAUUCUUGCCCGUU

или соответствующий участок кДНК:

AATATTGATTGTTTGTTAACCTGTGTTACA
 TTACGGTAGACCTCAACGCAGCTGGTTCGT
 GTATGGCATTAAATGCTTATAATGTGGCTAT
 TCTTGCCCGTT).

Для амплификации данного участка кДНК были выше разработаны олигонуклеотидные праймеры и зонд. На концы выбранной последовательности с помощью ПЦР «пришивали» адапторные последовательности:

5'-конец: 5' GTA GGT CTC AGCAT 3'
и 3'-конец: 5' GTA GGT CTC TAAGG 3'
(- сайты для разрезания ферментом Bsa I [3, 6, 8]).

Данные адапторы были необходимы для формирования «липких» концов, образующихся после обработки рестриктазой II S. Данные ферменты вносили разрывы не в сайте рестрикции, а на некотором удалении от него, в частности, для рестриктазы Bsa I сайты рестрикции и разрезания следующие: GGTCTCNNNNN.

Адаптор, расположенный на 3'-конце, размещался с учетом reverse-complemente в направлении 5'→3'.

Для получения модифицированной последовательности проводили ПЦР с применением двух следующих праймеров (подчеркнуты участки для комплементарности с последовательностями плазмиды):

F: 5'- GTA GGT CTC AGCAT
ACTGGAACCTCAGCTGGTCTAT -3'

R: 5'- GTA GGT CTC TAAGG
GTTTTGGCTCTTACGATTTTAAATGCAT -3'

В результате получили ампликоны, содержащие целевую область и адапторы: 5'GTAGGTC TCAGCTAACTGGAACCTCAGCTGGTCTATAA TATGTATTGTTTTGTTAACTGTGTTACATTAC GGTAGACCTCAACGCAGCTGGTTCGTGTATG GCATTA~~AAA~~ATGCTTATAATGTGGCTATTCTTG CCCGTTATGCATTA~~AAA~~ATCGTAAGAGCCAA AACGGAATGAGACCTAC-3'. Полученные концевые участки нуклеотидов в целевой последовательности и плазмиде отражены на рисунке 5.

Провели гель-электрофорез для полученных продуктов ПЦР с последующим их выделением с помощью набора для экстракции ампликонов из агарозного геля.

Плазмиду pJet1.2sfGFP и продукты ПЦР обрабатывали рестриктазой BsaI, в результате этого формировались «липкие» 5' и 3'-концы. После соединения в одной пробирке всех компонентов (плазида и модифицированный кодирующий фрагмент) происходило их лигирование по «липким» концам [3, 12, 16, 23].

С помощью программы NEBCutter для разрезания плазмид и линейных ДНК рестриктазами получили электрофореграмму с двумя фрагментами (размер фрагмента № 1 составляет 2503 п. н., № 2 – 187 п. н.), как отражено на рисунке 5 В.

Полученной плазмидой pJet1.2sfGFP-CCoV проводили трансфекцию компетентных клеток

линии CRFK *in vitro* и, как указано выше, получили супернатант, который использовали в качестве положительного контроля для разработанной тест-системы.

Выявление зависимости титра инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для вакцины и порогового цикла реакции амплификации в режиме реального времени.

Для выявления зависимости титра инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для вакцин и порогового цикла реакции амплификации подготавливали контрольную панель суспензий альфа-коронавируса собак штамма «РИЧ», в качестве которых использовали очищенные суспензии вируса указанного вакцинного штамма с титрами: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 lg ТЦД₅₀/см³. В качестве отрицательных контролей применяли суспензию клеток линии CRFK, не контаминированную вирусами, бактериями, микоплазмами и грибами. Выделение нуклеиновой кислоты, постановку обратной транскрипции и реакции амплификации проводили, как указано выше.

Результаты ПЦР в режиме реального времени анализировали, оценивая и сравнивая графики накопления флуоресцентного сигнала по значениям пороговых циклов амплификации Ct, определенных с помощью пересечения пороговой линии и логарифмическим отображением функции $F1 = f(C_t)$. Устанавливали зависимость между пороговым циклом амплификации и титром инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для вакцин в процессе построения логарифмической функции. Полученные данные отражены на рисунке 6 и выражены в виде логарифмической функции: $\lg T_{CCoV} = -0,2998 \times C_t + 10,491$.

Эффективность реакции амплификации составила 99,43 %, достоверность аппроксимации – 0,9991, что является высоким показателем.

Применение разработанной тест-системы опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для изготовления вакцин.

Для анализа использовали 576 суспензий культурального альфа-коронавируса со значениями титра инфекционной активности от 0,00 до 8,00 lg ТЦД₅₀/см³. В качестве контролей применяли образцы, представленные выше. Анализ проводили в трех повторностях в соответствии с методикой, отраженной выше. Для положительного контроля значение порогового цикла амплификации составило 15,00±0,01 (n=20), что соответствовало титру вируса, равному 5,99 lg ТЦД₅₀/см³. При анализе в культуре клеток значение составляло 6,00 lg ТЦД₅₀/см³. Таким

образом, получены сопоставимые значения. При использовании статистического t-критерия и степени свободы $df = 19$ нулевая гипотеза о равенстве полученных средних значений в двух выборках верна. Для отрицательных контролей экспоненциальные графики не были сформированы, что означало отсутствие альфа-коронавируса в данных образцах.

Анализируемые пробы тестировали классическим методом титрования в монослойной перевиваемой клеточной линии CRFK и в ПЦР в режиме реального времени. Выявили, что данные, полученные с помощью разработанной тест-системы, коррелировали с методом титрования в культуре клеток на 99,2–100,0% для 8,0–6,0 \lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,9–99,2 % для 5,9–4,0 \lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,8–99,1 % для 3,9–1,6 \lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,5–99,1 % для 1,5–1,0 \lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,0–98,2 % для 0,9–0,5 \lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 90,3–95,2 % для 0,0–0,4 \lg ТЦД₅₀/см³ (n=96). В отдельности каждую пробу исследовали в трех повторностях. Полученные результаты свидетельствовали о высокой степени точности разработанной тест-системы.

Опираясь на данное исследование выявили, что аналитическая чувствительность разработанной тест-системы составляла не менее 0,5 \lg ТЦД₅₀/см³ с достоверностью результатов исследования не менее 97,0 %.

При оценке специфичности данной тест-системы исследовали суспензии альфа-коронавируса, вирусов ящура, бешенства, инфекционного некроза гемопоэтической ткани, инфекционного некроза поджелудочной железы. Титр инфекционной активности вирусов в суспензиях составлял не менее 6,0 \lg ТЦД₅₀/см³ или \lg ККИД₅₀/см³ (n=3). В результате проведения реакции амплификации в режиме реального времени с системой олигонуклеотидных праймеров и зондов, специфичной для участка М-гена альфа-коронавируса, наблюдали построение логистических кривых накопления флуоресцентного сигнала только для альфа-коронавируса. Для проб, содержащих другие вирусы, не наблюдалось формирования графиков экспоненты, и они не выходили за пороговый уровень флуоресцентного сигнала (0,010 у. е.). Таким образом, разработанная тест-система была специфичной по отношению к возбудителю альфа-коронавирусной инфекции.

Для разработанной тест-системы анализировали стандартные диагностические показатели. Для определения диагностической чувствительности (DSe) исследовали 415 проб производственного сырья для изготовления вакцины против коронавирусной инфекции, которые являлись заведомо

положительными. Уровень титра инфекционной активности вируса до инактивации находилась в диапазоне 0,5–8,0 \lg ТЦД₅₀/см³. Постановку реакции проводили, как отражено выше. С помощью разработанной тест-системы выявили, что из 415 образцов сывороток крови все определены в качестве положительных. Для исследования диагностической специфичности (DSp) тест-системы анализировали 185 отрицательных проб. В результате анализа обнаружили, что из 185 отрицательных проб – все определены в качестве отрицательных. Таким образом, в 95 %-ном доверительном интервале DSe составила 99,12–100,00 %, DSp – 98,03–100,00 %, k-критерий – 1,000.

Заключение

Проведен анализ аминокислотной последовательности матричного белка возбудителя альфа-коронавирусной инфекции вакцинного штамма «РИЧ», разработаны прямой СCoV RICH-T-F и обратный праймеры СCoV RICH-T-R и флуоресцирующий зонд СCoV RICH-T-P для проведения опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для культуральных вакцин.

Сконструирован вектор назначения pJet1.2sfGFP-CCoV на основе плазмиды pJet1.2sfGFP, целевого участка кДНК альфа-коронавируса (фрагмент М-гена РНК в позициях 26355...26453 н. о.) с применением технологии высокопроцессивного клонирования методом Golden Gate и эндонуклеазы рестрикции BsaI класса II S. С помощью реакции амплификации в режиме реального времени с применением модифицированных праймеров синтезированы ампликоны, содержащие требуемые адапторы. Проведена рестрикция по сайтам узнавания с образованием «липких» концов с последующим простым лигированием. Осуществлен анализ полученного вектора ввода *in silico* с помощью рестриктазы BsmBI с получением ампликонов ожидаемых размеров: 187 и 2503 п. н. Осуществлена трансфекция клеток линии CRFK *in vitro* полученной плазмидой pJet1.2sfGFP-CCoV и получен положительный контрольный образец для создания тест-системы.

Установлена зависимость между пороговым циклом амплификации и титром инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для изготовления культуральных вакцин в виде логарифмической функции: $\lg T_{CCoV} = -0,2998 \times C_t + 10,491$ с эффективностью реакции амплификации 99,43 % и достоверностью аппроксимации – 0,9991.

Выявлено, что данные, полученные с помощью разработанной тест-системы, кор-

релировали с методом титрования в культуре клеток на 99,2–100,0 % для 8,0–6,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,9–99,2 % для 5,9–4,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,8–99,1 % для 3,9–1,6 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,5–99,1 % для 1,5–1,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,0–98,2 % для 0,9–0,5 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 90,3–95,2 % для 0,0–0,4 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96).

Определено, что аналитическая чувствительность разработанной тест-системы составляла не менее 0,5 lg ТЦД₅₀/см³ с достоверностью результатов исследования не менее 97,0 %.

Доказано, что для разработанной тест-системы в 95 %-ном доверительном интервале диагностическая чувствительность составила 99,12–100,00 %, диагностическая специфичность – 98,03–100 %, к-критерий – 1,000.

Список литературы

1. Васильева Л. А. Статистические методы в биологии, медицине и сельском хозяйстве: учеб. пособие / Л. А. Васильева. Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО РАН, 2007. 124 с.
2. Диагностика и профилактика инфекционных болезней кошек и собак: Руководство для практикующих ветеринарных врачей под редакцией Т.И. Алипера. Москва, 2017; 207–212.
3. Компания iGEM. Информация о разных последовательностях промоторов, терминаторов. // URL: <http://parts.igem.org/Promoters/Catalog>. (Дата обращения: 17.07.2023).
4. Модель Kyte and Doolittle для расчета средних значений гидрофобности и составления гидрофобного профиля аминокислотных последовательностей белков [Электронный ресурс] https://www.researchgate.net/figure/A-Kyte-Doolittle-Hydrophobicity-plot-of-the-RNase-k-02-protein-Regions-with-values_fig5_262071562. (Дата обращения: 15.04.2023).
5. СТБ ИСО 5725-2002. «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений». Части 1-6. – 01.11.2002.
6. Ashwini M. Advances in Molecular Cloning / M. Ashwini, S. B. Murugan, S. Balamurugan // Mol Biol (Mosk). 2016 Jan-Feb. V. 50(1). P. 3–9.
7. Dalby B. Advanced transfection with Lipofectamine reagent: primary neurons, siRNA, and high-throughput applications / B. Dalby, S. Cates, A. Harris et al. // Methods. 2004. V. 33 (2). P. 95–103.
8. Dryden D. T. Nucleoside triphosphate-dependent restriction enzymes / D. T. Dryden, N. E. Murray, D. N. Rao // Nucleic Acids Research. 2001. V.29 (18). P. 3728–41.
9. Engler C. Golden Gate cloning / C. Engler, S. Marillonnet // Methods Mol Biol. 2014. V. 1116. P. 119–131.
10. Enjuanes L. Coronaviridae. / L. Enjuanes, D. Brian, D. Cavanagh, K. Holmes, M. M. C. Lai, H. Laude, P. Masters, P. Rottier, S. Siddell, W. J. M. Spaan, F. Taguchi, P. Talbot // van Regenmortel M. H. V., Fauquet C. M., Bishop D. H. L., Carstens E. B., Estes M. K., Lemon S. M., Maniloff J., Mayo M. A., McGeoch D. J., Pringle C. R., Wickner R. B. (Eds.) Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses. Academic Press, New York. 2000. P. 835–849.
11. Hamedirad M. Highly Efficient Single-Pot Scarless Golden Gate Assembly / M. Hamedirad, S. Weisberg, R. Chao // ACS Synth Biol. 2019. V. 8(5). P. 1047–1054.
12. Lessard J. C. Molecular cloning. / J. C. Lessard // Methods Enzymol. 2013;529:85–98.
13. Licitra B. N. Canine enteric coronaviruses: emerging viral pathogens with distinct recombinant spike proteins. /

B. N. Licitra, G. E. Duhamel, G. R. Whittaker // Viruses. 2014 Aug 22;6(8):3363-76. doi: 10.3390/v6083363.

14. Naylor M. J. Identification of canine coronavirus strains from faeces by S gene nested PCR and molecular characterization of a new Australian isolate / M. J. Naylor, G. A. Harrison, R. P. Monckton, S. McOrist, P. R. Lehrbach, E. M. Deane // J. Clin. Microbiol. 2001. V. 39. P. 1036–1041.

15. N. von Ahsen. Oligonucleotide melting temperatures under pcr conditions: nearest-neighbor corrections for Mg²⁺, deoxynucleotide triphosphate, and dimethyl sulfoxide concentrations with comparison to alternative empirical formulas / N. von Ahsen, C. T. Wittwer, E. Schütz // Clinical Chemistry: journal. 2001. Vol. 47, no. 11. P. 1956–1961.

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

17. Ntafis V. Canine coronavirus, Greece. Molecular analysis and genetic diversity characterization. / V. Ntafis, V. Mari, N. Decaro, M. Papanastassopoulou, D. Pardali, T. S. Rallis, T. Kanellos, C. Buonavoglia, E. Xylouri // Infect Genet Evol. 2013 Jun;16:129–36.

18. Nunes M. C. T-cell responses to SARS-CoV-2 in unexposed South African women. / M. S. Nunes, M. J. Johnson, G. Kwatra, A. Weinberg, S. A. Madhi // Gates Open Res. 2022 Jul 13;5:150. doi: 10.12688/gatesopenres.13373.2.

19. Pratelli A. Diagnosis of canine coronavirus infection using nested-PCR / A. Pratelli, D. Buonavoglia, V. Martella, M. Tempesta, A. Lavazza, C. Buonavoglia // J. Virol. Methods. 2000. V. 84. P. 91–94.

20. Pratelli A. Variation of the sequence in the gene encoding for transmembrane protein M of canine coronavirus (CCoV) / A. Pratelli, V. Martella, G. Elia, N. Decaro, A. Aliberti, D. Buonavoglia, M. Tempesta, C. Buonavoglia // Mol. Cell. Probes. 2001. V. 15. P. 229–233.

21. Pratelli A. PCR assay for the detection and the identification of atypical canine coronavirus in dogs / A. Pratelli, A. Tinelli, N. Decaro, M. Camero, G. Elia, A. Gentile, C. Buonavoglia // J. Virol. Methods. 2002. V. 106. P. 209–213.

22. Pratelli A. PCR assay for the detection and the identification of atypical canine coronavirus in dogs / A. Pratelli, A. Tinelli, N. Decaro, M. Camero, G. Elia, A. Gentile, C. Buonavoglia // J. Virol. Methods. 2002. V. 106. P. 209–213.

23. Roberts R. J. REBASE-enzymes and genes for DNA restriction and modification / R. J. Roberts, T. Vincze, J. Posfai et al. // Nucleic Acids Research. 2007. V. 35 (Database issue): D269-70.

24. Tortorici M. A. Structure, receptor recognition, and antigenicity of the human coronavirus CCoV-HuPn-2018 spike glycoprotein. / M. A. Tortorici, A. C. Walls, A. Joshi, Y. J. Park, R. T. Eguia, M. C. Miranda, E. Kepl, A. Dosey, T. Stevens-Ayers, M. J. Boeckh, A. Telenti, A. Lanzavecchia, N. P. King, D. Corti, J. D. Bloom, D. Veessler // Cell. 2022 Jun 23;185(13):2279-2291.e17.

25. Takano T. Prevalence of canine coronavirus (CCoV) in dog in Japan: detection of CCoV RNA and retrospective serological analysis. / T. Takano, S. Yamashita, M. Murata-Ohkubo, K. Satoh, T. Doki, T. Hohdatsu // J Vet Med Sci. 2016 Feb;78(2):341–5.

26. Vallat B. OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases. / B. Vallat. 2nd ed. Paris, France, 2008. 67 p.

27. Vlasova A. N. Novel Canine Coronavirus Isolated from a Hospitalized Patient With Pneumonia in East Malaysia. / A. N. Vlasova, A. Diaz, D. Damtie, L. Xiu, T. H. Toh, J. S. Lee, L. J. Saif, G. C. Gray // Clin Infect Dis. 2022 Feb 11;74(3):446–454.

Исследование выполнено в рамках совместного научного исследования на базах областного бюджетного учреждения здравоохранения «Ивановский областной наркологический диспансер» и ФГБУ «ВНИИЗЖ». Исследование выполнено без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-61-65

УДК 619:579.842.14:637.001.53:616-079.4

Ключевые слова: сальмонелла, идентификация, дифференциация, тест-системы, биосенсоры

Key words: *Salmonella*, identification, differentiation, test-systems, biosensors

Прунтова О. В., Шадрова Н. Б.

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ
БАКТЕРИЙ РОДА *SALMONELLA*
(обзор литературы)**

*MODERN METHODS FOR SALMONELLA IDENTIFICATION AND DIFFERENTIATION
(literature review)*

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

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

Federal Centre for Animal Health, Federal Governmental Budgetary Institution

Address: 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets

Прунтова Ольга Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник.

E-mail: pruntova@arriah.ru. orcid.org/0000-0003-3143-7339

Pruntova Olga Vladislavovna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher.

E-mail: pruntova@arriah.ru. orcid.org/0000-0003-3143-7339

Шадрова Наталия Борисовна, кандидат биологических наук, зав. отделом.

E-mail: shadrova@arriah.ru. orcid.org/0000-0001-7510-1269.

Shadrova Natalia Borisovna, PhD of Biological Science, Head of the Laboratory.

E-mail: shadrova@arriah.ru. orcid.org/0000-0001-7510-1269.

Аннотация. В обзоре представлен анализ научных публикаций о современных методах выявления, дифференциации и количественного определения бактерий рода *Salmonella* в патологическом материале и продуктах животного происхождения. Бактерии рода *Salmonella* находятся на втором месте среди патогенов, вызывающих вспышки желудочно-кишечных инфекций у сельскохозяйственных животных и человека в Российской Федерации (РФ), странах Европы и Северной Америки. В связи с этим быстрое обнаружение сальмонелл имеет решающее значение для предотвращения вспышек сальмонеллеза и минимизации случаев сальмонеллезноносительства. Выбор метода индикации и идентификации сальмонелл определяется целью исследования. Так при исследовании вспышек сальмонеллеза, с целью определения источника инфекции, путей передачи, установления родства между выявленными штаммами, выявления мутаций в популяции сальмонелл необходимо детальное изучение ферментативных, антигенных, патогенных, молекулярно-генетических и других свойств бактерий. Для этого в настоящее время применяют методы молекулярной гибридизации, полимеразную цепную реакцию, секвенирование и другие. Все методы наряду с несомненными достоинствами обладают и некоторыми недостатками. В последнее десятилетие исследователями разработаны альтернативные методы, основанные, в частности, на специфических биосенсорах. Все молекулярно-генетические методы позволяют выявлять различия генома сальмонелл, что важно для характеристики их популяций, выявления мутаций, приводящих к разным фенотипическим проявлениям (например, антибиотикорезистентности), установления родственных взаимосвязей между штаммами при выяснении причин вспышек сальмонеллеза. При анализе и систематизации сведений по методам индикации сальмонелл было показано, что в дополнение к вышеуказанным, в последние годы были разработаны новые перспективные методы с использованием биосенсоров, которые в перспективе могут стать реальной альтернативой для быстрого выявления сальмонелл в патологическом материале и продукции животного происхождения.

Summary. Scientific publications on the development of modern methods for *Salmonella* detection, differentiation and quantification in pathological materials and products of animal origin were analyzed in the review. *Salmonella* are ranked the second among the pathogens causing gastrointestinal infections in livestock animals and in humans in the Russian Federation (RF), European and North American countries. Therefore, rapid *Salmonella* detection is of crucial importance for prevention of salmonellosis outbreaks and *Salmonella*-carrier status in livestock holdings and for consumer safety ensuring. The choice of methods to be used for *Salmonella* detection and identification depends on the aim of the study. Thus, investigation of salmonellosis outbreaks aimed at searching for the infection source, transmission routes, determination of the relationship between detected strains, detection of mutations in *Salmonella* populations requires detailed genotype study. The following methods are currently used for these purposes: molecular hybridization, restriction analysis, polymerase chain reaction, sequencing and others. All methods, along with their undoubted advantages, also have some drawbacks. Alternative methods based, in particular, on specific biosensors have been developed by researches in last decade. The review was aimed at analysis and systematization of scientific publication data on development of modern methods for *Salmonella* detection, differentiation and quantification in animal products. All directions in the research and development of new tests-systems for *Salmonella* detection, identification and differentiation in animal products are described in the paper. All molecular genetic methods allow detection of differences in *Salmonella* genome that is essential for the population characterization, detection of the mutations resulting in various

phenotypic manifestations (for example, antimicrobial resistance), determination of the relationship between the strains during salmonellosis outbreak investigation aimed at searching for the outbreak causes. Analysis and systematization of the data on methods for Salmonella detection has showed that in addition to the abovementioned methods new promising methods using biosensors have been recently developed that in the future can become a potential alternative for the rapid and inexpensive Salmonella detection in pathological materials and animal products.

Бактерии рода *Salmonella* и, в частности, сероварианты *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) и *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) находятся на втором месте среди патогенов, вызывающих вспышки желудочно-кишечных инфекций у сельскохозяйственных животных и человека [21, 22]. У сельскохозяйственных животных, являющихся носителями сальмонелл, симптомы сальмонеллеза проявляются только при заражении специфичными для конкретного вида животных серовариантами, например, для крупного рогатого скота – *S. dublin*, для свиней – *S. choleraesuis*, для кур – *S. pullorum* и *S. gallinarum*. При инфицировании животных неспецифичными для них серовариантами сальмонелл, животные становятся бессимптомными бактерионосителями, способными контаминировать продукты животноводства, объекты внешней среды и корма [1, 2]. В связи с этим быстрое обнаружение сальмонелл, как в патологическом материале, так и в продуктах животного происхождения имеет решающее значение для предотвращения вспышек сальмонеллеза и сальмонеллоносительства в животноводческих хозяйствах и обеспечения безопасности потребителей продукции животноводства. Большое разнообразие серовариантов сальмонелл затрудняет их дифференциацию, заставляет определять широкий набор биохимических признаков и подтверждать их молекулярно-генетическими методами. Выбор метода дифференциации зависит от целей испытания [1]. Так для определения видовой или серовариантной принадлежности сальмонелл используют традиционные методы, основанные на биохимических и антигенных свойствах бактерий [1]. В то время, как при расследовании вспышек сальмонеллеза, с целью определения источника инфекции, путей передачи, установления родства между выявленными изолятами, выявления мутаций в популяции сальмонелл необходимо детальное изучение генотипа. Для этого в настоящее время применяют методы молекулярной гибридизации, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и секвенирование [8, 9]. ПЦР особенно широко используют для прямого обнаружения генома микроорганизмов, так как это один из самых чувствительных на сегодняшний день методов. Все перечисленные методы обладают некоторыми недостатками, например, требуют обязательного этапа инкубации испытуемых образцов в среде обогащения для

получения концентрации бактерий, достаточной для индикации и получения чистой культуры сальмонелл. Для преодоления этих трудностей в последнее десятилетие исследователями разработаны альтернативные методы, основанные, в частности, на специфических биорецепторах [26, 27]. Цель этого обзора состояла в анализе и систематизации данных научных публикаций о разработке современных методов для обнаружения, дифференциации и количественного определения сальмонелл в патологическом материале и продуктах животного происхождения.

Преимущества и недостатки традиционных методов обнаружения и дифференциации сальмонелл. Традиционные методы выделения и дифференциации сальмонелл включают посев образцов для предварительного обогащения в забуференную пептонную воду, пересев на селективную среду с последующим выделением чистой культуры, определение биохимических свойств и установление сероварианта [5]. Бактериологический анализ – это единственный метод, позволяющий выделить жизнеспособные бактерии в чистой культуре и определить их фенотипические признаки, но это трудоемкий анализ, требующий от 3 до 7 суток. Другие недостатки традиционных методов выделения и дифференциации бактерий связаны с риском микробной контаминации, которая может приводить к ингибированию роста выявляемых бактерий [12].

Иммунологические и иммунохимические методы. Иммунологические и иммунохимические методы, основанные на специфическом связывании антигенов и антител, были разработаны для обнаружения сальмонелл несколько десятилетий назад и в настоящее время широко используются при создании экспресс-тест-систем и автоматических анализаторов для выявления антигенов [13]. Для выявления и дифференциации сальмонелл наиболее широко используют различные варианты иммуноферментного анализа (ИФА) [24]. Кроме ИФА, используют такие иммунохимические методы, как проточно-инъекционный иммуноанализ, иммунохроматографический стрип-тест и иммуномагнитную сепарацию. Предел обнаружения сальмонелл в тест-системах ИФА, находится в диапазоне от 10⁴ до 10⁵ КОЕ/мл с временем анализа 24–48 часов из-за необходимости этапа предварительного обогащения образцов [6, 13, 30]. *Имуномагнитная сепарация*

бактериальных клеток основана на использовании микросфер диаметром около 50 нм, покрытых моноклональными антителами (МАТ), специфичными поверхностному антигену сальмонелл. Этот метод позволяет осуществлять быстрое и прямое специфическое выделение максимального числа целевых клеток. В настоящее время на основе иммуномагнитной сепарации разработаны тест-системы для выявления *S. choleraesuis* и других серовариантов сальмонелл [28, 30].

Молекулярно-генетические методы выявления и дифференциации сальмонелл основаны на анализе структуры ДНК посредством гибридизации, секвенирования и рестрикции нуклеиновых кислот. Эти методы подразделяют на: плазмидный анализ, электрофорез в пульсирующем поле, мультилокусное секвенирование фрагментов и полногеномное секвенирование. Ни один из этих методов не может быть реализован без ПЦР, в ходе которой при помощи ДНК-полимеразы и праймеров многократно копируется специфическая последовательность ДНК [7, 15]. Высокая чувствительность реакции, возможность быстрой детекции ДНК микроорганизма без этапа обогащения являются факторами, обуславливающими целесообразность использования метода ПЦР при исследовании патологического материала, а также для идентификации изолятов сальмонелл [15]. В настоящее время сальмонеллы обнаруживают с помощью классической ПЦР, ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), мультиплексной ПЦР и ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), иногда в сочетании с другими методами, такими как иммуномагнитная сепарация [3, 20]. В настоящее время разработана тест-система с использованием праймеров ST11 и ST15 для амплификации фрагмента ДНК (429 п. н.), специфичного для бактерий рода *Salmonella* [15, 18, 20]. Использование предварительного и селективного обогащения на этапе пробоподготовки позволило достичь 100 %-й специфичности этой тест-системы. В то время как отсутствие селективного обогащения снижало чувствительность данной тест-системы до 85 %. S. Aabo, O. F. Rasmussen и M. S. Myint, Y. J. Johnson с соавторами показали, что для выявления сальмонелл с помощью ПЦР при пределе обнаружения 100 КОЕ/мл необходим этап предварительного обогащения в течение 12 ч. [16]. Кроме того, была разработана тест-система ПЦР для выявления и дифференциации *S. enteritidis*, *S. gallinarum*, *S. pullorum*, *S. typhimurium*. В этой тест-системе для каждого образца проводили селективное обогащение в бульоне Раппопорта-Вассилиадиса с последую-

щей экстракцией ДНК и ПЦР-амплификацией. Предел обнаружения составлял 2 КОЕ/мл для *S. typhimurium*, 8 КОЕ/мл для *S. enteritidis*, $1,1 \times 10^3$ КОЕ/мл для *S. gallinarum* и $1,8 \times 10^5$ КОЕ/мл для *S. pullorum*. Аналогично была разработана тест-система ПЦР для специфического обнаружения двадцати сероваров сальмонелл с использованием гена энтеротоксина сальмонелл (*stn*), предел обнаружения которой составил 1 КОЕ/г образца [16]. Для обнаружения сальмонелл был разработан набор праймеров с использованием генов вирулентности *sipB* и *sipC*. Предел обнаружения в этой тест-системе составил 10 КОЕ/г, время инкубации в среде обогащения от 6 до 18 часов. В 2000-х годах для выявления жизнеспособных клеток был разработан вариант ПЦР, названный *v*-PCR, который объединяет классическую ПЦР и количественную ПЦР (qPCR) с использованием интеркалирующих красителей. Метод *v*-PCR основан на способности красителей проникать только в клетки с нарушенной мембраной и внутри погибших клеток ковалентно связываться с ДНК, вызывая фотоактивацию. Это связывание необратимо и ингибирует амплификацию ДНК только погибших бактерий, а ДНК живых определяют в ПЦР [8]. Главное ограничение для широкого использования метода *v*-PCR состоит в неполном исключении погибших микроорганизмов, что приводит к ложноположительным результатам реакции [8]. Полногеномное секвенирование изменило подход к лабораторной диагностике инфекционных болезней и к методам выявления и дифференциации микроорганизмов, в том числе и сальмонелл [29]. Этот метод основан на использовании генетических различий сероваров *S. enterica* и возможности количественно оценивать наличие смешанных культур бактерий в естественных условиях и их выживание в лимфатической системе животных для прогнозирования их зоонозного потенциала.

Биосенсоры. В течение последних двадцати лет перспективными инструментами для клинической диагностики и анализа продукции животного происхождения стали биосенсоры. Биосенсор – это аналитический инструмент, состоящий из двух элементов: распознающего элемента – биорецептора, который способен специфически взаимодействовать с целевой молекулой, и преобразователя, который трансформирует биологическую реакцию в измеряемый сигнал. В качестве биорецептора используют биокатализаторы, которые воздействуют на молекулу-мишень (ферменты, целые клетки, органеллы и т.д.), или некаталитические соединения

(антигены, антитела, нуклеиновые зонды, аптамеры или другие), которые используются для простого связывания молекулы-мишени. Биорецептор должен обладать высокой специфичностью и чувствительностью по отношению к своей мишени, чтобы обеспечить ответ за короткое время и обычно иммобилизован на поверхности датчика. В зависимости от метода передачи сигнала, биосенсоры подразделяют на три основные категории: оптические, электрохимические и массочувствительные сенсоры. Биосенсоры просты в использовании, универсальны, недороги, портативны и позволяют проводить детекцию в режиме реального времени. Более того их можно использовать в грязной (нестерильной) среде с минимальной подготовкой образца [4, 11, 19, 26]. В основном, в биосенсорах для обнаружения сальмонелл используют антитела в качестве распознающего элемента, но в настоящее время все больше и больше устройств разрабатывается на основе нуклеиновых кислот, а точнее ДНК-аптамеров [17, 20]. Требования к биосенсорам для обнаружения бактерий состоят в следующем: они должны иметь предел обнаружения 1 микробная клетка в объеме образца от 1 до 100 мл и обладать специфичностью. Время анализа должно составлять от 5 до 10 минут для одного теста. В идеале биосенсор для выявления сальмонелл должен различать живые и мертвые клетки, выявлять и дифференцировать бактерии без предварительного обогащения. Однако биосенсоры, описанные на сегодняшний день в литературе, не отвечают всем этим требованиям. *Поверхностный плазмонный резонанс* (ППР) – это оптический метод обнаружения взаимодействия двух различных молекул, в котором одна из них подвижна, а другая закреплена на тонкой золотой пленке. Для обнаружения *S. typhimurium* в продуктах птицеводства был разработан оптический биосенсор поверхностного плазмонного резонанса (ППС). Этот ППС-биосенсор позволяет обнаружить *S. typhimurium* на уровне 1×10^6 КОЕ/мл в продуктах птицеводства [3, 10].

Сенсоры, основанные на флуоресцентном резонансном переносе энергии (ФРПЭ) позволяют измерить расстояние между двумя хромофорами (пара донор-акцептор). Такие тест-системы применяют для обнаружения *S. typhimurium* с помощью оптоволоконного датчика ФРПЭ с использованием антител к *Salmonella*. Связывание *S. typhimurium* вызывает конформационные изменения антител, что приводит к уменьшению расстояния между донором и акцептором и увеличению флуоресценции. Предел обнаружения

этого ФРПЭ-сенсора составляет 10^3 КОЕ/мл [3, 10].

Биосенсоры химической люминесценции, основаны на измерении света, излучаемого во время реакции биохемилюминесценции. Их основное преимущество связано с высокой вероятностью определения свечения во время химической реакции [23, 25]. Недавно было подтверждено использование иммуносенсоров, основанных на системах светомикроскопической визуализации, для быстрого обнаружения *Salmonella* в продуктах птицеводства с пределом обнаружения 10^3 КОЕ/25 г образца [14].

Заключение

Современные методы, используемые для выявления и дифференциации бактерий рода *Salmonella* в патологическом материале и продуктах животного происхождения, включают методы золотого стандарта – это традиционные микробиологические методы, молекулярно-генетические и иммунологические методы. Все молекулярно-генетические методы позволяют выявлять различия в геномах сальмонелл, что важно для характеристики их популяций, выявления мутаций, приводящих к разным фенотипическим проявлениям (например, антибиотикорезистентности), установления родства между штаммами при выяснении причин вспышек сальмонеллеза. В последние годы были разработаны новые перспективные методы с использованием биосенсоров, которые в перспективе могут стать реальной альтернативой для быстрого и недорогого обнаружения сальмонелл в патологическом материале и продукции животного происхождения.

Список литературы

1. Егорова С. А. Современные методы субтипирования сальмонелл при расследовании вспышек сальмонеллеза. / С. А. Егорова, К. В. Кулешов, Л. А. Кафтырева // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2019, 3:36–42 (doi: 10.14427/jipai.2019.3.33).
2. Семина А. Н. Спектр циркулирующих серовариантов сальмонелл в птицеводческих хозяйствах. / А. Н. Семина // Международный вестник ветеринарии, 2019, 4:9–13 (doi: 10.17238/issn2072-2419.2019.4.9).
3. Abdelhaseib M. U. Fiber optic and light scattering sensors: Complimentary approaches to rapid detection of *Salmonella enterica* in food samples. / M. U. Abdelhaseib, A. K. Singh, M. Bailey, M. Singh, T. El-Khateib, A. K. Bhunia // Food Control, 2016, 61:135–145 (doi: 10.1016/j.foodcont.2015.09.031).
4. Bahadir E. B. Lateral flow assays: Principles, designs and labels. / E. B. Bahadir, M. K. Sezgentürk // Trends in Analytical Chemistry, 2016, 82: 286–306 (doi: 10.1016/j.trac.2016.06.006).
5. Carrique-Mas J. J. Sampling and bacteriological detection of *Salmonella* in poultry and poultry premises: a review / J. J. Carrique-Mas, R. H. Davies // Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics), 2008, 27(3):665–677 (doi: 10.20506/rst.27.3.1829).

6. Cho I.-H. In-situ immuno-gold nanoparticle network ELISA biosensors for pathogen detection. / I.-H. Cho, J. Irudayaraj // International Journal of Food Microbiology, 2013, 164(1):70–75 (doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.025).
7. De Boer R. F. Improved detection of five major gastrointestinal pathogens by use of a molecular screening approach. / R. F. De Boer, A. Ott, B. Kesztyüs, A. M. D. Kooistra-Smid // Journal of Clinical Microbiology, 2010, 48(11):4140–4146 (doi: 10.1128/JCM.01124-10).
8. Dinh Thanh M. Improved sample treatment protocol for accurate detection of live *Salmonella* spp. in food samples by viability PCR. / M. Dinh Thanh, G. Agustí, A. Mader, B. Appel, F. Codony // PLoS ONE, 2017, 12(12): e0189302 (doi: 10.1371/journal.pone.0189302).
9. Fang Z. Lateral flow biosensor for DNA extraction-free detection of *Salmonella* based on aptamer mediated strand displacement amplification. / Z. Fang, W. Wu, X. Lu, L. Zeng // Biosensors and Bioelectronics, 2014, 56:192–197 (doi: 10.1016/j.bios.2014.01.015).
10. Ko S. A novel FRET-based optical fiber biosensor for rapid detection of *Salmonella typhimurium*. / S. Ko, S. A. Grant // Biosensors and Bioelectronics, 2006, 21(7):1283–1290 (doi: 10.1016/j.bios.2005.05.017).
11. Lafleur J. P. Recent advances in lab-on-a-chip for biosensing applications. / J. P. Lafleur, A. Jönsson, S. Senkbeil, J. P. Kutter // Biosensors and Bioelectronics, 2016, 76:213–233 (doi: 10.1016/j.bios.2015.08.003).
12. Li L. The importance of the viable but non-culturable staphylococcal bacterial pathogens. / L. Li, N. Mendis, H. Trigui, J. D. Oliver, S. P. Faucher // Front in Microbiology, 2014, 5: 258 (doi: 10.3389/fmicb.2014.00258).
13. Magliulo M. A rapid multiplexed chemiluminescent immunoassay for the detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* pathogen bacteria. / M. Magliulo, P. Simoni, M. Guardigli, E. Michelini, M. Luciani, R. Lelli, A. Roda // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(13): 4933–4939 (doi: 10.1021/jf063600b).
14. Moongkarndi P. Evaluation of an immunochromatographic assay for rapid detection of *Salmonella enterica* serovars *Typhimurium* and *Enteritidis*. / P. Moongkarndi, E. Rodpai, S. Kanarat // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2011, 23(4):797–801 (doi: 10.1177/1040638711408063).
15. Mothershed E. A. Nucleic acid-based methods for the detection of bacterial pathogens: Present and future considerations for the clinical laboratory. / E. A. Mothershed, A. M. Whitney // Clinica Chimica Acta, 2006, 363(1-2): 206–220 (doi: 10.1016/j.cccn.2005.05.050).
16. Myint M. S. The effect of pre-enrichment protocol on the sensitivity and specificity of PCR for detection of naturally contaminated *Salmonella* in raw poultry compared to conventional culture. / M. S. Myint, Y. J. Johnson, N. L. Tablante, R. A. Heckert // Food Microbiology, 2006, 23(6): 599–604 (doi: 10.1016/j.fm.2005.09.002).
17. Oh J.-H. Immunosensors combined with a light microscopic imaging system for rapid detection of *Salmonella*. / J.-H. Oh, M.-K. Park // Food Control, 2016, 59:780–786 (doi: 10.1016/j.foodcont.2015.07.007).
18. Oliveira S. D. Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. / S. D. Oliveira, L. R. Santos, D. M. T. Schuch, A. B. Silva, C. T. P. Salle, C. W. Canal // Veterinary Microbiology, 2002, 87(1):25–35 (doi: 10.1016/s0378-1135(02)00028-7).
19. Palchetti I. Electroanalytical biosensors and their potential for food pathogen and toxin detection. / I. Palchetti, M. Mascini // Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2008, 391(2):455–471 (doi: 10.1007/s00216-008-1876-4).
20. Perry L. Application of multiplex polymerase chain reaction to the detection of pathogens in food. / L. Perry, P. Heard, M. Kane, H. Kim, S. Savikhin, W. Dominguez, B. Applegate // Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 2007, 15(2):176–198 (doi: 10.1111/J.1745-4581.2007.00083.X).
21. RASFF – The Rapid Alert System for Food and Feed – Annual Report 2019. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2020. Режим доступа: <https://www.reading.ac.uk/foodlaw/pdf/2020-Commission-RASFF-Report-2019.pdf>. Дата обращения: 27.06.2022.
22. RASFF – The Rapid Alert System for Food and Feed – Annual Report 2020. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2021. Режим доступа: https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-08/rasff_pub_annual-report_2020.pdf. Дата обращения: 27.06.2022.
23. Roda A. Progress in chemical luminescence-based biosensors: A critical review. / A. Roda, M. Mirasoli, E. Michelini, M. Di Fusco, M. Zangheri, L. Cevenini, B. Roda, P. Simoni // Biosensors and Bioelectronics, 2016, 76:164–179 (doi: 10.1016/j.bios.2015.06.017).
24. Schneid A. dos S. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of *Salmonella* in chicken meat. / A. Schneid dos S., K. L. Rodrigues, D. Chemello, E. C. Tondo, M. A. Z. Ayub, J. A. G. Aleixo // Brazilian Journal of Microbiology, 2006, 37(3):350–355 (doi: 10.1590/S1517-83822006000300027).
25. Settingington E. B. Electrochemical biosensor for rapid and sensitive detection of magnetically extracted bacterial pathogens. / E. B. Settingington, E. C. Alocilja // Biosensors, 2012, 2(1):15–31 (doi: 10.3390/bios2010015).
26. Sharma H. Review of biosensors for foodborne pathogens and toxins. / H. Sharma, R. Mutharasan // Sensors and Actuators B: Chemical, 2013, 183:535–549 (doi: 10.1016/j.snb.2013.03.137).
27. Shinde S. B. Recent trends in in-vitro nanodiagnostics for detection of pathogens. / S. B. Shinde, C. B. Fernandes, V. B. Patravale // Journal of Controlled Release, 2012, 159(2):164–180 (doi: 10.1016/j.jconrel.2011.11.033).
28. Velusamy V. An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. / V. Velusamy, K. Arshak, O. Korostynska, K. Oliwa, C. Adley // Biotechnology Advances, 2010, 28(2): 232–254 (doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.12.004).
29. Vohra P. Quantifying the survival of multiple *Salmonella enterica* serovars *in vivo* via massively parallel whole-genome sequencing to predict zoonotic risk. / P. Vohra, M. Bugarel, F. H. Turner, G. Loneragan, J. Hope, J. P. Hopkins, M. Stevens // Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(4): e02262-17 (doi: 10.1128/AEM.02262-17).
30. Xia S. Developing a novel immunochromatographic test strip with gold magnetic bifunctional nanobeads (GMBN) for efficient detection of *Salmonella choleraesuis* in milk. / S. Xia, Z. Yu, D. Liu, C. Xu, W. Lai // Food Control, 2016, 59:507–512 (doi: 10.1016/j.foodcont.2015.06.028).

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-66-68

УДК: 619:616-073.43]:618.2.:636.296

Ключевые слова: альпака, ультразвуковая диагностика, беременность альпак, верблюдовые

Key words: alpaca, ultrasound diagnostics, alpaca pregnancy, camelid

Шумилин Ю. А.

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА БЕРЕМЕННОСТИ И РАЗВИТИЯ ПЛОДА У АЛЬПАК *ULTRASOUND DIAGNOSTICS OF PREGNANCY AND FETAL DEVELOPMENT IN ALPACAS*

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I»

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

Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great.

Address: 394087 Russian Federation, Voronezh, Michurina str., 1

Шумилин Юрий Александрович, кандидат ветеринарных наук, доцент, доцент кафедры терапии и фармакологии, e-mail: shumilin80@mail.ru

Shumilin Yury Alexandrovich, PhD of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Therapy and Pharmacology, e-mail: shumilin80@mail.ru

Аннотация. Для своевременной диагностики беременности у альпак, правильной организации кормления и ухода за беременными животными первое УЗИ исследование проводится на 45 день после даты спаривания, второе на 80 день и заключительное на 315 день (по показаниям). Критериями беременности и правильного развития плода являются: гиперэхогенные структуры эмбриона, в которых в зависимости от срока беременности просматриваются очертания головы, конечностей, позвоночника, грудной клетки. Плод окружен достаточным количеством анэхогенной жидкости, хорошо заметны сердцебиение и подвижность – указывающие на жизнеспособность. Трансабдоминальное сканирование в стоячем положении животного обеспечивает оптимальный доступ, позволяет получить изображение хорошего качества и визуализировать матку.

Summary. For timely diagnosis of pregnancy in alpacas, proper organization of feeding and care of pregnant animals, the first ultrasound examination is carried out on the 45th day after the date of mating, the second on the 80th day and the final on the 315th day (according to indications). The criteria for pregnancy and proper fetal development are: hyperechoic structures of the embryo, in which, depending on the period of pregnancy, the outlines of the head, limbs, spine, chest are visible. The fetus is surrounded by a sufficient amount of anechoic fluid, palpitations and mobility are clearly visible – indicating viability. Transabdominal scanning in the standing position of the animal provides optimal access, allows you to get a good quality image and visualize the uterus.

Введение

Южноамериканские верблюдовые, к которым относятся и альпаки, приобретают все большую популярность в нашем регионе и стране в целом. Их выращивают для стрижки шерсти, которая обладает ценными потребительскими свойствами: она теплее, чем шерсть овцы, практически водонепроницаема и гипоаллергенна [1, 2]. Для улучшения воспроизводства и стимуляции частоты беременности, а также правильной организации кормления беременных альпак показано внедрение ультразвукового сканирования, которое позволяет: диагностировать беременность, оценить возраст плода, его развитие и жизнеспособность. Однако в доступной литературе информация об этих диагностических процедурах у альпак весьма ограничена, что делает нашу работу особенно актуальной.

Цель работы: изучить ультразвуковые критерии беременности, оценить развитие плода и

сформулировать методические рекомендации по ультразвуковому исследованию матки у альпак.

Материал и методы

Работа выполнена в условиях ветеринарной клиники, кафедры терапии и фармакологии Воронежского ГАУ, на пяти альпаках парка «Белый колодец» Хохольского района Воронежской области в 2021–2022 году. Сканирование матки выполняли трансабдоминально на ультразвуковом аппарате AcuVista RS880i, используя конвексный или микроконвексный датчик с переменной рабочей частотой от 7,5 до 10 МГц.

Результаты исследований

Для подготовки акустического окна выбривали шерсть в каудо-вентральной части брюшной стенки примерно на 15 см влево и вправо от белой линии живота и до пупка. Животное можно фиксировать в лежащем положении на спине (рис. 1),



Рис. 1. Ультразвуковое исследование матки у альпаки в положении лежа на спине

однако, этот метод трудоемкий и требует участия минимум двух человек для фиксации. Большинство альпак позволяли провести это исследование в стоячем положении (рис. 2) с участием одного фиксатора, который ограничивает подвижность головы. Сканирование проводили слева и справа, так как матка у альпак двурогая. В зависимости от размера животного глубина сканирования менялась, но находилась в пределах 7–10 см.

В качестве ультразвукового ориентира для поиска матки мы использовали мочевой пузырь. При его умеренном или сильном наполнении он хорошо визуализируется в каудальной части брюшной полости в виде округлой или каплевидной анэхогенной структуры с тонкими гиперэхогенными стенками. Смещая датчик дорсокраниально от мочевого пузыря, мы визуализировали матку.

Просвет здоровой небеременной матки очень мал, ее стенки представляют собой две мягкотканые структуры с выраженной слоистостью, и в целом она трудно дифференцируема от окружающих тканей.

Так как овуляция у альпак индуцирована коитусом, и по данным литературы [3, 4] наступает в среднем через 29 часов после спаривания, то дату проведения первого УЗИ исследования



Рис. 2. Ультразвуковое исследование матки у альпаки в стоячем положении

определяли через 45–50 дней от последнего спаривания, по данным видеофиксации.

Диагностика беременности в этот период предполагает распознавание изменений в матке, связанных с развитием структур эмбриона. К 45 дню беременности на фоне анэхогенной жидкости гестационного мешка (аллантаисная жидкость) наблюдали гиперэхогенные структуры эмбриона (рис. 3). Хорошо заметны пуповина и очертания плода. Наличие сердцебиения, которое визуализировалось в виде слабого мерцания, являлось важным эхографическим признаком жизнеспособности плода.

К 80 дню беременности у плода визуализируется сформированный гиперэхогенный позвоночник, конечности, имеется активное движение и сердцебиение (рис. 4).

Далее по мере роста плода визуализировать его становится сложнее. Однако, если общее клиническое состояние животного благополучно, то необходимость УЗИ-исследования минимальна. Заключительное сканирование, по нашему мнению, следует проводить за две недели до ожидаемой даты родов. При этом выявление сердцебиения свидетельствует о благополучии и жизнеспособности плода (рис. 5).

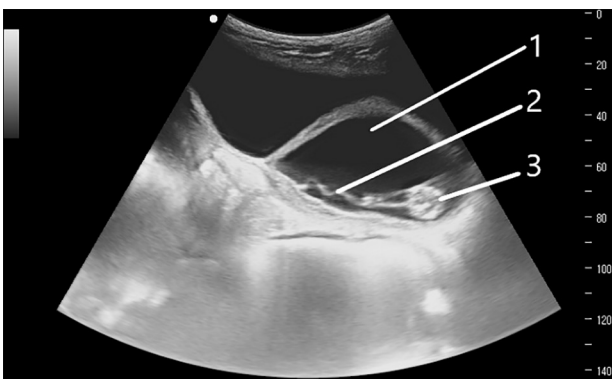


Рис. 3. УЗИ матки альпаки на 45–50-й день беременности: 1. Аллантаисная жидкость, 2. Пуповина, 3. Плод

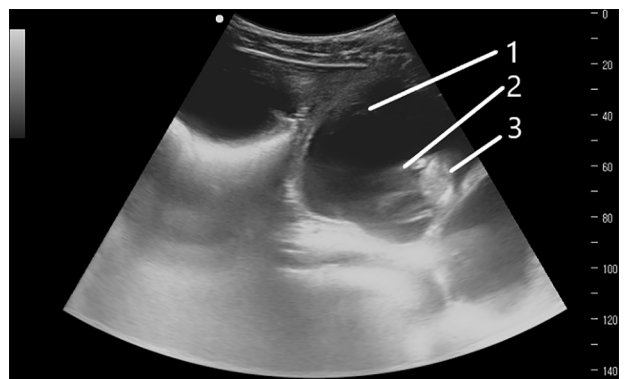


Рис. 4. УЗИ матки альпаки на 80-й день беременности: 1. Аллантаисная жидкость, 2. Конечности плода, 3. Туловище плода

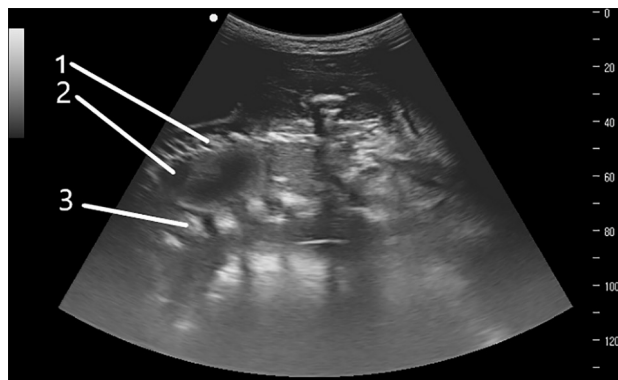


Рис. 5. УЗИ матки альпаки на 315-й день беременности: 1. Грудина плода, 2. Полости сердца плода, 3. Позвонки плода

Из пяти исследованных нами альпак у четырех (80 %) плод находился в левом роге матки и только в одном случае (20 %) в правом роге матки.

Обсуждение полученных результатов

В литературе описана методика трансректального исследования органов репродуктивной системы альпак [3]. Она предполагает использование оборудования аналогичного тому, которое применяется в животноводстве, например, Easy-Scan Go. Однако, из-за малого размера альпак, трансректальное исследование возможно провести только с помощью специальной жесткой направляющей, которая фиксирует датчик и исключает введение руки ректально. Мы считаем, что преимуществом данного метода является малое расстояние от датчика до исследуемого объекта (матка, яичники), к недостаткам следует отнести его инвазивность и необходимость усиленной фиксации животных. Описанный нами способ трансабдоминального исследования точный, неинвазивный и может быть выполнен с использованием более распространенных ультразвуковых аппаратов. К его недостаткам следует отнести трудность визуализации яичников, которые располагаются в глубине брюшной полости.

В литературе есть данные, что эмбрион у альпак может быть четко определен, начиная с 35 дня беременности [3, 4]. Поэтому мы считаем, что до этого срока проведение УЗИ нецелесообразно, по нескольким причинам: 1) диаметр

гестационного мешка слишком мал и высока вероятность ошибки, что влечет за собой необходимость повторного исследования, 2) УЗИ до 35 дня может спровоцировать аборт из-за того, что эмбрион в этот период плохо закреплен в полости матки. Руководствуясь данными литературы и собственным клиническим опытом, нами был определен срок для первоначального установления беременности у альпак в 45 дней от даты последнего спаривания.

Выводы

1. Для своевременной диагностики беременности у альпак, правильной организации кормления и ухода за беременными животными первое УЗИ-исследование проводится на 45-й день после даты спаривания, второе на 80-й день и заключительное на 315-й день (по показаниям).

2. Критериями беременности и правильного развития плода являются: гиперэхогенные структуры эмбриона, в которых в зависимости от срока беременности просматриваются очертания головы, конечностей, позвоночника, грудной клетки. Плод окружен достаточным количеством анэхогенной жидкости, хорошо заметны сердцебиение и подвижность – указывающие на жизнеспособность.

3. Трансабдоминальное сканирование в стоячем положении животного обеспечивает оптимальный доступ, позволяет получить изображение хорошего качества и визуализировать матку.

Список литературы

1. Блаженец А. А. Разведение альпак в условиях Сибири / А. А. Блаженец, И. П. Иванова // Инновационные пути развития животноводства XXI века. Материалы научно-практической конференции с международным участием. Омск: ИП Макшеевой Е. А., 2015. С. 56–58.
2. Лопаева Н. Л. Гигиена содержания альпак / Н. Л. Лопаева, О. П. Неверова // От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК. Екатеринбург: Уральский ГАУ, 2022. С. 64–65.
3. DesCôteaux L. Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography / L. DesCôteaux, G. Gnemmi, J. Colloton. USA: Wiley-Blackwell. 2010. 228 p.
4. Fowler M. E. Medicine and surgery of camelids / M.E. Fowler, P.W. Bravo. 3rd ed. USA: Wiley-Blackwell. 2010. 630 p.

Хотите быть в курсе всех новостей журнала «Актуальные вопросы ветеринарной биологии»? – вступайте в группу в ВК

<https://vk.com/ivbspbed>

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-69-75

УДК: 61:620.3.619.615

Ключевые слова: лекарственные формы, система доставки, фармацевтическая индустрия, терапия, инновации, биотехнологии

Keywords: dosage forms, delivery system, pharmaceutical industry, therapy, innovations, biotechnologies

Кастарнова Е. С., Оробец В. А., Киреев И. В., Скрипкин В. С.

ОСОБЕННОСТИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ И ЗАДАЧИ, ВЫДВИГАЕМЫЕ ПРИ СОЗДАНИИ НОВЫХ СИСТЕМ И СРЕДСТВ ДОСТАВКИ
FEATURES OF NEW DOSAGE FORMS AND TASKS PUT FORWARD WHEN CREATING NEW DELIVERY SYSTEMS AND MEANS

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Адрес 355017, г. Ставрополь, Зоотехнический пер., 12

FSBEI HE «Stavropol State Agrarian University».

Address: 355017, Stavropol, Zootechnicheskyy lane, 12

Кастарнова Елена Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры терапии и фармакологии. E-mail: elena-kastarnova@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2843-2473>

Kastarnova Elena Sergeevna, PhD of Biological Sciences, Research associate of the Department of Therapy and Pharmacology. E-mail: elena-kastarnova@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2843-2473>

Оробец Владимир Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой терапии и фармакологии. E-mail: orobets@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4774-263X>

Orobets Vladimir Aleksandrovich, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Therapy and Pharmacology. E-mail: orobets@yandex.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4774-263X>

Киреев Иван Валентинович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой терапии и фармакологии. E-mail: kireev-iv@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9372-4400>

Kireev Ivan Valentinovich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Therapy and Pharmacology. E-mail: kireev-iv@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9372-4400>

Скрипкин Валентин Сергеевич, доктор биологических наук, профессор, директор института ветеринарии и биотехнологий. E-mail: skripkinvs@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8492-0282>

Skripkin Valentin Sergeevich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Director of the Institute of Veterinary Medicine and Biotechnology. E-mail: skripkinvs@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8492-0282>

Аннотация. Новые лекарственные формы и системы доставки являются одним из наиболее перспективных направлений развития фармацевтической индустрии. Они позволяют решать многие проблемы, связанные с поглощением, распределением и метаболизмом лекарственных веществ в организме человека. Новые технологии и инновационные методы позволяют обеспечивать более эффективную и безопасную терапию, а также уменьшать нагрузку на пациента и снижать стоимость лечения. Разработка и использование инноваций, достижений науки и техники, модернизация в фармацевтической области оказывают существенный эффект на всю экономику. В числе первоочередных задач государства на пути инновационного развития фармотрасли выделяют стимулирование нано- и биотехнологий для решения вопросов «эффективной доставки» в организм животных известных активных веществ. В данной статье рассматриваются особенности новых лекарственных форм и задачи, выдвигаемые при создании новых систем и средств доставки.

Summary. *New dosage forms and delivery systems are one of the most promising areas of development of the pharmaceutical industry. They make it possible to solve many problems related to the absorption, distribution and metabolism of drugs in the human body. New technologies and innovative methods make it possible to provide more effective and safe therapy, as well as reduce the burden on the patient and reduce the cost of treatment. The development and use of innovations, achievements of science and technology, modernization in the pharmaceutical field have a significant effect on the entire economy. Among the priorities of the state on the path of innovative development of the pharmaceutical industry is the stimulation of nano- and biotechnologies to address the issues of “effective delivery” of known active substances to the animal body. This article discusses the features of new dosage forms and the tasks put forward when creating new delivery systems and means.*

Сегодня фармакология переживает свой очередной этап развития, который связан с появлением новых технологий и инновационных методов исследования. Обзору современных транспортных систем лекарственных средств и роли в них лечебных физических факторов посвящена настоящая статья.

Сегодня можно говорить о нескольких направлениях, обеспечивающих различной степени избирательность доставки лекарств к целевой области. Одним из таких направлений является использование антител. Они могут быть направлены на определенные мишени, такие как рецепторы опухолевых клеток, чтобы доставлять

лекарственные вещества с высокой точностью к опухолевым клеткам [1–4]. При этом возможно использование моноклональных антител, которые специфически связываются только с определенным типом клеток, что увеличивает эффективность доставки лекарства.

Другим направлением является использование наночастиц, которые могут быть функционализированы различными биологически активными молекулами, такими как антитела, пептиды, РНК, ДНК и т.д. Это позволяет им ориентироваться внутри организма, и находить путь к месту воспаления, опухоли или инфекции. Также возможна селективная доставка лекарственных веществ в клетки определенных типов, например, внутрь опухолевых клеток [10].

Третьим направлением является использование липосом, которые позволяют увеличить концентрацию лекарственного препарата в нужном органе или ткани. Эти носители обладают высокой биосовместимостью и биоразлагаемостью, что уменьшает неприятные побочные эффекты лекарственных веществ на организм в целом [5–7].

Как показывают многочисленные клинические наблюдения, применение местного введения лекарственных средств эффективнее их системного использования. Локальное введение лекарственных средств имеет свои достоинства, такие как меньшее количество побочных эффектов и более высокая концентрация лекарственных веществ в нужном месте, что увеличивает их эффективность. Однако, в некоторых случаях местное введение не способно достичь достаточной концентрации лекарственных веществ в нужной ткани или органе [8–9].

Местное введение иногда не подходит для лечения распространенных заболеваний, таких как онкологические заболевания, в которых затронуты многие органы и ткани. Также при заболеваниях, связанных с нарушениями функций организма в целом (например, иммунодефиците), системное использование лекарственных веществ может оказаться более эффективным. Необходимо учитывать, что как системное, так и местное введение лекарственных средств могут сопровождаться побочными эффектами, и с одной стороны, необходимо достичь нужной концентрации препарата для эффективности лечения, а с другой – минимизировать побочные эффекты.

Таким образом, необходимо индивидуально подходить к выбору методов доставки лекарственных средств в зависимости от конкретного заболевания и состояния пациента. Врач должен принимать во внимание все факторы, включая

побочные эффекты, доступность новых технологий, состояние организма пациента и т. д.

Для направленного транспорта лекарств пытаются использовать конъюгацию с молекулами (векторами), обладающими тропностью к определенным тканям, клеткам или субклеточным структурам. В рамках этого подхода лекарственные препараты связывают с молекулами-векторами, такими как антитела, белки, пептиды, нуклеиновые кислоты и другие, которые способны направленно доставлять лекарственные вещества к определенным клеткам или тканям организма. Молекулы-векторы обладают способностью связываться с клетками и тканями благодаря специальным «адресным меткам» на их поверхности, которые соответствуют определенным рецепторам на клеточной мембране. Такой подход позволяет доставлять лекарственные препараты точно в те клетки или ткани, где они нужны для лечения заболевания, и уменьшить побочные эффекты лекарств. Данный подход также подходит для лечения различных заболеваний, таких как рак, инфекции, болезни сердца и др. Отметим, что этот подход еще находится в стадии исследований и разработок, и не все молекулы-векторы могут быть эффективными и безопасными для использования в клинической практике. Также этот подход может быть дорогим в производстве и может быть недоступен для большинства пациентов [9–12].

Из многих способов направленного транспорта лекарственных средств наиболее реальным на данный момент представляется использование в качестве транспортного средства форменных элементов крови. Использование форменных элементов крови как транспортного средства для доставки лекарственных веществ к определенным клеткам и тканям – один из перспективных подходов в современной медицине. В частности, эритроциты и тромбоциты широко исследуются как возможные «носители» лекарственных веществ, так как они обладают рядом преимуществ перед другими возможными транспортными средствами. Эти клетки могут быть модифицированы специальными технологиями, которые позволяют интегрировать лекарственные вещества в их структуру, сохраняя тем самым их жизнеспособность и способность к циркуляции в сосудах. Одним из преимуществ этого подхода является то, что форменные элементы крови могут потенциально доставлять лекарственные вещества в те части тела, где они особенно нужны, например, в раковую опухоль. Это позволит уменьшить количество используемых лекарств, что может снизить вероятность появления побочных эффектов.

Однако использование форменных элементов крови в качестве транспортных средств для доставки лекарственных веществ все еще находится в стадии исследований и разработок и требует дополнительных исследований для определения эффективности и безопасности этого подхода.

С позиции экстракорпоральной фармакотерапии предпочтение отдается использованию в адресном транспорте лекарств эритроцитов – наиболее многочисленных клеток крови с рядом значимых морфологических, физико-химических и физиологических характеристик. Эритроциты являются наиболее многочисленными клетками крови, способными обеспечивать продолжительную циркуляцию в крови, что обеспечивает длительное действие лекарственных веществ. Кроме того, эритроциты имеют уникальный механизм переноса кислорода в организме, что может быть использовано для доставки лекарственных веществ в ткани и органы с повышенной потребностью в кислороде. Эритроциты также имеют высокую устойчивость к внешнему воздействию и хранятся в стандартных условиях долго. Кроме того, процесс интеграции лекарственных веществ в эритроциты достаточно простой и дешевый по сравнению с другими транспортными системами. Следует отметить, что применение эритроцитов в качестве носителей лекарственных веществ имеет также определенные ограничения и проблемы, такие как ограниченный объем доступного для интеграции лекарства внутри клетки и возможные иммунные реакции на интегрированные в клетку лекарственные вещества. Тем не менее, в целом использование эритроцитов в качестве носителей лекарственных веществ является одним из перспективных направлений в разработке новых транспортных систем в медицине [1].

Для загрузки лекарственных препаратов в эритроциты могут использоваться физические факторы, а также химические агенты, являющиеся индукторами эндцитоза. К физическим методам относятся электропорация, микроинъекция и оптическая пинцетная манипуляция. Эти методы могут привести к повреждению клеточной мембраны и ухудшению качества эритроцитов. К химическим методам относятся использование полиэтиленгликоля (PEG), липосом, катионных лигандов и других химических агентов, которые способствуют интеграции лекарственных препаратов в мембрану эритроцитов. Кроме того, существует также метод генной инженерии, при котором ген, кодирующий рецептор для лекарственного вещества, вводится в геном эритроцитов, позволяя им специфически связываться

с лекарственным веществом. В целом выбор метода включения лекарственных препаратов в эритроциты зависит от их химического и физического свойств, целей терапии и требований к транспортной системе.

Использование тромбоцитов в качестве носителей лекарственных веществ также имеет ряд преимуществ. Тромбоциты, или кровяные пластинки, играют важную роль в гемостазе и обладают способностью интегрировать и активироваться на поврежденных сосудистых стенках. Использование тромбоцитов для доставки лекарственных веществ позволяет достичь локализованной и длительной доставки препарата в место повреждения сосудистой стенки. Кроме того, тромбоциты имеют высокую устойчивость к кровеносным потокам и могут циркулировать в крови на протяжении нескольких дней, обеспечивая постепенное высвобождение лекарственных веществ.

Применение тромбоцитов в качестве носителей также позволяет уменьшить дозу лекарственного вещества, необходимую для достижения терапевтического эффекта, что снижает риск побочных эффектов. Тем не менее, использование тромбоцитов в качестве носителей лекарственных веществ также имеет свои ограничения и риски, такие как возможное развитие тромбозов и высокая вероятность иммунных реакций на интегрированные в пластинки лекарственные вещества. Поэтому необходимо проводить дополнительные исследования в этой области для определения эффективности и безопасности использования тромбоцитов в качестве носителей лекарственных веществ в клинической практике.

Отметим, что вирусные частицы показали свой потенциал как носители лекарственных веществ в медицине и ветеринарии, особенно в генной терапии. Они являются идеальными кандидатами для транспортировки генетического материала внутри клеток, так как имеют высокую способность к инфильтрации в клетку и капсиды могут оберегать ген от разрушения специфическими ферментами. Кроме того, вирусные частицы могут специфически распознавать и связываться с конкретными поверхностными рецепторами на клеточной мембране, что улучшает их способность к доставке лекарственных веществ в целевые ткани. Использование вирусных частиц также имеет свои риски, такие как возможность интеграции генетического материала в хромосомы гостевой клетки, что может привести к неожиданным раковым заболеваниям и вторичным мутациям. Поэтому необходимы дополнительные исследования и тщательная оцен-

ка безопасности применения вирусных частиц как носителей для лекарственных веществ в клинической практике.

Использование наночастиц на основе вирусов (ВНЧ) имеет ряд существенных преимуществ по сравнению с другими транспортными носителями:

1. Увеличение эффективности доставки лекарственных веществ. Основываясь на механизмах инфицирования, вирусные капсиды ВНЧ могут концентрироваться в пределах определенной области, что улучшает доставку лекарственного препарата в нужную точку.

2. Высокая целевая специфичность. Поскольку вирусы имеют специфические структуры или другие рецепторы на своей поверхности, они могут связываться только с определенными типами клеток и тканей, что позволяет доставлять лекарственные вещества непосредственно в целевые клетки.

3. Снижение токсичности. ВНЧ способны уменьшить дозу лекарств, которые требуются для достижения терапевтического эффекта. Это означает, что ВНЧ могут снизить токсическое воздействие лекарственных средств на нормальные клетки и ткани.

4. Оптимизация управления магнитным полем, чтобы добиться контролируемой доставки препаратов.

5. Снижение вероятности интеграции с геномом. Хотя ВНЧ могут содержать генетический материал, вероятность интеграции в геном клетки ниже, чем в случае использования живых вирусов.

6. Возможность повторного использования. Поскольку вирусы могут быть реплицированы и произведены в больших количествах, ВНЧ могут быть повторно использованы в качестве транспортного носителя.

Использование искусственных наноструктур для адресной доставки лекарств имеет ряд преимуществ перед традиционными методами лечения. Во-первых, такие методы позволяют доставить лекарственное вещество к месту действия с максимальной точностью, что уменьшает количество побочных эффектов на организм. Во-вторых, наночастицы обладают уникальными свойствами, такими как большая поверхность и способность функционализироваться, что позволяет увеличивать количество препарата, который может быть доставлен на место действия, и улучшать его фармакологические свойства. Например, липосомы являются одним из наиболее изученных и использованных видов искусственных наноструктур для доставки лекарственных веществ. Они состоят из двух слоев липидов,

которые могут содержать в себе лекарственные вещества. Благодаря своей структуре липосомы обладают уникальной способностью доставлять лекарственные вещества только в те места, где это необходимо, минуя другие органы и ткани. С помощью липосомной технологии доставки лекарственных препаратов удалось улучшить эффективность лечения рака, инфекционных заболеваний, а также заболеваний нервной системы [7]. Другой пример – микросферы, которые используются для контролируемого высвобождения лекарственных веществ в течение длительного времени [4].

Микросферы состоят из полимеров и содержат в себе лекарственные вещества. Пористая структура материала обеспечивает постепенное высвобождение лекарственных веществ, что позволяет значительно увеличить длительность действия препарата (8). Использование искусственных наноструктур для доставки лекарственных веществ представляет широкие возможности для профилактики и лечения различных заболеваний. Для достижения стелс-эффекта на поверхность наночастиц наносят слой поверхностно-активных веществ, таких как полиэтиленгликоль (PEG). Это позволяет создать защитный слой вокруг наночастицы, который снижает ее узнаваемость макрофагами и белками крови, что увеличивает время ее нахождения в кровотоке. Без стерической стабилизации некоторые наночастицы быстро кладутся в определенные органы, что может вызвать токсические эффекты.

Стелс-технология поверхностной модификации наночастиц может быть применена к различным типам наночастиц, таким как липосомы, микросферы, полимерные наночастицы и др. Она не только увеличивает время нахождения препарата в кровотоке, но также снижает риск побочных эффектов и улучшает терапевтический эффект. Использование стелс-технологии может вызвать ряд нежелательных эффектов на организм. Например, снижение узнаваемости наночастиц макрофагами может привести к нарушению иммунологического ответа и увеличению риска инфекционных заболеваний. Кроме того, накопление недостаточно опознанных наночастиц в тканях организма может привести к развитию аллергических реакций и других побочных эффектов.

Может отметить, что использование стелс-технологии для поверхностной модификации наночастиц имеет свои преимущества и недостатки, и подбор оптимального метода зависит от конкретной ситуации и типа используемой наночастицы.

Активный транспорт лекарств осуществляется за счет взаимодействия наночастицы с определенными мишенями на клеточной или тканевой поверхности. Для этого на поверхность наночастиц наносят соединения, специфически связывающиеся с мишенями, например, антитела или пептиды. Эти соединения могут быть направлены против определенных типов клеток, таких как опухолевые клетки, либо против конкретных белков, которые участвуют в патологических процессах. Такой подход к доставке лекарств имеет несколько преимуществ по сравнению с пассивной доставкой. Во-первых, он позволяет доставлять лекарство конкретно в мишень, что повышает его эффективность и снижает побочные эффекты. Во-вторых, активный транспорт может быть направлен против определенных типов клеток, что особенно важно при лечении онкологических заболеваний, где желателен снижать токсичность для здоровых тканей.

Активный транспорт также имеет свои ограничения. Он требует точного подбора соединений, способных связываться с мишенью, и оптимизации методов их нанесения на поверхность наночастицы. Кроме того, наночастицы, нанесенные на поверхности клеток, могут вызывать иммунный ответ, что может приводить к развитию воспалительных реакций и других побочных эффектов. Активный транспорт лекарств с помощью полимерных наночастиц является многообещающей технологией, но требует более глубокого исследования для оптимизации методов доставки и минимизации побочных эффектов [13].

Для целевой доставки лекарств, биологически активных соединений и контрастирующих веществ используют и другие типы наночастиц:

а) мицеллы, представляющие собой амфифильные коллоидные структуры, образующиеся в водных растворах спонтанно из мономеров и заданных молекул лекарственного вещества при определенных условиях; используются в качестве носителей некоторых лекарств и контрастирующих агентов для визуализации;

б) дендримеры, в особенности фуллереновые дендримеры, являющиеся полимерами, обладающими четко упорядоченной симметричной деревообразной структурой, представляющей собой регулярные ветвления, исходящие из центрального ядра; предложено их использование в качестве носителей молекул ДНК, антивирусных соединений, вакцин и противоопухолевых препаратов;

в) аквасомы, которые представляют собой наночастицы, центральная часть которых пред-

ставлена неорганическим керамическим ядром, покрытым снаружи оболочкой, состоящей из сахаров либо других полигидроксильных олигомеров, создающих квазиводную среду; их применяют для доставки веществ белковой природы и вакцин;

г) наночастицы на основе неорганических веществ и металлов, прежде всего оксидов железа, золота, серебра и др.;

Отдельно в нашей статье стоит упомянуть МНТ. Ключевой особенностью МНТ является их модульная структура. Она позволяет комбинировать различные функциональные модули в единую молекулу в зависимости от требуемой мишени и задачи доставки. Кроме того, модульная структура обеспечивает возможность контролировать степень доступа лекарственного средства к мишени, что позволяет снизить токсичность и повысить эффективность терапии. Модульные нанотранспортеры могут использоваться для доставки лекарственных средств напрямую внутрь клетки, что дает возможность обойти барьеры, создаваемые мембранными транспортными системами клетки и доставить лекарство туда, где его действие будет наиболее эффективным. Кроме того, МНТ могут использоваться для доставки генетических материалов, например, при генной терапии. По состоянию на 2023 год МНТ находятся на стадии исследований и до внедрения в практику многое нужно уточнить, включая их безопасность и эффективность. Тем не менее, модульные нанотранспортеры представляют потенциально перспективную технологию для доставки лекарственных средств напрямую в клетку [14].

Одним из примеров использования лечебных физических факторов является магнитно-направленная доставка лекарственных средств. Для этого на поверхности наночастиц наносятся магнитные материалы, которые позволяют направлять наночастицы к месту назначения под действием внешнего магнитного поля. Этот метод доставки может быть использован для доставки лекарственных средств в определенные органы и ткани, например, для доставки лекарств к опухолевым клеткам или воспаленным тканям. Еще одним примером является фотодинамическая терапия. Она основана на использовании светочувствительных веществ, которые наносятся на поверхность опухолевых клеток. Под действием света эти вещества активируются и вызывают гибель опухолевых клеток. Этот метод может быть эффективным при лечении ряда злокачественных опухолей. Доставку лекарств можно осуществлять с помощью электрических

и ультразвуковых полей. Эти методы основаны на том, что воздействие электрических или ультразвуковых полей на определенные клеточные мембраны открывает каналы, через которые можно доставить лекарство внутрь клетки или увеличить проницаемость капилляров.

Таким образом, лечебные физические факторы могут быть использованы для целевой доставки лекарственных средств в определенные органы и ткани, а также для улучшения и оптимизации традиционных методов доставки лекарств. Однако их применение требует дальнейших исследований и оптимизации.

На сегодняшний день доставка фотосенсибилизаторов с помощью наночастиц является одним из актуальных направлений развития фотодинамической терапии. Наночастицы, нанесенные на поверхность опухолевых клеток, могут улучшить поглощение фотосенсибилизатора, а также увеличить длительность его действия в опухоли. Это позволяет достигать эффективной терапевтической концентрации фотосенсибилизатора при низкой интенсивности лазерного излучения. Кроме того, наночастицы могут быть функционализированы таким образом, чтобы обеспечить выборочную доставку фотосенсибилизатора только в опухоль, минимизируя токсический эффект на здоровые ткани. Применение наночастиц для доставки фотосенсибилизаторов также имеет свои проблемы и ограничения. Необходимым условием эффективной доставки является выбор размера, формы и поверхностной функционализации наночастиц, которые должны быть оптимизированы под каждый конкретный тип опухоли и фотосенсибилизатора. Возможны токсические эффекты наночастиц, которые также должны быть учтены при разработке новых методов доставки. Фуллерены являются перспективными материалами для использования в фотодинамической терапии. Эти наночастицы обладают высокой фотохимической активностью и способностью генерировать синглетный кислород, который является основной причиной разрушения опухолевых клеток при фотодинамической терапии. Кроме того, фуллерены хорошо переносятся организмом и не обладают токсичностью в дозах, необходимых для достижения терапевтического эффекта. Применение фуллеренов в фотодинамической терапии также связано с рядом проблем и ограничений. В частности, необходима оптимизация размера, формы и поверхностной функционализации фуллеренов для обеспечения их эффективной доставки в опухоль и минимизации токсичности для здоровых тканей.

Использование физических факторов может помочь увеличить поступление наночастиц с лекарствами в ткани, которые имеют слабую проницаемость для частиц большого размера, или преодолеть гистогематические барьеры и доставить лекарство в органы или ткани, которые находятся на значительном расстоянии от пункта введения. Ультразвук, например, может использоваться для доставки наночастиц в опухоли. При воздействии ультразвуком на опухоль воздействует дополнительная энергия, что может способствовать проникновению наночастиц в опухоль. Лазерное излучение, в свою очередь, может использоваться для доставки наночастиц в сосудистую систему, например, для доставки лекарств в мозг. Инфракрасные лучи также могут быть использованы для преодоления гистогематических барьеров и доставки лекарств в ткани, находящиеся на значительном расстоянии от пункта введения [15].

В последние годы развитие наук о наноматериалах и биологии все больше дает возможность использовать физические факторы в качестве подхода для доставки лекарственных веществ. Такие методы уже применяются в различных странах мира. Это позволяет достигать большей эффективности лечения, при этом снижая побочные эффекты и риски возникновения нежелательных реакций в организме пациента.

Направленная доставка лекарственных веществ с помощью физических факторов значительно улучшает возможности нанотехнологий и позволяет более точно определять место концентрации лекарства, что в свою очередь приводит к более эффективному лечению пациентов. Кроме того, такой подход может снижать общую дозу лекарственных веществ, которые попадают в организм, уменьшая тем самым вероятность возникновения нежелательных побочных эффектов [14].

Подводя итоги нашей обзорной статьи, стоит сказать, что активные исследования в области нанотехнологий и биомедицины в последнее десятилетие позволили разработать множество различных подходов к адресной доставке лекарственных веществ. Эти методы могут варьироваться от простых увеличенных форм до химической модификации, заключения в капсулы и оболочки, а также доставки с помощью физических факторов. Местное введение препаратов – это один из наиболее простых и популярных способов доставки лекарственных средств, особенно для того, чтобы повысить эффективность лечения лечащим врачом. Однако у многих лекарственных средств есть ограничения в исполь-

зовании при внутреннем введении в больших дозах, а также в случаях, когда требуется длительное фармакологическое воздействие. Химическая модификация лекарственных веществ и их заключение в капсулы и оболочки – это другой подход к доставке лекарственных средств. При этом целью является увеличение устойчивости кислотности и щелочности в крови, а также изменение скорости распада и усвоения лекарственных веществ в организме.

В общем, эти методы являются эффективными в доставке лекарственных веществ, однако требуют более точного контроля и оптимизации при их использовании в медицине. Все это делает возможным создание сверхточных и эффективных систем доставки лекарственных веществ, которые в конечном итоге приведут к улучшению качества жизни пациентов и снижению затрат на лечение.

Ряд транспортных систем может использоваться для доставки лекарственных веществ в нужную точку организма с помощью физических факторов, таких как магнитные поля, свет, ультразвук и другие. Например, магнитные наночастицы могут использоваться для доставки лекарственных веществ в конкретные участки организма с помощью магнитного поля, контролируемого извне. При этом можно точно регулировать скорость и направление перемещения частиц, что обеспечивает высокую точность и эффективность транспорта. Светочувствительные наночастицы могут быть использованы для доставки лекарственных веществ с помощью света, что позволяет достичь адресной доставки лекарственных веществ с минимальным воздействием на здоровые клетки. Ультразвуковые волны также могут использоваться для доставки лекарственных веществ с помощью наночастиц. Ультразвуковая волна вызывает сжатие и расширение наночастиц, что приводит к тому, что лекарственные вещества высвобождаются и направляются в нужные участки организма.

Проведение дальнейших исследований с использованием различных специалистов, включая физиотерапевтов, является важным условием для развития и улучшения транспортных систем лекарств. Наиболее перспективным направлением исследований является разработка инновационных методов доставки лекарств с использованием новых технологий и материалов. Важно также учитывать не только эффективность доставки, но и безопасность, стойкость и устойчивость транспортных систем в организме.

Исследования выполнены в рамках программы поддержки развития научных коллективов

Ставропольского государственного аграрного университета, реализуемой при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства «Приоритет – 2030».

Список литературы

1. Зайцева Е. А. Технология «Nanozyme» в московском университете. Достижения и перспективы развития / Е. А. Зайцева, Ю. И. Головин, О. А. Кост и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2016. Т. 57. № 4. С. 211–226.
2. Каширина Е. И. Разработка системы гипоаллергенной упаковки белков в полимерный матрикс : дис. ... канд. хим. наук / Е. И. Каширина, 2017.
3. Кулакова И. И. Направленный транспорт лекарственных средств: от идеи до внедрения: учебно-методическое пособие / И. И. Кулакова и др.; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Рязань: ОТС и ОП, 2018. 104 с.
4. Самуйленко А. Я. Биологически активные вещества (хитозан и его производные) / А. Я. Самуйленко, С. А. Гринь, А. И. Албулов и др. 2018. 329 с.
5. Bamrungsap Z. Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system / Z. Bamrungsap, T. Zhao, L. Chen et al. // Nanomedicine, 7 (2012). P. 1253–1271.
6. Fan B. A smart upconversion-based mesoporous silica nanotheranostic system for synergetic chemo-/radio-/photodynamic therapy and simultaneous / B. Fan, W. Shen, F. Bu et al. // MR/UCL imaging Biomaterials. 35 (2014). P. 8992–9002.
7. Fraile Á. Production of new hybrid systems for drug delivery by PGSS (particles from gas saturated solutions) process / Á. Fraile, D. Martín, S. Deodato et al. // J. Supercrit. Fluids. 81 (2013). P. 226–235.
8. Grobmyer S. R. Polymeric nanoparticles for drug delivery / S. R. Grobmyer, B. M. Moudgil, J. Chan et al. // Cancer Nanotechnol. 224 (2010). P. 163–175.
9. Kayal S. Doxorubicin loaded PVA coated iron oxide nanoparticles for targeted drug delivery / S. Kayal, R. V. Ramanujan // Mater. Sci. Eng. C. 30 (2010). P. 484–490.
10. Khan I. A. Fractal structures of single-walled carbon nanotubes in biologically relevant conditions: role of chirality vs. media conditions / I. A. Khan, N. Aich, A. N. Afrooz et al. // Chemosphere. 93 (2013). P. 1997–2003.
11. Patil U. S. Cleavable ester-linked magnetic nanoparticles for labeling of solvent-exposed primary amine groups of peptides/proteins / U. S. Patil, L. Osorno, A. Ellender et al. // Anal. Biochem. 484 (2015). P. 18–20.
12. Pattni B. S. New developments in liposomal drug delivery / B. S. Pattni, V. V. Chupin, V. P. Torchilin // Chem. Rev. 115 (19) (2015). P. 10938–10966.
13. Pool H. Polymeric nanoparticles as oral delivery systems for encapsulation and release of polyphenolic compounds: impact on quercetin antioxidant activity & bioaccessibility Food / H. Pool, D. Quintanar, J. Figueroa et al. // Biophys. 7 (2012). P. 276–288.
14. Wu T. Chitosan-based composite hydrogels for biomedical applications / T. Wu, Y. Li, D. S. Lee // Macromolecular Research. 2017. V. 25. № 6. P. 480–488.
15. Yang G. Mesoporous silica nanorods intrinsically doped with photosensitizers as a multifunctional drug carrier for combination therapy of cancer / G. Yang, H. Gong, X. Qian et al. // Nano Res. 8 (2015). P. 751–764.
16. Yang S. Diffuse reflectance spectroscopic analysis of iron-oxide minerals in dust aerosol from Golmud / S. Yang, Y. Sheng, Y. Han et al. // J. Lanzhou Univ. Nat. Sci. 50 (2014). P. 710–715.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-76-80

УДК: 619:615.038:636.087.72

Ключевые слова: лабораторные животные (белые мыши), острая токсичность, хроническая токсичность, профилактический препарат

Key words: laboratory animals (white mice), acute toxicity, chronic toxicity, prophylactic drug

Кручинкина Т. В.

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *ASSESSMENT OF THE TOXIC PROPERTIES OF A PREVENTIVE DRUG FOR NORMALIZATION OF MINERAL METABOLISM IN CATTLE*

Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт

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

Far East Zone Research Veterinary Institute

Address: 675005, Russia, Blagoveshchensk, Severnaya str., 112

Кручинкина Татьяна Викторовна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник,
e-mail dalznivlabbiohim@mail.ru

Kruchinkina Tatyana Viktorovna, PhD of Veterinary Sciences, Leading Researcher, e-mail dalznivlabbiohim@mail.ru

Аннотация. В Амурской области патология обмена веществ у крупного рогатого скота регистрируется во всех районах и имеет массовый характер, так как относится к неблагоприятным биогеохимическим зонам, в которых большой дефицит всех нормируемых макро- и микроэлементов. Нарушения обменных процессов проявляются гипопротемией, гипогликемией, гипокальциемией, нарушением соотношения кальция и фосфора. Нами был разработан профилактический препарат для нормализации минерального обмена у крупного рогатого скота на основе природных цеолитов Вангинского месторождения. Обязательным этапом доклинического исследования нового препарата является изучение его токсикологических свойств. Острую и хроническую токсичность определяли на белых мышах. При изучении острой токсичности профилактического препарата признаки острой интоксикации у мышей отсутствовали. Определить среднелетальную дозу (LD_{50}) не удалось. При изучении хронической токсичности установили, что включение в рацион белых мышей профилактического препарата в дозах 1,0 г/кг и 2,0 г/кг массы в течение 2-х месяцев не выявило признаков хронической интоксикации, о чем свидетельствует увеличение прироста живой массы у мышей опытных групп в 3,4 и 1,6 раза по сравнению с контролем и 100 %-ная сохранность мышей во всех группах, что подтверждает его безвредность. Исходя из полученных результатов, подтверждено, что профилактический препарат для нормализации минерального обмена крупного рогатого скота относится к IV классу токсичности – «вещества малоопасные».

Summary. *In the Amur Region, the pathology of metabolism in cattle is registered in all areas and has a massive character, since it refers to unfavorable biogeochemical zones in which there is a large shortage of all normalized macro- and microelements. Metabolic disorders are manifested by hypoproteinemia, hypoglycemia, hypocalcemia, violation of the ratio of calcium and phosphorus. We have developed a preventive drug for normalization of mineral metabolism in cattle based on natural zeolites of the Wanginsky deposit. A mandatory stage of preclinical research of a new drug is the study of its toxicological properties. Acute and chronic toxicity was determined on white mice. When studying chronic toxicity, it was found that the inclusion of a prophylactic drug in the diet of white mice in doses of 1.0 g/kg and 2.0 g/kg of weight for 2 months did not reveal signs of chronic intoxication, as evidenced by an increase in live weight gain in mice of the experimental groups by 3.4 and 1.6 times compared with the control and 100 % safety of mice in all groups, which confirms its harmlessness. Based on the results obtained, it was confirmed that the prophylactic drug for normalization of mineral metabolism of cattle belongs to the IV class of toxicity – “low-risk substances”.*

Введение

Основой существования живых организмов является обмен веществ, представляющий собой непрерывный и очень сложный процесс многочисленных взаимосвязанных преобразований химических соединений.

Минеральные вещества играют важную роль в построении структурных частей и тканей организма животных, входят в состав органических веществ, поддерживают защитные функции организма [2, 3, 6].

Вследствие нарушения минерального обмена происходит снижение интенсивности развития и набора массы тела у растущего молодняка, снижение продуктивных показателей у молочных коров, ухудшается качество продукции, показатели воспроизводства и, в конечном итоге, увеличиваются затраты кормов и средств на продукцию [1, 5].

В Амурской области под действием эндемического фактора патология обмена веществ у крупного рогатого скота занимает одно из ли-

дирующих мест в списке болезней незаразной этиологии.

Нами установлено, что в Амурской области патология обмена веществ у крупного рогатого скота регистрируется во всех районах и имеет массовый характер, так как регион относится к неблагоприятным биогеохимическим зонам, в которых большой дефицит всех нормируемых макро- и микроэлементов. Нарушения обменных процессов проявляются гипопроотеинемией у 35 % животных, гипогликемией у 54 %, гипокальциемией у 87,3 % обследованных животных, нарушением соотношения кальция и фосфора [4]. Нарушение обмена этих макроэлементов сопровождается серьезными изменениями в здоровье животных, поэтому нами был разработан профилактический препарат для нормализации минерального обмена у крупного рогатого скота на основе природных цеолитов Вангинского месторождения.

Обязательным этапом доклинического исследования нового препарата является изучение его токсикологических свойств.

Таким образом, целью исследования являлось определение острой и хронической токсичности препарата для профилактики нарушений минерального обмена крупного рогатого скота на лабораторных животных (белых мышах).

Материалы и методы исследований

Исследования проводились в отделе животноводства и птицеводства, виварии ФГБНУ ДальЗНИВИ.

Для изучения острой токсичности профилактического препарата были сформированы две группы белых мышей массой 24–25 г по 11 голов в каждой. Мышам опытной группы скормливали профилактический препарат с хлебным мякишем. Начальная доза препарата составляла 1,0 г/кг массы, которая через два дня составила 2,0 г/кг, затем 4,0 г/кг, в дальнейшем дозу препарата увеличивали в два раза, таким образом, должны были определить среднелетальную дозу LD_{50} . Хроническую токсичность препарата изучали на мышах массой 23–24 г при однократном введении в течение 60 дней с кормом в дозах 1,0 г/кг и 2,0 г/кг массы. В опыте было три группы мышей (две опытных и одна контрольная) по 11 голов в каждой.

За всеми животными вели наблюдение, при этом учитывали общее состояние, поведенческие реакции, потребление корма, воды, состояние волосяного покрова, слизистых оболочек, изменение массы тела. До начала опыта и по завершении опыта проводили гематологические

и биохимические исследования крови. В крови определяли количество лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина. В сыворотке крови при помощи диагностических наборов ВИТАЛ на биохимических анализаторах StatFax 3300 и StatFax 1904-R были определены мочевины, глюкоза, холестерин, аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспартатаминотрансфераза (АсАТ), общий кальций, неорганический фосфор, общий магний. Ионизированный кальций определяли расчетным методом по Й. Тодорову. Количество общего белка устанавливали рефрактометрически с использованием рефрактометра РЛ-2. По завершении эксперимента отдельных животных подвергали эвтаназии с помощью эфира диэтилового, проводили диагностическое вскрытие с целью макроскопического исследования внутренних органов.

Математически при помощи программы Microsoft Excel обрабатывали экспериментальные данные, вычисляли среднюю арифметическую (M) и их ошибку (m).

Результаты исследований

Скармливание мышам профилактического препарата в начальной дозе 1,0 г/кг массы не оказало влияние на общее состояние животных. Мыши полностью съедали корм, были подвижны, активно проявляли реакцию на окружающих. В дозе 64,0 г/кг мыши съели 46,5 % препарата. Признаков интоксикации у животных не установлено – животные были подвижны, активно реагировали на внешние раздражители. До начала и после окончания опыта у животных опытной и контрольной групп определяли массу, и по завершении опыта была взята кровь для морфологических и биохимических исследований.

Признаки острой интоксикации у мышей отсутствовали, о чем свидетельствуют гематологические и биохимические показатели крови мышей опытной и контрольной групп (табл. 1). Определить среднелетальную дозу (LD_{50}) не представилось возможным, так гибель мышей от приема препарата в максимальной дозе 32,0 г/кг массы отсутствовала.

Скармливание профилактического препарата способствовало приросту живой массы мышей опытной группы в 2,9 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, введение в рацион белых мышей профилактического препарата на основе природных цеолитов не оказало отрицательного влияния на биохимические и гематологические показатели животных, способствовало увеличению среднесуточного прироста живой

Таблица 1

Гематологические и биохимические показатели крови мышей при включении в рацион профилактического препарата

Показатели		До начала опыта (n=6)	Контроль (n=11)	Опыт (n=11)
Эритроциты, 10 ¹² /л		4,12±0,198	4,25±0,090	4,78±0,245
Лейкоциты, 10 ⁹ /л		5,83±0,912	4,00±0,138	4,02±0,324
Гемоглобин, г/л		111,79±4,035	106,52±3,063	108,23±2,973
Общий белок, г/л		62,18±1,470	63,95±1,032	64,33±0,644
Мочевина, мМ/л		6,75±0,156	9,76±1,063	8,81±0,302***
Холестерин, мМ/л		3,78±0,233	4,03±0,162	4,06±0,251
Глюкоза, мМ/л		1,52±0,094	1,56±0,112	1,69±0,142
Кальций, общ., мМ/л		2,11±0,026	2,11±0,057	2,11±0,023
Фосфор, неорг., мМ/л		1,68±0,122	2,15±0,190	1,81±0,109
Са ⁺⁺ , мМ/л		0,99±0,019	0,97±0,034	0,97±0,012
Магний, мМ/л		0,96±0,007	1,16±0,077	1,00±0,026
АлАТ, Е/л		36,43±1,821	38,56±4,698	47,17±1,248
АсАТ, Е/л		155,77±19,076	160,64±11,243	167,79±10,090
Средняя масса, г.	начало опыта	24,83±1,138	24,00±1,345	25,27±0,469
	завершение опыта		24,57±0,996	26,91±0,706

Примечание: P<0,001***.

Таблица 2

Гематологические и биохимические показатели крови мышей при включении в рацион профилактического препарата в течение 60-ти дней

Показатели	До начала опыта (n=7)	Контроль (n=11)	Опытные группы (n=11)	
			1,0 г/кг	2,0 г/кг
Эритроциты, 10 ¹² /л	5,78±0,392	5,17±0,294	5,97±0,252*	5,09±0,325
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	2,14±0,249	2,20±0,343	5,54±0,482***	5,00±0,486***
Гемоглобин, г/л	132,10±5,815	125,44±4,264	124,07±5,229	118,52±4,336
Общий белок, г/л	61,30±0,598	65,86±1,744	65,45±0,986	62,43±0,906
Мочевина, мМ/л	6,38±0,218	11,07±1,148	6,49±0,296**	6,82±0,43**
Холестерин, мМ/л	1,63±0,0,102	1,61±0,130	1,61±0,088	1,37±0,068
Глюкоза, мМ/л	1,57±0,111	1,67±0,121	1,75±0,111	1,83±0,176
Кальций, общ., мМ/л	2,24±0,051	2,21±0,083	2,32±0,570**	2,11±0,040
Фосфор, неорг., мМ/л	2,00±0,243	2,26±0,228	2,89±0,108	1,82±0,170
Са ⁺⁺ , мМ/л	1,07±0,024	1,01±0,043	1,07±0,029	0,99±0,016
Магний, мМ/л	1,00±0,045	1,24±0,091	1,15±0,027	1,09±0,059
Калий, мМ/л	5,50±0,153	7,24±0,171	7,10±0,212	6,62±0,237
Триглицериды, мМ/л	0,68±0,017	0,76±0,046	0,65±0,035	0,55±0,033
АлАТ, Е/л	28,32±2,246	42,67±5,726	37,31±2,836	45,40±3,409
АсАТ, Е/л	121,64±10,164	171,96±12,462	141,05±6,164	157,32±10,902
Средняя масса, г.	начало опыта	24,00±1,345	23,45±1,073	24,27±1,113
	завершение опыта		24,73±0,727	28,64±1,072

Примечание: P<0,05*; P<0,01**; P<0,001***.

массы мышей, что подтверждает его безвредность.

Включение в рацион белых мышей профилактического препарата в дозах 1,0 и 2,0 г/кг массы в течение 60 дней не выявило признаков хронической токсичности. В течение всего опыта мыши были подвижны, активно реагировали на окружающих, полностью поедали корм, слизистые оболочки ротовой полости были розовые, шерстяной покров гладкий, блестящий.

Подтверждением отсутствия хронической интоксикации препарата свидетельствовали гематологические и биохимические показатели крови опытных и контрольных мышей.

Динамика гематологических и биохимических показателей крови у мышей в зависимости от дозы препарата представлена в табл. 2. Как видно из результатов исследований, у мышей первой и второй опытных групп отмечали достоверное ($P < 0,001$) увеличение лейкоцитов в 2,5 и 2,2 раза в сравнении с контрольной группой. Количество эритроцитов на протяжении опыта было на одном уровне, однако в первой опытной группе отмечалась достоверное ($P < 0,05$) увеличение в сравнении со второй опытной группой в 1,2 раза.

С начала опыта отмечалось недостоверное снижение количества гемоглобина в крови мышей всех групп, но при этом показатель оставался в пределах физиологической нормы.

У мышей всех групп в сыворотке крови отмечали увеличение общего белка по сравнению с исходным состоянием. Уровень мочевины в контрольной группе превышал верхнюю границу физиологической нормы. В первой и второй опытных группах уровень мочевины был ниже в 1,7 и 1,6 раза по сравнению с контролем соответственно и был в пределах нормативных показателей. Концентрация холестерина в сыворотке крови мышей первой опытной и контрольной групп был на одном уровне, во второй опытной группе отмечалось достоверное ($P < 0,05$) снижение на 17,5 % по сравнению с первой группой.

В конце опыта наблюдалось увеличение глюкозы в сыворотке крови мышей всех групп, в первой и второй опытных группах уровень глюкозы был на 4,8 % и 9,6 % выше по сравнению с контролем соответственно.

Содержание кальция, фосфора и магния в сыворотке крови мышей опытных и контрольной групп существенно не отличалось.

В сыворотке крови у мышей всех групп отмечалось увеличение активности АлАТ и АсАТ по сравнению с исходным состоянием, однако при этом их уровень не выходил за пределы нормы.

Скармливание профилактического препарата способствовало приросту живой массы мышей в первой опытной группе на 4,37 г, во второй опытной группе на 2,0 г против 1,28 г в контроле.

В ходе опыта по истечении 60-ти дней лабораторные мыши всех групп были подвергнуты эвтаназии путем декапитации. При патологоанатомическом исследовании внутренних органов животных изменений в их структуре не выявлено. Внутренние органы располагались анатомически правильно, жидкость в плевральной и брюшной полостях отсутствовала. Просвет трахеи и бронхов свободен, ткань легких имела розовый цвет. Слизистая оболочка, выстилающая желудок и кишечник, имела естественную сероватозеленую окраску, без видимых изъязвлений и геморрагий. При патологоанатомическом исследовании выяснено, что использование препарата не вызвало каких-либо дегенеративных, некротических и других патологических изменений в изучаемых образцах контрольной и опытных групп.

Таким образом, профилактический препарат не обладает хронической токсичностью для белых мышей. Дозу препарата 1,0 г/кг можно считать оптимальной, так как биохимические показатели крови мышей, получавших препарат в указанной дозе, и в дозе 2,0 г/кг, не имеют значительных отличий.

Закключение

Включение в рацион белых мышей профилактического препарата в дозах 1,0 г/кг и 2,0 г/кг массы в течение 2-х месяцев не выявило признаков хронической интоксикации, о чем свидетельствует увеличение прироста живой массы у мышей опытных групп в 3,4 и 1,6 раза по сравнению с контролем, и 100 %-ную сохранность мышей во всех группах, что подтверждает его безвредность.

Гематологические и биохимические показатели крови мышей опытных групп оставались на протяжении всего исследования в пределах контрольных значений. Скармливание мышам профилактического препарата не приводило к существенным изменениям в биохимических показателях.

При патологоанатомическом исследовании установлено, что использование препарата не вызвало патологических изменений в контрольной и опытных группах, что говорит об отсутствии негативного действия препарата на организм животных. Профилактический минеральный препарат не обладает острой, хронической токсичностью.

Исходя из полученных результатов, подтверждено, что профилактический препарат для нормализации минерального обмена крупного рогатого скота относится к IV классу токсичности – «вещества малоопасные».

Список литературы

1. Антипов, В. А. Перспективы применения природных алюмосиликатных минералов в ветеринарии / В. А. Антипов, М. П. Семенов, А. С. Фонтанецкий // Ветеринария. 2007. № 8. С. 54–57.
2. Кононский А. И. Биохимия животных [Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений]. 3-е изд., перераб. и доп. / А. И. Кононский М.: Колос. 1992. С. 420–431.
3. Кощаева О. С. Органические микроэлементы — природное решение проблемы минерального питания живот-

ных и птицы / О. С. Кощаева, И. А. Кошаев, Ю. Н. Литвинов // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. 2017. № 3. С. 7–12.

4. Кручинкина Т. В. Степень нарушения минерального обмена у крупного рогатого скота в Амурской области / Т. В. Кручинкина, И. В. Сиянова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2022, № 1 (53). С. 56–60.

5. Семенов М. П. Болезни минеральной недостаточности у сельскохозяйственных животных: лечение и профилактика: методические рекомендации / М. П. Семенов, Е. В. Кузьмина, А. Н. Трошин, А. Х. Шантыз. Краснодар, 2016. 44 с.

6. Чичула С. И. Проблемы минерального питания животных и птицы / С. И. Чичула, О. С. Кощаева // Селекция на современных популяциях отечественного молочного скота как основа импортозамещения животноводческой продукции. 2018. С. 376–381.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-80-84

УДК:636.093

Ключевые слова: зоофильные мухи, *Musca domestica*, *Lucilia caesar*, пушные звери, звероводческое хозяйство, инсектициды

Key words: zoophilic flies, *Musca domestica*, *Lucilia caesar*, fur animals, fur farming, insecticides

Ромашова Е. Б.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ ГРУППЫ BUFF ДЛЯ БОРЬБЫ С ЗООФИЛЬНЫМИ МУХАМИ В УСЛОВИЯХ ЗВЕРОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ *EXPERIENCE OF APPLICATION OF MODERN INSECTICIDES OF THE BUFF GROUP TO COMBAT ZOOPHILIC FLIES IN THE CONDITIONS OF FARM BREEDINGS*

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

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

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

Address: 196084, Russia, St. Petersburg, Chernigovskaya st., 5

Ромашова Елизавета Борисовна, аспирант кафедры паразитологии им. В. Л. Якимова,

e-mail: Elizavettarom@mail.ru

Romashova Elizaveta Borisovna, Postgraduate Student of the Department of Parasitology named after V. L. Yakimov,

e-mail: Elizavettarom@mail.ru

Аннотация. Основным методом содержания пушных зверей в условиях звероводческого хозяйства являются полуоткрытые шеды, что является условием для широкого распространения зоофильных мух. В звероводческом хозяйстве «Савватьево» Тверской области нами выявлены доминирующие среди зоофильных мух виды – *Musca domestica* (сем. *Muscidae*) и *Lucilia caesar* (сем. *Calliphoridae*). Выделено несколько факторов негативного влияния этих насекомых на пушное звероводство: «фактор стресса», «фактор транспозиции», «фактор паразитизма» и «фактор беспокойства». Для борьбы с зоофильными мухами нами впервые для условий звероводческого хозяйства было проведено испытание препаратов группы BuFF («Максимум» и «Ультимейт»). Для эксперимента были выбраны два шед: шед с лисицами и шед с норками. Первый шед был обработан препаратом BuFF «Максимум», второй шед – BuFF «Ультимейт». Распыление препарата проводили с помощью специализированной машины-распылителя MT Vulcano Sprayer 300 L в присутствии животных. Препараты BuFF («Максимум» и «Ультимейт») показали высокую эффективность для борьбы с зоофильными мухами в условиях звероводческого хозяйства. После применения препаратов количество погибших насекомых для BuFF «Максимум» достигало 30–40 экз./м², для BuFF «Ультимейт» – 45–50 экз./м². Также отмечен ярко репеллентный эффект от препаратов, продолжительность которого составляет 10–20 дней. Считаем, что инсектицидные препараты BuFF можно рекомендовать в звероводческую практику с целью борьбы с зоофильными мухами и эффективного снижения их численности.

Summary. Semi-open sheds are the main method of keeping fur-bearing animals in a fur farm, this is a condition for the wide distribution of zoophilous flies. In the fur farm "Savvat'ev" in the Tver region, we identified the dominant species of zoophilous flies – *Musca domestica* (family Muscidae) and *Lucilia caesar* (family Calliphoridae). We identified several factors of the negative impact of these insects on fur farming: "stress factor", "transposition factor", "parasitism factor" and "disturbance factor". We tested drugs from the BuFF group ("Maximum" and "Ultimate") to control zoophilous flies in a fur farm. Two shads were chosen for the experiment: a shad with foxes and a shad with minks. The first shed was treated with BuFF "Maximum", the second shed was treated with BuFF "Ultimate". We sprayed the drug using a specialized spray machine MT Vulcano Sprayer 300 L in the presence of animals. Preparations BuFF ("Maximum" and "Ultimate") have shown high efficiency in the fight against zoophilous flies in fur farms. The number of dead insects reached: for BuFF "Maximum" 30–40 ind./m², for BuFF "Ultimate" – 45–50 ind./m². We also noted the repellent effect of drugs, the repellent effect is 10–20 days. We believe that BuFF insecticidal preparations can be recommended for fur farming practice in order to control bestial flies and effectively reduce their numbers.

Благодарности. Мы признательны за методическую помощь в организации эксперимента Ю. Е. Кузнецову, доктору ветеринарных наук, доценту кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова СПбГУВМ. Мы признательны за методическую помощь в определении мух В. М. Емцу, энтомологу, доктору биологических наук, главному научному сотруднику.

Введение

При содержании пушных зверей в звероводческих хозяйствах в полуоткрытых помещениях (шедах), как правило, возникают благоприятные условия для развития отдельных групп насекомых, прежде всего зоофильных мух. В шедях в теплые сезоны года мухи активно размножаются, создавая несколько генераций, и формируют высокую численность. На этом фоне зоофильные мухи проявляют себя как интегрированная группа биогенных (биотических) факторов, влияющих на пушных зверей при их содержании и разведении.

Борьба с зоофильными мухами в условиях звероводческих хозяйств является актуальной задачей ветеринарии. В контексте борьбы с зоофильными мухами возникает важная проблема, обусловленная возможностью развития у мух устойчивости к современным инсектицидам [3]. В частности, комнатные мухи являются одними из самых резистентных видов к современным препаратам. На сегодняшний день наиболее распространенными инсектицидами являются препараты из группы пиретроидов (циперметрин, дельтаметрин и др.), которые относятся к синтетически произведенным природным пиретринам. По результатам исследований препараты из группы пиретроидов менее токсичны для теплокровных животных, чем инсектициды других групп. Это обусловлено тем, что они сразу либо элиминируются, либо разрушаются (благодаря слабой устойчивости эфирной связи) и выводятся из организма. При этом эстеразы, гидролизующие пиретроиды в печени теплокровных, гораздо более активны, чем у насекомых [9], и имеют среднюю токсичность, например, для крыс ЛД₅₀ циперметрина составляет 250–300 мг/кг [5].

Однако сравнительно быстрое развитие резистентности у насекомых является одним из основных недостатков этих препаратов [2, 4, 6, 7, 8].

В настоящее время идет поиск новых групп препаратов для борьбы с двукрылыми насекомыми в звероводческих хозяйствах.

В этой связи цель настоящих исследований – испытание новых для условий звероводческих хозяйств инсектицидных препаратов группы BuFF («Максимум» и «Ультимейт»).

Материалы и методы

Исследование активности и оценку относительной численности зоофильных мух производили в зверохозяйстве «Савватьево» Тверской области в середине лета (июль, начало августа 2022 г.) в период их максимальной численности. Отлавливали мух при помощи энтомологического сачка. Собранных мух фиксировали в 70 %-ном этаноле. Морфолого-таксономическое исследование мух проводили с помощью стереоскопического микроскопа Motic-SMZ (увеличение ×7,5–25).

Эксперименты в отношении препаратов против зоофильных мух для условий звероводческих хозяйств также проводили на базе этого хозяйства («Савватьево» Тверской области). Применяли препараты марки BuFF (страны-производители Россия и Германия): 1) BuFF «Максимум» в своем составе содержит в качестве действующего вещества 30 % циперметрин и 1 % раствор метаборной кислоты и 2) BuFF «Ультимейт» содержит в себе комбинацию четырех действующих веществ: циперметрин 20 %, дельтаметрин 1,5 %, тетраметрин 1,5 % и 1 % раствор метаборной кислоты. Циперметрин, дельтаметрин и тетраметрин относятся к пиретроидам второго поколения, это нейротоксические яды. Обладая высокой липофильностью, они легко проникают через покровы вредителей, нарушают процессы передачи нервных импульсов, блокируя нервно-мышечные передачи на уровне ганглионов периферических нервов, вызывая паралич и смерть

насекомых. Метаборная кислота усиливает поражающее действие препаратов.

Эксперименты проведены в двух шедрах: первый шед – содержатся лисицы, площадь 240 м², и второй шед – содержатся американские норки, площадь 480 м². Препараты BuFF «Максимум» и BuFF «Ультимейт» применяли по инструкции из расчета для BuFF «Максимум» 10 г на 1 л воды, 100 мл рабочего раствора на 1 м², для BuFF «Ультимейт» 30 г на 1 л воды, 100 мл рабочего раствора на 1 м². Первый шед с лисицами был обработан препаратом BuFF «Максимум», второй шед с норками был обработан препаратом BuFF «Ультимейт».

Для распыления препарата была использована специализированная установка MT Vulcano Sprayer 300 L. Эта машина снабжена прицепом с емкостью (объем 300 л), куда заливается препарат. Установка имеет три уровня распыления и позволяет обработать практически все поверхности: наверху вдоль потолка, посередине на уровне клеток и внизу на уровне пола и под клетками. При проведении обработки машиной управляет один работник.

Результаты исследований и обсуждение

Звероводческое хозяйство «Савватьево» расположено на территории Тверской области. Направлением его работы является промышленное разведение пушных зверей: норки, лисицы и соболя. Общее поголовье в звероводческом хозяйстве составляет около 200 тыс. голов.

В июле-августе 2022 г. в период наиболее высокой активности зоофильных мух провели рекогносцировочное обследование территории хозяйства. Примерная относительная численность мух в шедрах составила 20–30 экз./м². По результатам исследований самыми многочисленными зарегистрированы два вида зоофильных мух: домовая муха (*Musca domestica*, сем. *Muscidae* – настоящие мухи) и мясная муха (*Lucilia caesar*, сем. *Calliphoridae* – падальные мухи). В соответствии с визуальными оценками мухи преимущественно обитают в шедрах, существенно меньше на сопредельных территориях зверохозяйства.

Некоторые особенности биологии и экологии зоофильных мух, сроки и условия развития этих двукрылых имеют практическое значение при планировании мероприятий по борьбе с ними. Развитие мух происходит с полным превращением (яйцо, личинка, куколка, имаго), уже на 5–7 день после выхода из куколки мухи становятся половозрелыми, продолжительность жизни мухи составляет от 3-х недель до 2-х месяцев. Половозрелая самка постоянно откладывает яйца,

в каждую кладку 120–150 яиц и в течение жизни совершает 5–6 кладок [10]. Развитие мух происходит только в определенном температурном диапазоне (выше нижнего температурного порога, но ниже верхнего порога развития), который определяют, как эффективная температура [1, 10]. Для зарегистрированных нами видов зоофильных мух эффективная температура составляет $\sum_{эф} = 312$ °С, нижний порог развития – +12 °С. Соответственно, чтобы определить количество дней развития (n) необходимо произвести следующие вычисления: $n = \sum_{эф} / (T_{среды} - t_{порога})$. В результате, например, при температуре среды – +25 °С для этих мух сроки развития составляют 24 дня. Представленные параметры развития позволяют определять для зоофильных мух сроки массового вылета, пики численности и периоды наиболее высокой активности. В условиях звероводческих хозяйств обычно субстратом для откладки яиц служат остатки кормов, фекалии животных, старая подстилка. Здесь проходят первые три этапа (яйцо, личинка, куколка) развития мух. В этих условиях внешние температуры могут быть выше, чем в окружающей среде, что определенным образом может корректировать сумму эффективных температур.

После оценок эколого-биологических параметров зоофильных мух в условиях звероводческого хозяйства провели опытные исследования по применению препаратов BuFF «Максимум» и BuFF «Ультимейт» для борьбы с мухами. BuFF «Максимум» использовали в соответствии с инструкцией – 10 г раствора на 1 л воды, из расчета 100 мл рабочего раствора на 1 м². Обработке был подвергнут шед с лисицами. При помощи распылительной машины рабочим раствором обработали поверхность пола и площади под клетками. Обработка шедра проводилась в присутствии животных.

Второй препарат BuFF «Ультимейт» содержит в себе комбинацию четырех эффективных инсектицидных веществ. Для борьбы с мухами в соответствии с инструкцией использовали 30 г BuFF «Ультимейт» на 1 л воды, из расчета 100 мл рабочего раствора на 1 м². Распыление производили из этой же автоматической машины, препарат наносили на поверхность пола и площади под клетками. Обработка шедра проводилась в присутствии животных.

После проведенной обработки шедов с лисицами и норками препаратами BuFF «Максимум» и BuFF «Ультимейт», соответственно, производили визуальное наблюдение за состоянием животных и оценивали эффективность препаратов. После обработки шедов по результатам

ветеринарного осмотра лисиц и норок не было выявлено отклонений в их поведении и не отмечено нарушений в приеме пищи и физиологической активности животных.

Оценивая эффективность примененных препаратов для борьбы с мухами путем распыления в нижнем ярусе (поверхность пола и нижняя часть клеток) нами выявлена высокая эффективность данных препаратов. Количество погибших насекомых после применения BuFF «Максимум» достигало 30–40 экз./м², после применения BuFF «Ультимейт» – 45–50 экз./м². Причем нами отмечен также и другой эффект препаратов – репеллентный, мухи подлетали, но не садились на обработанные поверхности. По длительности репеллентного действия более эффективным по нашим исследованиям оказался BuFF «Ультимейт», продолжительность действия составила до 20 дней, для BuFF «Максимум» – 10 дней.

Обращаем внимание на высокие рабочие качества автоматической машины для распыления MT Vulcano Sprayer 300 L. Она позволяет экономично и с минимальными трудозатратами провести обработку больших площадей в шедах звероводческих помещений.

Заключение

В клеточном звероводстве наиболее распространенной формой содержания пушных зверей на зверофермах являются полуоткрытые шеда, т.е. конструкция шеда предполагает с одной стороны наличие крыши для защиты животных от атмосферных осадков, с другой – отсутствие стен. Подобные условия допускают беспрепятственное проникновение на фермы различных видов летающих насекомых, среди которых доминируют зоофильные мухи. Они появляются весной, как только во внешней среде возникают устойчивые положительные температуры и наступает фенологическое лето. В летние месяцы численность мух достигает максимальных величин, происходит как массовый вылет (перезимовавшие куколки), так и их размножение (новые генерации текущего года). Зоофильные мухи оказывают сравнительно выраженное влияние на пушное звероводство, в этой связи выделяем, соответственно, несколько факторов.

Во-первых, «фактор стресса», массовые контакты зоофильных мух в летний период влияют на пушных зверей при содержании в клетках, это проявляется различными нарушениями в поведенческих реакциях животных, постоянным беспокойством и снижением резистентности. Во-вторых, «фактор транспозиции» – зоофильные мухи могут переносить инфекционное или инва-

зионное начало на поверхности своего тела (или внутри) при контакте с животными и различным субстратом, включая корма, подстилку, навоз, предметы ухода и т.д. В-третьих, «фактор паразитизма», среди зоофильных мух распространены паразитические формы – кровососущие виды (например, мухи-жигалки). В-четвертых, «фактор беспокойства», мухи негативно влияют на условия работы обслуживающего персонала: ветеринарных врачей, звероводов и рабочих по уходу за животными, назойливость мух и вызванное ими беспокойство отражается на производительности труда и качестве работы персонала.

В условиях исследуемого звероводческого хозяйства («Савватьево» Тверской области) среди зоофильных мух доминирующим являются два вида: домовая муха (*M. domestica*) и мясная муха (*L. caesar*), которые формируют основную численность этих двукрылых насекомых. Выше мы обращали внимание на некоторые особенности биологии и экологии зоофильных мух в практическом приложении. Для пойкилотермных организмов, включая насекомых, температура окружающей среды – ключевой фактор, влияющий на сроки их развития (от яйца до имаго), который определяют, как «эффективные температуры развития». На основе величин эффективных температур можно прогнозировать сроки массового вылета зоофильных мух, а также число их генераций в течение летнего сезона. В свою очередь это позволяет рассчитывать оптимальные сроки проведения мероприятий по борьбе с зоофильными мухами в звероводческих хозяйствах.

С учетом климатических особенностей территории Тверской области, где расположено звероводческое хозяйство, зоофильные мухи в течение теплого сезона дают 3–4 генерации. Число генераций мух было рассчитано нами на основании суммы эффективных температур, которая составляет 312 °С, и продолжительность развития одной генерации измеряется примерно 24 днями. Это позволяет рекомендовать для исследуемого хозяйства проведение 3–4 обработок, промежутки между которыми определяют по средним срокам появления отдельных генераций зоофильных мух.

Испытанные нами в условиях звероводческого хозяйства «Савватьево» Тверской области инсектицидные препараты BuFF («Максимум» и «Ультимейт») показали высокую эффективность для борьбы с зоофильными мухами. Сравнительная оценка дает основание считать, что эффективность «Ультимейта» по отдельным инсектицидными репеллентным параметрам выше в среднем на 20–30%, чем «Максимум».

На основании полученных результатов считаем возможным рекомендовать инсектицидные препараты группы ВuFf в звероводческие хозяйства для борьбы с зоофильными мухами.

Список литературы

1. Бигон М. Экология. Особи, популяции и сообщества / М. Бигон, Д. Харпер, К. Таунсенд. М.: Мир. 1989. 667 с.
2. Давлианидзе Т. А. Резистентность к инсектицидам комнатной мухи *Musca domestica* в центре европейской части России / Т. А. Давлианидзе, О. Ю. Еремина, В. В. Олифер // Вестник защиты растений. 2022. Т. 105, №3. С. 114–121.
3. Кузнецов Ю. Е. Паразитозы пушных зверей в хозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации (меры борьбы и профилактики): дис. д-ра. вет. наук: 03.02.11, 06.02.03 / Кузнецов, Юрий Евгеньевич. Санкт-Петербург, 2020. 496 с.
4. Левченко М. А. Резистентность природных популяций *Musca domestica* L. к современным инсектицидам / М. А. Левченко, Е. А. Силиванова, В. А. Плашкина,

П. А. Шумилова // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2019. № 4(32). С. 407–412.

5. Мельников Н. Н. Химические средства защиты растений (пестициды) / Н. Н. Мельников, К. В. Новожилов, Т. Н. Пылова. М.: Химия. 1980. 288 с.

6. Роткин А. Т. Резистентность двукрылых насекомых к синтетическим пиретроидам на примере комнатной мухи *Musca domestica* (обзор) / А. Т. Роткин // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2022. № 23. С. 282–386.

7. Соколянская М. П. Влияние селекции фосфорорганическими и пиретроидными инсектицидами на массу имаго комнатной мухи (*Musca domestica* L.) / М. П. Соколянская // Агрохимия. 2007. №6. С. 32–36.

8. Соколянская М. П. Эстеразные механизмы формирования резистентности у комнатной мухи (*Musca domestica*) к инсектицидам разных химических классов / М. П. Соколянская, Д. В. Амиранов // Агрохимия. 2008. №7. С. 56–61.

9. Ткачев А. В. Пиретроидные инсектициды – аналоги природных защитных веществ растений / А. В. Ткачев // Соросовский образовательный журнал. 2004. Т.8, №2. С. 56–63.

10. Яхонтов В. В. Экология насекомых / В. В. Яхонтов. М.: Высшая школа, 1964. 460 с.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-84-89

УДК: 619:616.34:615.035.1

Ключевые слова: телята, энтеробактерии, желудочно-кишечные заболевания, растительные лекарственные средства, штамм *Bacillus subtilis*

Key words: calves, enterobacteria, gastrointestinal diseases, herbal medicine, *Bacillus subtilis* strain

Шульга И. С., Желябовская Д. А., Остякова М. Е., Горбачева И. Е.

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТЕЛЯТ COMPLEX MEDICINAL PRODUCT FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF GASTROINTESTINAL DISEASES IN CALVES

ФГБНУ «Дальневосточный зональный научно-исследовательский ветеринарный институт»,

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

FSBSI Far East Zone Research Veterinary Institute,

Address: 675005, Russia, Blagoveshchensk, Severnaya Str., 112.

Шульга Ирина Станиславовна, кандидат биологических наук, заместитель директора по научной работе, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Shulga Irina Stanislavovna, PhD of Biological Sciences, Deputy Director for Science, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Желябовская Дина Анатольевна, кандидат биологических наук, заведующая отделом микробиологии, вирусологии и иммунологии, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Zhelyabovskaya Dina Anatolyevna, PhD of Biological Sciences, Head of Department of Microbiology, Virology and Immunology, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Остякова Марина Евгеньевна, доктор биологических наук, доцент, директор, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Ostyakova Marina Evgenievna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Director, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Горбачёва Инна Евгеньевна, научный сотрудник отдела микробиологии, вирусологии и иммунологии, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Gorbacheva Inna Evgenievna, Researcher, Department of Microbiology, Virology and Immunology, e-mail: dalznivilabmicro@mail.ru

Аннотация. Изучали эффективность комплексного растительного лекарственного средства в сочетании с пробиотическим штаммом *Bacillus subtilis*. В животноводческом хозяйстве, неблагополучном по желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят, было выявлено, что у телят двухдневного возраста имеется определенный бактериальный фон, на который наслаиваются микроорганизмы, попадающие в кишечник в первые дни неонатального периода. При бактериологическом исследовании биоматериала от заболевших телят установлено этиологическое значение бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в возникновении массовых желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят. Профилактическая эффективность предлагаемого комплексного лекарственного средства в отношении желудочно-кишечных заболеваний у телят была в сравнении с контролем в 3,5 раза выше. Заболевшие телята опытной группы болели в легкой форме, клиническое выздоровление заболевших телят опытной группы отмечалось, в 1,7–2,3 раза быстрее. Изучение состояния микробиоценоза кишечника после окончания эксперимента показало положительные изменения в структуре микробиоценоза у телят, получавших в течение 10 дней комплексное лекарственное средство в сочетании с пробиотическим штаммом *Bacillus subtilis*.

Summary. In the livestock farm unfavourable for gastrointestinal diseases of newborn calves it was revealed that two-day-old calves have a certain bacterial background on which microorganisms entering the intestine in the first days of the neonatal period are layered. At bacteriological study of biomaterial from diseased calves the etiological importance of bacteria of *Enterobacteriaceae* family in the occurrence of mass gastrointestinal diseases of newborn calves was established. The prophylactic efficacy of the proposed complex medicinal product in relation to gastrointestinal diseases in calves was 3.5 times higher in comparison with the control. Sick calves of the experimental group were sick in a mild form, clinical recovery of sick calves of the experimental group was 1.7–2.3 times faster. The study of intestinal microbiocenosis after the end of the experiment showed positive changes in the structure of microbiocenosis in calves that received complex drug in combination with probiotic strain of *Bacillus subtilis* for 10 days.

Введение

Желудочно-кишечные заболевания молодняка крупного рогатого скота в большинстве регионов нашей страны на протяжении ряда десятилетий являются самой распространенной патологией. В хозяйствах РФ, в том числе и в Амурской области этой патологии подвержено около 50–70 % молодняка. [2]

Обычно болезни органов пищеварения молодняка относят к патологии незаразной этиологии, но такое деление не всегда соответствует действительности. В последние годы исследователями уделяется большее внимание диагностике, позволяющей установить инфекционную составляющую этих заболеваний. Например, острые кишечные заболевания новорожденных телят примерно в 80 % случаев обусловлены ассоциациями условно-патогенных бактерий. [1]

С экономической точки зрения профилактика более целесообразна, чем лечение. В настоящее время используемые фабричные вакцинные препараты для профилактики желудочно-кишечных заболеваний молодняка животных не всегда гарантируют защиту животных от заболевания. [6]

Поэтому возрастает внимание к растительному сырью. Кроме того, существует проблема негативного влияния антибиотиков на иммунный статус организма и выработки полирезистентности у микроорганизмов к применяемым препаратам, а также непереносимости и проявления аллергических реакций. В настоящее время установлено, что растительное сырье служит источником около трети всех лекарственных средств. [4, 5]

Химический состав и биологические свойства основных лекарственных, а также кормовых

растений были достаточно хорошо изучены в 70–80 гг. прошлого столетия. Многие из них обладают противомикробным и противовоспалительным действием, защищают слизистые желудочно-кишечного тракта, печень, почки и другие органы от повреждения. [3]

Фитонциды растений в ряде случаев являются существенными помощниками организму в борьбе с врагами из царства микробов. При этом объекты ветеринарной медицины в своем большинстве живут в постоянном окружении фитонцидов. К примеру, корову или лошадь нельзя представить без растительного корма, без трав, а значит без фитонцидов. [7]

Важное значение при этом имеют особенности пищеварительных процессов растительной пищи животных. Только в их пищеварительном тракте может происходить расщепление клетчатки (целлюлозы). Этот процесс происходит при участии особой группы симбиотных микроорганизмов. Также в пищеварении растительной пищи участвуют микроорганизмы, играющие роль в построении жирных кислот, витаминов, разложении белков и многих других процессов. Поэтому применение лекарственных средств растительного происхождения для профилактики и лечения растительноядных животных вполне естественно, целесообразно и актуально.

Цель настоящего исследования изучить профилактическую эффективность комплексного растительного лекарственного средства в сочетании с пробиотическим штаммом *Bacillus subtilis* для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования выполнены в условиях животноводческого хозяйства Амурской области, неблагополучного по желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят и в отделе микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБНУ ДальЗНИВИ. Объект исследований – новорожденный молодняк крупного рогатого скота красно-пестрой породы и комплексный препарат, состоящий из растительного лекарственного сырья и пробиотического штамма *Bacillus subtilis*.

Проблема желудочно-кишечных заболеваний у новорожденных телят в изучаемом хозяйстве остается актуальной на протяжении ряда лет. Заболеваемость имеет высокий уровень, как правило, в период массовых отелов.

Основные компоненты лечебно-профилактического препарата были подобраны на основании предварительного изучения их влияния на персистентные характеристики микроорганизмов. Все компоненты снижают персистентный потенциал энтеробактерий. [8] Кроме того, учитывалось их симптоматическое действие.

Из средств, оказывающих противовоспалительное и антисептическое действие, в состав препарата включили кору дуба, кроме того, она обладает выраженными вяжущими свойствами. Среди болеутоляющих, спазмолитических и обладающих ветрогонным действием растений выбрали плоды фенхеля обыкновенного. Среди средств гепатопротекторного действия в виду большей дешевизны и доступности выбрали шрот расторопши. Она также усиливает секреторную деятельность печени. Для усиления секреторной активности желудочных желез в состав включили корни одуванчика, его действие предупреждает развитие гипоацидного состояния, способствует нормализации рН в сычуге и превращению пепсиногена в пепсин. Пробиотический штамм на основе *Bacillus subtilis* выгодно корректирует изменение персистентных характеристик *in vitro*, а также стимулирует развитие в пищеварительном тракте собственной нормальной микрофлоры, оказывая влияние на формирование кишечного микробиоценоза, поэтому также был включен в состав комплексного лекарственного средства. Количественные соотношения компонентов подбирали, исходя из фармакологических свойств каждого из них, ориентируясь на литературные данные по их применению.

Эксперимент по испытанию комплексного лекарственного средства проводили общепринятым методом с созданием опытной и контрольной групп животных по 10 голов в каждой. В обе

группы телят подбирали по принципу аналогов. В течение опыта животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления, только телятам опытной группы начиная со 2-го дня жизни (при переходе с молозивного кормления на ЗЦМ) ежедневно один раз в сутки за 20–30 минут до кормления в течение 10 дней давали комплексный препарат.

В течение 14 дней от начала эксперимента у телят контрольной и опытной групп учитывали наличие или отсутствие клинических признаков желудочно-кишечных заболеваний, тяжесть и продолжительность течения болезни, сохранность телят.

Заболевших телят контрольной и опытной групп лечили по схеме, принятой в хозяйстве, включающую симптоматическую терапию, витаминные препараты и антимикробный препарат широкого спектра действия. Заболевшим телятам опытной группы, в отличие от контрольной, продолжали один раз в сутки давать комплексное лекарственное средство, в сочетании с пробиотическим штаммом до окончания эксперимента.

До начала эксперимента при появлении признаков желудочно-кишечных заболеваний и после окончания дачи препарата у телят опытной и контрольной групп был произведен отбор фекальных проб для микробиологического исследования.

Результаты исследований

При проведении количественной оценки разных видов микроорганизмов, выделяемых с фекалиями, мы наблюдали, что микробиом кишечника новорожденных телят соответствовал показателям первых дней жизни организма.

Резидентная микрофлора в кишечнике клинически здоровых телят двухдневного возраста опытной и контрольной групп была представлена бифидобактериями, лактобактериями, а факультативная – непатогенными кишечными палочками, условно-патогенными энтеробактериями, энтерококками, эпидермальным и сапрофитным стафилококками. Золотистый стафилококк, неферментирующие бактерии и дрожжевые грибы *Candida* отсутствовали.

Первые клинические признаки у заболевших телят контрольной группы проявлялись, начиная с третьих суток жизни. Осмотром было установлено, что телята были угнетены, сонливы; аппетит был снижен или отсутствовал. Телята много лежали, подолгу не вставали. Наблюдалась частая дефекация (более шести раз в день), каловые массы жидкой консистенции желто-беловатого цвета, зловонные; хвост и тазовые конечности телят, об-

Таблица 1

Количественное содержание различных представителей микробиоценоза у телят опытных групп, КОЕ/г

Микроорганизмы	Контрольная группа, n=10	Опытная группа, n=10	Норма
1. Бифидобактерии	3,3+1,06x10 ⁶	4,1+0,22x10 ⁶	10 ⁷ –10 ⁹
2. Лактобактерии	3,0+0,15x10 ⁴	6,5+0,32x10 ⁴	10 ⁵ –10 ⁷
3. Энтерококки: <i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>	9,1+1,86x10 ⁴ 5,3+0,34x10 ⁵	4,4+1,19x10 ⁵ 3,5+0,25x10 ⁵	10 ⁵ –10 ⁷
<i>E. coli</i> (Л ⁺) <i>E. coli</i> (Л ⁻)	4,2+0,36x10 ⁶ 3,0+0,40x10 ⁷	5,4+0,19x10 ⁶ 2,4+0,43x10 ⁶	10 ⁷ –10 ⁸ ≤10 ⁵
Другие условно-патогенные бактерии	4,4+1,26 x10 ³	2,2+0,76x 10 ³	≤10 ³
6. Стафилококки (эпидермальный, сапрофитный)	2,9+0,35x10 ²	3,7+0,65x 10 ²	≤10 ⁴
7. Стафилококк золотистый	-	-	-
8. Неферментирующие бактерии*	-	-	≤10 ³
9. Дрожжевые грибы <i>Candida</i>	-	-	≤10 ³

Примечание: Л⁺ и Л⁻ – лактозоположительные и лактозоотрицательные штаммы, соответственно.

ласть вокруг анального отверстия испачканы фекалиями; у некоторых телят наблюдали слегка запавшие бока. Видимые слизистые оболочки, кожа (на непигментированных участках) – были бледные; шерстный покров тусклый, взъерошенный. Температура тела в пределах нормы – 38,9–39,5°С.

У телят опытной группы первые признаки желудочно-кишечных заболеваний наблюдали позднее, на 5–6-й день жизни. Клинические признаки проявлялись в виде профузной диареи, с выделением жидких каловых масс и примесью слизи, аппетит был снижен, жажда, температура тела была в пределах физиологической нормы. Ярко выраженных признаков интоксикации и обезвоживания не наблюдали.

При исследовании культур микроорганизмов, выделенных из биологического материала от заболевших телят, выявлено, что у всех выделена *Escherichia coli* (Табл. 2). У телят из контрольной группы были выявлены энтеропатогенные серотипы: O26, и O137.

Кроме *Escherichia coli*, значительный удельный вес в возникновении желудочно-кишечной патологии у телят контрольной группы имели *Enterobacter aerogenes* и *Proteus mirabilis*. В опытной группе во всех случаях возникновения болезни наряду с *Escherichia coli* причиной являлась бактерия *Proteus mirabilis*. *Citrobacter freundii* выделяли в двух случаях, у одного контрольного и одного опытного теленка.

Факультативно-анаэробная микрофлора, представленная в большинстве случаев бактериями родов *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Enterococcus*, являлась не патогенной для лабораторных животных.

До начала лечения обнаруживали микробные ассоциации, состоящие из 2–3 микроорганизмов. Наиболее часто встречаемой ассоциацией было сочетание культур *Escherichia coli* + *Proteus mirabilis* и *Escherichia coli* + *Enterobacter aerogenes*.

После окончания лечения у телят патогенную микрофлору не выделяли, в основном выделяли условно-патогенные микроорганизмы в монокультуре и в количествах, допустимых для показателей факультативной микрофлоры.

В опытной группе на 4–5-й день жизни всего заболело 20 % животных, а у телят контрольной группы на 3–4-й день жизни заболело 70 % из группы. Сохранность телят в обеих группах составила 100 %. Профилактическая эффективность испытуемого препарата в отношении желудочно-кишечных заболеваний у новорожденных телят была выше по сравнению с контролем в 3,5 раза (табл. 3).

Анализ тяжести течения болезни у телят показал, что телята опытной группы перенесли заболевание в легкой форме (табл. 4).

Среди телят контрольной группы легкой формы болезни не наблюдалось, у всех желудочно-

Таблица 2

Структура микробиоценоза кишечника телят при острых кишечных расстройствах

№ п/п	Род, вид	Группа	
		контрольная n=7	опытная n=2
Грамотрицательная микрофлора			
1	<i>Escherichia coli</i>	7	2
2	<i>Citrobacter freundii</i>	1	1
3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	-
4	<i>Proteus mirabilis</i>	3	2
Грамположительная микрофлора			
5	<i>Staphylococcus spp.</i>	6	-
6	<i>Streptococcus spp.</i>	2	-
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	7	2
8	<i>Enterococcus faecium</i>	7	2

Таблица 3

Результаты изучения профилактической эффективности препарата

Группа	Телята в группе, голов	Заболело		Пало	
		голов	%	голов	%
Опытная	10	2	20	-	-
Контрольная	10	7	70	-	-

Таблица 4

Форма течения и длительность болезни у опытных и контрольных телят

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Степень тяжести:		
легкая, гол	-	2
средняя, гол	5	-
тяжелая, гол	2	-
Длительность болезни, дн.	5–7	3

кишечные расстройства протекали в средней степени тяжести и тяжелой формах. Тяжелая степень заболевания отмечалась у двух телят из контрольной группы. Длительность болезни составила в контрольной группе 5–7 дней. Клиническое выздоровление больных телят опытной группы отмечалось через трое суток, в 1,7–2,3 раза быстрее по сравнению с контролем.

Оценка профилактической эффективности предлагаемого нами препарата в отношении желудочно-кишечных заболеваний у новорожденных телят показала, что заболеваемость телят на фоне применения препарата была ниже по сравнению с контролем в 3,5 раза, телята опытной группы болели в легкой форме. Клиническое выздоровление больных телят опытной группы отмечалось на 2–4 дня раньше в сравнении с контролем. Предлагаемый комплексный препарат обладает весьма высокой профилактической эф-

фективностью при желудочно-кишечных заболеваниях у новорожденных телят.

Изменения в количественной и качественной структуре микробиоценоза кишечника телят без признаков желудочно-кишечных расстройств после окончания эксперимента показаны в таблице 5.

Количество бифидо- и лактобактерий у телят опытной группы, получавших с профилактической целью препарат, было на один-два порядка выше по сравнению с контролем и соответствовало показателям нормального микробиоценоза. Содержание энтерококков, стафилококков и лактозоположительной *E. coli* соответствовало нормальным показателям микробиоценоза у телят обеих групп. Количество лактозоотрицательной *E. coli* и условно-патогенных микроорганизмов у телят контрольной группы превышало показатели нормы на один и два порядка соответственно,

Количественное содержание различных представителей микробиоценоза телят после окончания эксперимента, КОЕ/г

Микроорганизмы	Группа		Норма
	контрольная, n=3	опытная, n=8	
1. Бифидобактерии	4,3+0,30x10 ⁷	6,4+0,30x10 ^{9***}	10 ⁷ –10 ⁹
2. Лактобактерии	2,5+0,26x10 ⁵	3,8+0,65x10 ^{6**}	10 ⁵ –10 ⁷
3. Энтерококки: <i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>	10,3+0,21x10 ⁶ 6,0+0,46x10 ⁶	4,0+0,90x10 ^{5*} 3,1+0,54x10 ^{6**}	10 ⁵ –10 ⁷ 10 ⁵ –10 ⁷
4. <i>E. coli</i> (J ⁺) <i>E. coli</i> (J ⁻)	1,9+0,24x10 ⁸ 3,3+0,36x10 ⁶	3,1+0,75x10 ^{7**} 1,9+0,11x10 ^{5*}	10 ⁷ –10 ⁸ ≤10 ⁵
5. Другие условно-патогенные бактерии	5,7+0,25 x10 ⁵	1,4+0,26x 10 ^{3***}	≤10 ³
6. Стафилококки (эпидермальный, сапрофитный)	2,8+0,32x10 ⁴	12,5+1,65x10 ^{3**}	≤10 ⁴
7. Стафилококк золотистый	-	-	-
8. Неферментирующие бактерии*	-	-	≤10 ³
9. Дрожжевые грибы <i>Candida</i>	-	-	≤10 ³

что может свидетельствовать как о продолжающемся дисбиотическом нарушении, так и о том, что становление кишечного микробиоценоза у телят контрольной группы задерживается. В связи с этим требуется коррекция микробиоза с применением пробиотиков.

Позитивные изменения в структуре микробиоценоза кишечника телят опытной группы, получавших в течение 10 дней препарат, обусловлены совокупностью эффектов его компонентов, а именно присутствием пробиотического штамма *Bacillus subtilis*, который влияет на количественную структуру резидентной микрофлоры и ингибирует персистентные свойства условно-патогенных микроорганизмов.

Циркуляция в окружающей среде персистирующих штаммов инициирует развитие инфекционного процесса при определенных условиях внешней среды или когда защитные силы организма ослаблены. Поэтому надежной защитой новорожденного молодняка от массовых желудочно-кишечных заболеваний будет являться включение в комплекс общехозяйственных мероприятий в период перевода телят с молочивного типа кормления на молочный, комплексного лекарственного средства один раз в сутки в течение 10 дней. Препарат состоит из растительного лекарственного сырья и пробиотического штамма *Bacillus subtilis*. Лечебно-профилактическая эффективность экспериментального лекарственного средства обусловлена совокупностью терапевтических эффектов его компонентов и их

способностью ингибировать персистентный потенциал энтеробактерий.

Список литературы

1. Ачкасов А. В. Современные взгляды на этиологические особенности течения желудочно-кишечных заболеваний молодняка КРС / А. В. Ачкасов // Научно-практические аспекты развития АПК: Мат. Национальной науч. конф. Красноярск: изд-во КрасГАУ, 2021. С. 132–134.
2. Герасимова М. В. Статистический анализ распространения болезней органов пищеварения крупного рогатого скота с незаразной этиологией в Амурской области / М. В. Герасимова, Е. В. Курятова // Дальневосточный аграрный вестник. 2017. №1 (41). С. 35–39.
3. Корсун В. Ф. Преодоление микробной резистентности к антибиотикам средствами фитотерапии / В. Ф. Корсун, С. В. Федоренко, Л. В. Рубаник, Е. В. Косун, В. М. Лахтин // Практическая фитотерапия. 2017. №2. С. 33–44.
4. Лашин А. П. Фитопрепараты в профилактике и лечении диспепсии у новорожденных телят: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.02.01. Благовещенск 2013. 24 с.
5. Приходько А. Н. Использование природных биологически активных добавок из растений в рационах сельскохозяйственных животных / А. Н. Приходько, А. П. Старикова // Молодые ученые агропромышленному комплексу Дальневосточного федерального округа: Мат. регион. науч.-практ. конф. Благовещенск: ДальГАУ, 2005. С. 97–100.
6. Тищенко А. С. Специфическая профилактика острых кишечных заболеваний у телят / А. С. Тищенко, В. И. Терехов, Я. Н. Мартыненко // Ветеринарная патология. № 4. 2019. С. 55–61.
7. Токин Б. П. Целебные яды растений. / Б. П. Токин. Л.: Изд-во Ленинградского ун-та. 1980. 280 с.
8. Шульга И. С. Влияние некоторых лекарственных средств на персистентные характеристики энтеробактерий, выделенных при желудочно-кишечных заболеваниях телят / И. С. Шульга, М. Е. Остякова, Л. А. Лаврушина, И. Е. Горбачева // Ветеринарный врач. 2022. №1. С. 65–73.

DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-90-93

УДК: 616.38-006.3.04:598.271.8

Ключевые слова: волнистый попугай, наркоз, саркома

Key words: budgie, anesthesia, sarcoma

Нечаев А. Ю., Кудряшов А. А.

СЛУЧАЙ САРКОМЫ БРЮШНОЙ СТЕНКИ У ВОЛНИСТОГО ПОПУГАЯ *A CASE OF ABDOMINAL WALL SARCOMA IN A BUDGIE*

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

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

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

Address: 196084, Russia, Saint-Petersburg, Chernigovskaya str., 5

Нечаев Андрей Юрьевич, д. в. н., доц., зав. кафедрой общей, частной
и оперативной хирургии имени К. И. Шакалова, e-mail: netschajew@yandex.ru

*Nechaev Andrew Yurievich, Doctor of Veterinary Science, Head of Depart of General and Private Surgery
named after K. I. Shakalov, e-mail: netschajew@yandex.ru*

Кудряшов Анатолий Алексеевич, д. в. н., проф., зав. кафедрой патологической анатомии
и судебной ветеринарной медицины, e-mail: patan2017@outlook.com

*Kudriashov Anatoly Alekseevich, Doctor of Veterinary Science, Professor,
Head of the Pathologic Anatomy Depart, e-mail: patan2017@outlook.com*

Аннотация. Цель работы – провести оперативное лечение волнистого попугая и определить клеточную принадлежность новообразования. У птицы спереди в области брюшной стенки в течение 6 месяцев выросло крупное новообразование, которое было удалено в ходе хирургической операции. Отмечена эффективность общей анестезии с использованием изофлурана в ходе оперативного лечения волнистого попугая. Новообразование, удаленное у попугая, определили как полиморфноклеточную саркому, которая относится к злокачественным опухолям волокнистой соединительной ткани. Диагностированная у попугая полиморфно-клеточная саркома, с высокой степенью вероятности, является случаем саркомы Рауса.

Summary. The purpose of the work is to carry out surgical treatment of the budgie and determine the cellular affiliation of the neoplasm. A large neoplasm grew in the front of the bird in the abdominal wall area within 6 months, which was removed during surgery. The effectiveness of general anesthesia using isoflurane during the surgical treatment of budgerigars was noted. The neoplasm removed from the parrot was identified as polymorphocellular sarcoma, which refers to malignant tumors of fibrous connective tissue. The polymorphocellular sarcoma diagnosed in the budgie, with a high degree of probability, is a case of Rous sarcoma.

Введение

На кафедру общей, частной и оперативной хирургии имени К. И. Шакалова обратились за помощью владельцы волнистого попугая, самца, в возрасте 6 лет. У птицы спереди в области брюшной стенки в течение 6 месяцев выросло крупное новообразование, развивавшееся особенно интенсивно в последний месяц. Опухоль мешала попугаю передвигаться и сохранять равновесие, достигла массы, превышающей массу самой птицы. При совместном анализе ситуации хирургами и владельцами было принято решение провести оперативное лечение попугая. Судя по данным источника информации [4], среди болезней взрослых декоративных волнистых попугаев опухоли занимают первое место: опухоли 66,8 %, заболевания печени 5,7 %, воспалительные поражения кожи 3,5 %, поражения сердца 3,0 %, заболевания гонад 4,4 %, другие 16,6 %. Это указывает на актуальность тематики опухо-

лей у волнистых попугаев; актуальность тематики опухолей подтверждается и недостатком соответствующих научных публикаций. Цель работы провести оперативное лечение волнистого попугая, а также определить клеточную принадлежность новообразования и по возможности причину его возникновения.

Материалы и методы

Объектом операции явился волнистый попугай, самец, в возрасте 6 лет с новообразованием в области брюшной стенки (рисунки 1, 2).

С учетом объема оперативного вмешательства и высокой степени операционного риска в данном случае, для проведения анестезии был выбран ингаляционный наркоз изофлураном. Изофлуран подавался в смеси с кислородом через маску в концентрации 1,5 об % при малом газотоке 0,5–1,0 л/мин по полуоткрытому дыхательному контуру. Ингаляционная анестезия осуществлялась

отечественным портативным наркозным аппаратом «Колибри» [2]. После операции провели макроскопическое и гистологическое исследование удаленного новообразования. Патологический материал зафиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина. Затем провели заливку в парафин и на ротационном микротоме изготовили срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрасили гематоксилином и эозином. Изучение гистологических препаратов провели при помощи светооптического микроскопа «Микмед-5 ЛОМО» при увеличении $\times 400$. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой камеры и компьютерной программы Touptek Photonic FMA050.

Ход операции

Благодаря таким преимуществам изофлурана, как быстрое введение в состояние сна и легкое пробуждение с минимальными физиологическими изменениями, обеспечение адекватного обезболивания для большинства процедур и безопасность для пациентов, находящихся в критическом состоянии, во время анестезии осложнений не наблюдалось. На всех этапах общей анестезии (введение, поддержание, пробуждение) осуществлялся контроль за дыхательной и сердечной деятельностью попугая, роговичным рефлексом и тонусом крыльев.

Разрез кожи был проведен по срединной линии тела попугая, начинался на уровне кила и продолжался вниз на брюшко на всем протяжении опухоли (рисунок 3). Новообразование было удалено препарированием от окружающих тканей, прорастания в грудные мышцы не отмечено. Грудные мышцы выглядели впалыми, были развиты слабо, очевидно, ввиду длительного малоподвижного образа жизни птицы и утраты способности летать по причине интенсивного роста новообразования, достигшего к моменту операции 39,5 г., что на 7,8 г. превышало вес самой птицы, составивший 31,7 г. (рисунки 4, 5). Операция протекала без осложнений, длилась 20 минут, сопровождалась минимальной кровопотерей. Область операционной раны перед наложением швов была обработана водным раствором хлоргексидина биглюконата. На кожу были наложены узловатые швы. Для обработки швов использовался тетрациклин спрей.

В ходе операции и по ее завершении для поддержания нормальной температуры тела проводился обогрев птицы грелкой. На выходе из наркоза было обеспечено поступление кислорода через маску.

Как обязательные компоненты послеоперационной терапии были проведены пероральное

введение антибиотика тилозин-50 и обработка послеоперационной шва раствором монклавита с целью предотвращения воспалительных осложнений в области операционной раны.

Результат макроскопического и гистологического исследования

При макроскопическом исследовании установили: новообразование имеет неправильную шарообразную форму, диаметром 4,7–5,0 см, плотную консистенцию, заключена в капсулу с гладкой поверхностью (рисунок 6). На разрезе ткань новообразования однородная, сочная, белая с красным оттенком, в центре находится обширная полость, содержащая прозрачную водянистую жидкость и белковый детрит светло-серого цвета с желтым оттенком (рисунок 7).

При гистологическом исследовании в препарате обнаружено множество округлых и веретенообразных фибробластоподобных клеток разной величины, формирующих вместе со скудной волокнистой основой неупорядоченные клеточные скопления (рисунок 8). Новообразование определили как полиморфноклеточную саркому, которая относится к злокачественным опухолям волокнистой соединительной ткани.

Обсуждение

Описываемый случай заболевания волнистого попугая и результат макроскопического и гистологического исследования дают основание их обсудить в силу малого числа соответствующих научных публикаций. В источниках информации встречаются публикации об опухолях у волнистых попугаях, локализующихся в нижней части тела, в области живота.

В одном из источников [6] сообщается: «От чего появляется у волнистого попугая опухоль внизу живота? У этих домашних питомцев возникают образования: грыжа, ксантома, липома». То есть, исключая грыжу, это две доброкачественные опухоли жировой ткани. На опухоль жировой ткани указывает другой источник [7]: «В некоторых случаях липома приобретает смешанную форму, превращаясь в злокачественное образование. В данном случае ее называют липосаркомой». В третьем источнике [5] дана более объемная информация о видах подобных опухолей у волнистых попугаев: «Многие виды опухолей встречаются у попугаев, но волнистые попугайчики, пожалуй, наиболее восприимчивы. Большинство опухолей кожи представляют собой доброкачественные скопления жира (липома)



Рис. 1. Волнистый попугай с новообразованием внизу живота

или холестерина (ксантома), но другие могут быть агрессивным раком кожи или локализованными узловыми фиброзными опухолями. У домашней птицы многие опухоли индуцированы вирусом, и вполне вероятно, что аналогичные вирусы группы лейкоза ответственны за опухоли у волнистых попугаев и корелл». Здесь высказано мнение о вирусной природе опухолей у волнистых попугаев. О вирусной этиологии ряда опухолей птиц, называемых саркомой Рауса, сообщается в хрестоматийном ветеринарном словаре [3]: «Саркома Рауса (*Rous sarcoma*) – веретенноклеточная саркома птиц, вызываемая ретровирусом саркомы Рауса, к которому восприимчивы как птицы разных видов, так и млекопитающие, в частности, кролики, мыши, крысы, хомяки и приматы». О восприимчивости попугаев к саркоме Рауса пишет и В. А. Бакулин [1]: «Саркома Рауса в основном наблюдается у птиц в возрасте от нескольких месяцев до полутора лет. Восприимчивы куры, а также утки, гуси, цесарки, индейки, фазаны, перепела, попугаи, канарейки, совы, коршуны, аисты и другие птицы. В зависимости от клеточного состава саркоматозной неоплазмы различают кругло-, веретено- и полиморфноклеточные саркомы». Анализируя результаты нашего исследования в сопоставлении с данными источников информации, можно с высокой степенью вероятности предположить, что диагностированная у попугая полиморфноклеточная саркома является случаем саркомы Рауса. Следует отметить эффективность общей анестезии с использованием изофлурана в ходе оперативного лечения волнистого попугая.



Рис. 2. Пара попугаев. Справа больной самец



Рис. 3. Попугай во время операции



Рис. 4. Вес опухоли



Рис. 5. Вес попугая и опухоли

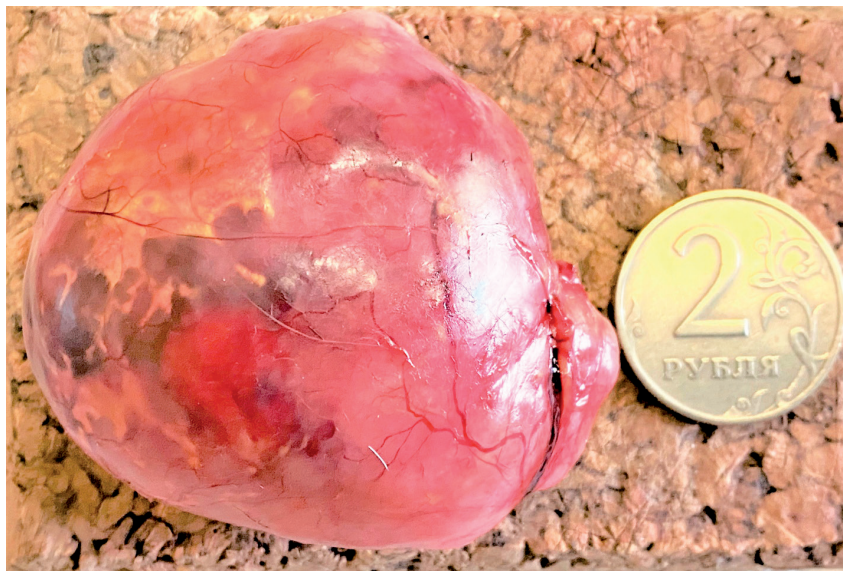


Рис. 6. Новообразование, вид с поверхности

Выводы

1. Отмечена эффективность общей анестезии с использованием изофлурана в ходе оперативного лечения волнистого попугая.

2. Новообразование, удаленное у попугая, определили как полиморфноклеточную саркому, которая относится к злокачественным опухолям волокнистой соединительной ткани.

3. Диагностированная у попугая полиморфноклеточная саркома, с высокой степенью вероятности, является случаем саркомы Рауса.

Список литературы

1. Бакулин В. А. Неоплазмы птиц // <https://www.agroyug.ru/news/id-32482>
2. Берлин А. З. Аппарат и способ ингаляционной анестезии / А. З. Берлин, А. Ю. Нечаев, Л. Л. Николаев, Ян Папулак // Патент на изобретение 2729943 С1, 13.08.2020. Заявка № 201119254 от 20.06.2019
3. Blood D. S. Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary / D. S. Blood, V. P. Studdert, C. C. Gay. Edinburgh; New York: Elsevier Saunders, 2007
4. Overview of Avian Geriatric Disorders with Emphasis on Psittacines // <https://beautyofbirds.com/geriatricbirds/>
5. The Parrot Society UK Parrot Information / Veterinary Advice / Common Diseases of Parrots // <https://www.theparrotsocietyuk.org/site/index.php/parrot-information/veterinary-advice/common-diseases-of-parrots/>
6. <https://chirik.info/zdorove-popugaya/u-volnistogo-popugaya-opuhol-vnizu-zhivota.html>
7. <https://mirpopugayev.ru/uhod/bolezni/lipoma?ysclid=llf4qrh6te935089181>



Рис. 7. Новообразование, вид на разрезе

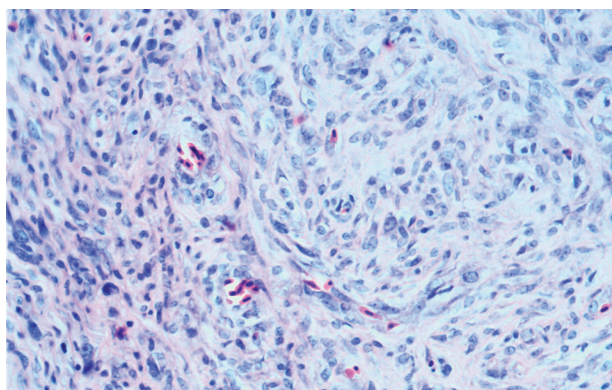


Рис. 8. Полиморфноклеточная саркома. Гистологический срез. Увеличение $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином

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

95 ЛЕТ! ПОЗДРАВЛЯЕМ ЮБИЛЯРА ЗАСЛУЖЕННОГО ДЕЯТЕЛЯ НАУКИ РФ, ДОКТОРА ВЕТЕРИНАРНЫХ НАУК, ПРОФЕССОРА ГЕННАДИЯ АЛЕКСАНДРОВИЧА КОНОНОВА



Фото 1. Кононов Геннадий Александрович



Фото 2. Семья Кононовых, 1952 г.



Пройден жизненный путь – 95 лет, достойный уважения и восхищения.

Геннадий Александрович родился 29 декабря 1928 года на станции Леонтьево Вышне-Волоцкого района Калининской области в семье железнодорожника.

Детство и школьные годы выпали на трудное время – довоенные и военные годы. Большая семья, школа за 7 километров от дома, работа по дому.

С детства формировались основные качества характера – трудолюбие, ответственность и порядочность.

1946–1951 – студент Ленинградского ветеринарного института. После его окончания – 4 года работы на производстве: заведующий центральным зооветучастком и районной ветеринарной лечебницей в селе Медное Калининской области (1951–1953), затем был переведен на должность старшего ветеринарного врача Медновской МТС (1953–1954).

1954–1957 – аспирант Ленинградского ветеринарного института. В 1958 году защита диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук.

С 1957 года – ассистент, а с 1962 – доцент кафедры акушерства, гинекологии и искусственного осеменения животных ЛВИ.

Постоянно совершенствуя свое педагогическое мастерство, Г. А. Кононов продолжает активную научно-исследовательскую работу, которая посвящена разработке методов диагностики нарушений репродуктивной системы и лечению животных с послеродовой патологией.

Фото 3. В годы аспирантуры, 1956 г. Заслуженный деятель науки РСФСР, доктор ветеринарных наук, профессор Роберт Адольфович Цион с аспирантами
Слева направо:

1-й ряд — Ц. Сугаррачаа, гражданин МНР, И. М. Носов, Пик Ден Нок, гражданин КНДР, Г. А. Кононов;
2-й ряд — В. М. Подкопаев, В. А. Забродин, Е. Дзимжинекин, гражданин ПНР.

В 1968 году, по результатам научных исследований Геннадий Александрович защитил докторскую диссертацию по теме: «Биопсия эндометрия и ее значение для дифференциальной диагностики и терапии бесплодия у коров» на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук.

Трудолюбие, высокая работоспособность, активность, инициативность, настойчивость, коммуникабельность, умение работать в коллективе способствовали быстрому профессиональному росту.

13 января 1969 года Г. А. Кононов был избран на должность профессора кафедры акушерства, гинекологии и искусственного осеменения животных.

Высокий уровень педагогического мастерства, эрудиция, незаурядные организаторские способности, принципиальность, ответственность, честность, требовательность к себе, активная жизненная позиция удачно выделяют Г. А. Кононова среди ведущих ученых страны.

Приказом Министра сельского хозяйства СССР от 13.11.1969 Г. А. Кононов назначен ректором Ленинградского ветеринарного института.

За период работы в должности ректора (1969–1976) было сделано:

- на территории института установлен памятник студентам и преподавателям, погибшим в Великую Отечественную войну 1941–1945 гг., торжественное открытие памятника состоялось 9 мая 1970 года,

- разработан и утвержден коллегией МСХ СССР (с последующим принятием постановления Совета министров СССР) план строительства и реконструкции зданий института и учебно-опытного хозяйства института «Вартемяги»,

- значительно укреплена материально-техническая база института,

- увеличен прием студентов на дневное отделение с 175 до 400 человек,

- открыто заочное отделение ветеринарного факультета,

- открыт факультет общественных профессий;



Фото 4. Профессор Г. А. Кононов в окружении аспирантов, 1981 г. Слева направо: 1-й ряд – И. Д. Кононенко, Н. Х. Федосова; 2-й ряд – А. В. Муруев, Круус Самбрано Армандо, гражд. Республики Куба, Цедендорж Лусанаравын, гражд. МНР, Н. А. Андреев; 3-й ряд – С. А. Рассадников, В. Г. Турков, В. И. Кротов, В. Б. Сеоев.

- значительно увеличен прием слушателей на факультет повышения квалификации новых специальностей,

- частично надстроен корпус для клинических дисциплин,

- переоборудована под газ котельная института,

- построены два 15-этажных общежития для студентов на улице Олеко Дундича,

- построены 30 квартир для сотрудников института,

- значительно расширены учебные площади института за счет полученного в аренду 4-этажного здания,

- начато строительство 6-этажного учебного корпуса на Лиговском проспекте,

- в учебный план включено обязательное получение студентами водительского удостоверения.

С 1971 по 1984 годы – заведующий кафедрой акушерства, гинекологии и искусственного осеменения животных Ленинградского ветеринарного института.

Административную деятельность удачно сочетает с педагогической и научно-исследовательской работой, большое внимание уделяет вопросам подготовки научных и педагогических кадров.

В 1983 г. был издан приказ МСХ СССР за подписью зам. министра Л. Н. Кузнецова, который обязывал создать в стране 124

Центра и пункта по трансплантации эмбрионов. Во исполнение данного приказа фактически было организовано 4 Центра по трансплантации эмбрионов: в Москве, Ленинграде, на Украине и в Белоруссии. При Всесоюзном научно-исследовательском институте разведения и генетики животных (ВНИИРГЖ) (г. Пушкин) был создан отдел биологии размножения и трансплантации эмбрионов, в который вошли три лаборатории: трансплантации эмбрионов; искусственного осеменения животных и лаборатория эндокринологии.

В 1984 г. распоряжением МСХ СССР Г. А. Кононов был переведен из Ленинградского ветеринарного института в ВНИИРГЖ на должность заведующего вновь организованного отдела биологии размножения и трансплантации эмбрионов для руководства работами по проблеме трансплантации эмбрионов. В отделе работало много талантливой молодежи. Все были одержимы выполнением поставленных перед ними задач.

Под руководством профессора Г. А. Кононова:

- разработаны теоретические и практические вопросы трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота;

- создан Центр трансплантации эмбрионов, объединяющий племенные заводы Ленинградской области («Петровский», «Гражданский», «Рассвет», «Раздолье», «Лесное» и другие);

- создан банк эмбрионов, насчитывающий более 2000 эмбрионов от генетически ценных коров молочных пород. Фактически это несколько стад высокопродуктивных животных.

В сентябре 2000 года Г. А. Кононов переведен на должность профессора кафедры акушерства и биотехники размножения животных Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины.

С 2004 года в течение 11 лет (по 2014 г.) Г.А. Кононов работает в системе государственной ветеринарной службы Санкт-Петербурга.

С 2015 по 2022 год – в Федеральной государственной ветеринарной службе (ФГБУ

«Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория»).

Геннадий Александрович Кононов является известным в мире ученым в области биологии размножения сельскохозяйственных животных, сформировавшим отечественную школу специалистов по ветеринарному акушерству и биотехнике размножения животных. По результатам научных исследований опубликовано более 220 научных и учебно-методических работ, среди которых учебники, учебные пособия, справочники, рекомендации производству, научные и биографические статьи о выдающихся ученых страны.

В 1977 году под редакцией Г. А. Кононова издательством «Колос» опубликован (тираж 60 000 экземпляров) учебник для студентов вузов «Ветеринарное акушерство и гинекология».

Г. А. Кононов является инициатором и основоположником нового научного направления — изучения эндокринного баланса организма сельскохозяйственных животных в зависимости от состояния репродуктивной системы и развития патологии воспроизводительной функции.

Г. А. Кононовым впервые разработана методика биопсии эндометрия у коров, методы дифференциальной диагностики бесплодия, впервые изучено прижизненное состояние эндометрия у коров, анатомо-гистологическое строение половой системы самок северного оленя, изучены этиология и патогенез бурситов у крупного рогатого скота, впервые проведена апробация лечебно-переносного доильного аппарата и разработаны рекомендации по профилактике и лечению мастита у коров, разработана методика диагностики ранней стельности по уровню прогестерона в сыворотке крови, изучен механизм действия гонадолиберина и простагландинов группы Ф 2-альфа на эндокринную регуляцию репродуктивной функции у коров и телок, впервые разработаны методы гормональной терапии коров при кистозном перерождении яичников, разработаны методы нормализации и регулирования репродуктивной функции у коров, внесен существенный вклад в разра-

ботку и внедрение метода трансплантации эмбрионов в практику племенных хозяйств и создания банка эмбрионов от базовых пород крупного рогатого скота.

В многочисленных научных работах сотрудниками кафедры и отдела, докторантами и аспирантами был решен целый комплекс вопросов по глубокому изучению регуляторного механизма физиологии и патологии репродуктивной функции у сельскохозяйственных животных, установлена целесообразность и эффективность использования новых биотехнологических методов регулирования и коррекции воспроизводительной функции у высокопродуктивных коров в условиях товарных ферм и крупных животноводческих комплексов.

Г. А. Кононов успешно сочетает качества выдающегося организатора, хозяйственника, педагога и талантливого ученого.

Под руководством Г. А. Кононова подготовлены и по результатам завершенных научных разработок успешно защищены 3 диссертации на соискание ученой степени доктора наук и 17 диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе гражданами зарубежных стран (гражданин республики Куба Круз Самбрано Армандо и гражданин Монголии Цедендорж Лусанаравин, впоследствии — глава управления ветеринарии министерства сельского хозяйства Монголии). Ученики Г. А. Кононова успешно работают на руководящих должностях в образовательных и научно-исследовательских учреждениях России и зарубежных стран.

С именем Г. А. Кононова, многолетней организаторской, педагогической и исследовательской деятельностью по праву связывают развитие новых, перспективных направлений научной мысли, формирование авторитетной школы, воспитавшей целую плеяду талантливых ветеринарных врачей — ученых и практиков.

Работы в области биотехники размножения животных, выполненные под руководством Г. А. Кононова, обогатили мировую науку результатами первостепенной значимости.

Как педагог и наставник Г. А. Кононов внес неопределимый вклад в воспитание нового поколения российских специалистов в области ветеринарной медицины.

Творческий подход к работе Г. А. Кононов успешно совмещает с верностью собственным принципам и убеждениям. Все это результат большого таланта, трудолюбия и ответственности, благодаря чему развиваются новые научные направления в области ветеринарии.

Профессионализм, широкая эрудиция, необычайное трудолюбие, мудрость, самоотверженное служение ветеринарному делу, высокая мера ответственности, твердость в отстаивании своих научных взглядов, и широта мышления снискали заслуженное уважение коллег и друзей.

За большой вклад в развитие ветеринарной науки и подготовку кадров для агропромышленного комплекса Г. А. Кононов награжден:

- орденом Трудового Красного Знамени,
- медалью «За доблестный труд»,
- знаком «Отличник социалистического сельского хозяйства»,
- знаком «За отличные успехи в работе»,
- юбилейными медалями к 100-летию со дня рождения И. И. Иванова и С. Н. Вышелесского,
- медалью «В память 300-летия Санкт-Петербурга»,
- за многолетний добросовестный труд — медалью «Ветеран труда»,
- медалью «За заслуги в области ветеринарии»,
- почетными грамотами Министерства высшего и среднего специального образования,
- является лауреатом ВВЦ,
- основные научные разработки удостоены золотой медали ВВЦ.

За работы в области трансплантации эмбрионов, организацию и внедрение в практику племенных хозяйств метода трансплантации эмбрионов Г. А. Кононову в 1995 году присвоено почетное звание Заслуженный деятель науки Российской Федерации.

Г. А. Кононова неоднократно избирали депутатом Московского районного Совета депутатов трудящихся г. Ленинграда, освобожденным секретарем партийного бюро Ленинградского ветеринарного института. В течение многих лет Г. А. Кононов работал в составе методического совета управления высшего и среднего специального образования МСХ СССР, председателем диссертационных советов Ленинградского ветеринарного института, членом диссертационных советов Ордена Трудового Красного Знамени Московской ветеринарной академии имени академика К. И. Скрябина, Всероссийского НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных.

Уважаемый Геннадий Александрович, вы прошли большой, достойный глубокого уважения жизненный путь. И каждый его этап неразрывно связан с историей нашей страны.

Все, кому посчастливилось учиться под вашим началом, сохранили безграничное уважение и признательность к вам – мудрому педагогу, серьезному академическому ученому и руководителю, внесшему огромный вклад в развитие высшего профессионального образования, ветеринарной науки и практики.

Отрадно, что и сегодня вы по-прежнему ведете активный образ жизни, много делаете для продолжения замечательных традиций, которыми всегда славилась отечественная ветеринарная наука и практика, подаете замечательный пример верности избранному пути. Ваш жизненный путь – яркий пример беззаветного служения ветеринарии и Отечеству.

Дорогой Геннадий Александрович, сердечно поздравляем вас с 95-летним юбилеем, искренне желаем вам крепкого здоровья, хороших и верных друзей, готовых разделить с вами не только радости, но и трудности, без которых жизнь не обходится. Желаем бодрости духа, душевной молодости, долгих лет жизни, благополучия, прекрасного настроения, крепкого здоровья и всего самого доброго!

С благодарностью и уважением, ваши ученики и коллеги по совместной работе



Фото 5. Хобби – охота. Г. А. Кононов является почетным членом Ленинградского общества охотников и рыболовов.



215 ЛЕТ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОМУ ГОСУДАРСТВЕННОМУ УНИВЕРСИТЕТУ
ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины (СПбГУВМ) – старейшее учебное заведение и Родина высшего ветеринарного образования в России, которому в 2023 году исполнилось 215 лет. Университет предоставляет высококачественное образование для будущих ветеринарных специалистов, которые готовы стать лидерами в своей профессии.

История вуза неотделима от становления и развития системы ветеринарного образования. За время своего существования учебное заведение претерпело неоднократные преобразования. Ветеринарный университет восходит к образованному в 1808 году ветеринарному отделению в рамках Императорской медико-хирургической академии. С 1924 года вуз стал называться Ленинградским ветеринарным институтом. В 1991 г. институт был переименован в Санкт-Петербургский ветеринарный институт, а в 1994 г. – в Санкт-Петербургскую государственную академию. С 2020 года академия переименована в Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины. Являясь одним из основных образовательных институтов общества, университет является носителем фундаментальных традиций и ценностей, которые выполняют не только образовательные и научно-исследовательские, но и воспитательные функции.

27 сентября 2023 г. состоялась торжественная церемония и праздничный концерт в честь юбилея СПбГУВМ. Мероприятие проходило на большой сцене концертного зала «Колизей Арена».



Праздничный концерт стал не только возможностью отметить знаменательную дату, но также показать единство ветеринарной науки и творческого таланта, так как театрализованное представление было подготовлено студентами СПбГУВМ.

На праздничном концерте прозвучало поздравление от министра сельского хозяйства Дмитрия Николаевича Патрушева. В нем он отметил роль университета в подготовке высококвалифицированных кадров для АПК и пожелал новых достижений на благо страны.

С презентацией и речью выступил ректор, доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАН Кирилл Владимирович Племяшов. В ней он рассказал об истории и достижениях за прошедшие годы, а также поблагодарил промышленных партнеров нашего университета.

С речью выступили вице-губернатор Санкт-Петербурга Борис Михайлович Пиотровский, депутат законодательного собрания Санкт-Петербурга Андрей Алексеевич Рябоконь, первый заместитель председателя комитета по на-

уке и высшей школе Санкт-Петербурга Ирина Юрьевна Ганус, заместитель начальника управления ветеринарии Санкт-Петербурга Анжела Анатольевна Лопатинская. Они наградили преподавателей и сотрудников университета почетными наградами федерального значения.



С поздравлениями выступили: представитель ветеранов университета Лариса Евгеньевна Хабарова, начальник управления ветеринарии Ленинградской области Леонид Николаевич Кротов, начальник отдела государственной службы и кадров Северо-Западного межрегионального управления Россельхознадзора Людмила Геннадьевна Подкопаева.

Председатель МОО «Совет ректоров вузов Санкт-Петербурга и Ленинградской области», ректор Санкт-Петербургского государственного университета промышленных технологий и дизайна Алексей Вячеславович Демидов пожелал успехов в развитии современного высшего ветеринарного образования.

С поздравлениями и подарками на сцену вышли: заместитель директора Санкт-Петербургского филиала Россельхозбанка, представитель попечительского совета Иван Александрович Власенко, ректор Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К. И. Скрябина Сергей Владимирович Позябин, заместитель председателя комитета ветеринарии Новгородской области Евгения Петровна Данилова, кандидат биологических наук, Заслуженный ветеринарный врач Российской Федерации, вице-президент Российской ассоциации практикующих ветеринарных врачей Валерий Валентинович Тиханин, председатель Ленинградской областной организации профсоюза работников АПК РФ Юрий Иванович Мальченко. На мероприятии также присутствовали представители аграрных вузов России.

Выпускники университета – это квалифицированные специалисты, которые ценятся как в России, так и за ее пределами. Они успешно работают в различных областях ветеринарии – клиниках, хозяйствах и агропромышленных комплексах, применяют свои знания и навыки для улучшения здоровья и продуктивности животных.





Необходимо отметить что, будучи еще студентами, ребята всегда активно принимали участие в культурно-массовых мероприятиях и общественной деятельности нашего университета, успешно совмещали учебу и занятия в самодельных творческих коллективах. Социально-культурная среда вуза способствует формированию позитивного восприятия атмосферы высшего учебного заведения, а также позитивному настрою обучающихся на будущую профессиональную деятельность. Кроме того, участие в социально-культурных мероприятиях университета способствует эффективному развитию коммуникативных качеств у студентов, которые будут необходимы в будущей профессии и карьерном росте.

Ученые продолжают развивать ветеринарную науку и внедрять новые методы лечения и профилактики болезней животных. Огромную роль в научно-исследовательской деятельности университета играют научные школы. Они работают над различными аспектами ветеринарии, способствуя развитию научных знаний и подготовке высококвалифицированных специалистов в области ветеринарии.

В вузе регулярно проводятся международные научные конференции, позволяющие ученым представлять свои исследования и получать обратную связь от коллег, обновлять знания и знакомиться с последними достижениями науки и практики.

Необходимо отметить, что ежегодно студенты СПбГУВМ готовят творческие концерты с вокальными, театральными и танцевальными номерами для всех гостей научных конференций. Это стало доброй и любимой традицией.

Несмотря на быстрое развитие и совершенствование системы образования, университетские традиции по-прежнему считаются важнейшим источником стабильности не только образовательного, но и воспитательного процесса.



Поздравляем Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины с юбилеем! СПбГУВМ – это место, где рождаются новые идеи и будущее ветеринарной науки!

Педагог-организатор СПбГУВМ
Наталья Михайловна Степанова

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОЛОГИИ» ЗА 2023 ГОД

АНАТОМИЯ / ANATOMY

Анатомия сердца и селезенки кабана (*Sus scrofa*) – Чиркова Е.Н., Завалеева С.М., Садыкова Н.Н., Автаева Е.Н., Седегов С.В. – 2023, 2 (58), с. 16

*The boar heart and spleen anatomy (*Sus scrofa*) – Chirkova E.N., Zavaleeva S.M., Sadykova N.N., Avtaeva E.N., Sedegov S.V. – 2023, 2 (58), p. 16*

В данной работе представлены результаты морфологического исследования сердца и селезенки кабана. По результатам исследования ограниченной выборки выявлено, что сердце конусовидной формы, расположено в грудной полости, между долями легких, на уровне от третьего до шестого ребра. Гребешковые мышцы (первого и второго порядка) формируют внутреннюю поверхность ушек предсердий (правого и левого). В ушке правого насчитывается семь гребешковых мышц первого порядка и 19 второго. В ушке левого – три и пять, соответственно. В ушке правого предсердия гребешковых мышц второго порядка больше, но по ширине они меньше. Селезенка у кабана прилегает к большой кривизне желудка (находится в левом подреберье). Она граничит с печенью, желудком, поджелудочной железой, левой почкой. На висцеральной поверхности находится гребень, по которому проходят ворота. Орган удлинённой формы с закругленными краями, упругой консистенции, темно-красного цвета. Масса равна $1339,4 \pm 40,27$ г (относительная – 1,79 %). Длинной – $390 \pm 1,3$ мм, шириной – $92 \pm 0,7$ мм, толщиной – $14 \pm 0,5$ мм.

This work presents the results of boar heart and spleen scientific research. The study revealed that the heart is of cone shape, located in the thoracic cavity, between the lobes of the lungs, at the third to sixth rib. The scallop muscles (first and second order) form the inner surface of the atria auricles (right and left). In the ear of the right one there are seven scallops of the first order and 19 second. In the ear of the left there are three and five, respectively. There are more scallop muscles of the second order in the right atria auricles, but they are smaller in width. The boar spleen is attached to the large curvature of the stomach (located in the left abdomen). It borders on the liver, stomach, pancreas, left kidney. On the visceral surface there is a comb with the gate. An elongated organ has rounded edges with elastic consistency, of dark red colour. The mass is 1339.4 ± 40.27 g (relative – 1.79%). The length is 390 ± 1.3 mm, width – 92 ± 0.7 mm, thickness – 14 ± 0.5 mm.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ / BIOLOGICAL CHEMISTRY

Антиоксидантный статус крупного рогатого скота абердин-ангусской породы – Киреев И.В., Оробец В.А. – 2023, 3 (59), с. 3

Antioxidant status of Aberdeen angus cattle – Kireev I.V., Orobets V.A. – 2023, 3 (59), p. 3

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.

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.

ВЕТЕРИНАРНАЯ ХИРУРГИЯ / VETERINARY SURGERY

Случай саркомы брюшной стенки у волнистого попугая – Нечаев А.Ю., Кудряшов А.А. – 2023, 4 (60), с. 90
A case of abdominal wall sarcoma in a budgie – Nechaev A.Yu., Kudriashov A.A. – 2023, 4 (60), p. 90

Цель работы – провести оперативное лечение волнистого попугая и определить клеточную принадлежность новообразования. У птицы спереди в области брюшной стенки в течение 6 месяцев выросло крупное новообразование, которое было удалено в ходе хирургической операции. Отмечена эффективность общей анестезии с использованием изофлурана в ходе оперативного лечения волнистого попугая. Новообразование, удаленное у попугая, определили как полиморфноклеточную саркому, которая относится к злокачественным опухолям волокнистой соединительной ткани. Диагностированная у попугая полиморфно-клеточная саркома, с высокой степенью вероятности, является случаем саркомы Рауса.

The purpose of the work is to carry out surgical treatment of the budgie and determine the cellular affiliation of the neoplasm. A large neoplasm grew in the front of the bird in the abdominal wall area within 6 months, which was removed during surgery. The effectiveness of general anesthesia using isoflurane during the surgical treatment of budgerigars was noted. The neoplasm removed from the parrot was identified as polymorphocellular sarcoma, which refers to malignant tumors of fibrous connective tissue. The polymorphocellular sarcoma diagnosed in the budgie, with a high degree of probability, is a case of Rous sarcoma.

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА / VETERINARY AND SANITARY EXPERTISE

Изменение жирно-кислотного состава молока коровьего в весенне-зимний период – Заболотных М.В., Баркунова К.А. – 2023, 1 (57), с. 46

Changes in the fatty acid composition of the cow's milk in the spring and winter period – Zabolotnykh M.V., Barkunova K.A. – 2023, 1 (57), p. 46

Целью работы стало установление зависимости изменения жирно-кислотного состава коровьего молока относительно времени года в Омской области. Климат Омской области относится к континентальному, характеризуется четырьмя четко выраженными временами года. Концентрация многих компонентов и физико-химические свойства молока различаются в течение года в разной степени. В результате проведенных исследований были обнаружены значительные сезонные изменения в ЖКС коровьего молока. Наиболее разительные колебания были зафиксированы в уровне полиненасыщенных жирных кислот, что очевидно связано с введением зеленого корма.

The aim of the work was to establish the dependence of changes in the fatty acid composition of cow's milk relative to the season in the Omsk region. The climate of the Omsk region is continental, characterized by four distinct seasons. The concentration of many components and the physicochemical properties of milk vary throughout the year to varying degrees. As a result of the studies, significant seasonal changes in the FFA of cow's milk were found. The most striking fluctuations were recorded in the level of polyunsaturated fatty acids, which is obviously associated with the introduction of green fodder.

Ветеринарно-санитарная оценка леща при паразитарных заболеваниях – Федоров Н.М. – 2023, 3 (59), с. 88

Veterinary and sanitary assessment of bream with parasitic diseases – Fedorov N.M. – 2023, 3 (59), p. 88

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 товарной оценки, показана утилизация или промышленная переработка.

*The conducted studies make it possible to exclude the negative impact of the studied mono- and mixinvasions 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.*

ВИРУСОЛОГИЯ / VIRUSOLOGY

Современные молекулярно-биологические методы исследования возбудителя злокачественной катаральной горячки – Доронин М.И., Малыгин М.П., Михалишин Д.В., Мороз Н.В., Борисов А.В., Чвала И.А. – 2023, 3 (59), с. 20

Modern molecular-biological methods for investigation of the causer of malignant catarrhal fever – Doronin M.I., Malygin M.P., Mikhailishin D.V., Moroz N.V., Borisov A.V., Chvala I.A. – 2023, 3 (59), p. 20

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 sporadic disease, 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 исследований герпесвирусов.

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.

Параметры культивирования изолята вируса оспы верблюдов – Сейсенбаева М. С., Наханова Г. Д., Оразымбетова Н. К., Умуралиев Б. К., Нурабаев С. Ш., Абеуов Х. Б., Жугунисов К. Д., Кондибаева Ж. Б., Кошеметов Ж. К. – 2023, 3 (59), с. 32

Cultivation parameters of the camel pox virus isolate – 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. – 2023, 3 (59), p. 32

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.

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.

ГЕНЕТИКА / GENETICS

Наследственные патологии собак, связанные с пигментацией – Барабанова Л.В., Марков А.В. – 2023, 2 (58), с. 20

Hereditary dog pathology associated with pigmentation – Barabanova L.V., Markov A.V. – 2023, 2 (58), p. 20

Одним из наиболее плодотворно развивающихся направлений частной генетики собаки является изучение генетического контроля окрасов. На сегодняшний день известно 15 генов, играющих ключевую роль в формировании фенотипа собак. Показано, что мутации ряда генов, участвующих в пигментации собак, одновременно оказывают серьезное влияние на здоровье животных и связаны со слуховыми, зрительными и неврологическими нарушениями. В этой связи изучение генетических основ пигментации домашних собак представляет несомненный интерес для селекции и ветеринарии с целью прогнозирования риска наследственной патологии при разведении различных пород.

The study of genetic color control is one of the most successful areas in the dog genetics development. To date, 15 genes are known to play a key role in the formation of the phenotype of dogs. It has been shown that different mutations of a number of genes involved in dog pigmentation having a serious impact on animal health at the same time and are associated with auditory, visual and neurological disorders. In this regard, the study of the genetic foundations of pigmentation of domestic dogs is of undoubted interest for breeding and veterinary medicine in order to predict the risk of hereditary pathology in the breeding of various breeds.

ГИСТОЛОГИЯ / HISTOLOGY

Гистоморфологические изменения легочной ткани у телят при катаральной неспецифической бронхопневмонии – Пограновский С.Н., Прусаков А.В., Яшин А.В. – 2023, 3 (59), с. 7

Histomorphological changes in lung tissue in calves with catarrhal nonspecific bronchopneumonia – Pogranovsky S.N., Prusakov A.V., Yashin A.V. – 2023, 3 (59), p. 7

Среди патологий молодняка, имеющих незаразную этиологию, наиболее часто встречается катаральная бронхопневмония. Грамотная 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.

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 Alcian 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.

Оценка биохимических параметров крови крыс при болезнях почек – Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Козичина А.И. – 2023, 2 (58), с. 60

Blood biochemical parameters in rats with kidney diseases – Karpenko L.Yu., Bakhta A.A., Kozitsyna A.I. – 2023, 2 (58), p. 60

Ветеринарному специалисту, занимающемуся диагностикой и лечением болезней грызунов, необычайно важно рационально оценивать выбор диагностических показателей из-за малого количества диагностического материала. Цель представленного исследования – установить наиболее значимые и частые паттерны изменений биохимических показателей крови крыс с целью облегчения и рационализации процесса диагностики и контроля болезни почек у крыс. Был проведен анализ биохимических показателей крови 11 декоративных крыс, содержащихся в домашних условиях, с установленной хронической болезнью почек. Выявлено, что наиболее диагностически значимыми параметрами биохимического исследования крови при диагностике болезни почек у крыс наиболее вероятно являются уровни мочевины, креатинина, общего белка, альбумина и калия.

It is extremely important for a veterinary specialist involved in the diagnosis and treatment of rodent diseases to rationally evaluate the choice of diagnostic indicators due to the small amount of diagnostic material. The purpose of the presented study is to establish the most significant and frequent patterns of changes in the biochemical parameters of rat blood in order to facilitate and streamline the process of diagnosis and control of kidney disease in rats. The analysis of biochemical blood parameters of 11 decorative rats kept at home with established chronic kidney disease was carried out. It was revealed that the most diagnostically significant parameters of biochemical blood testing in the diagnosis of kidney disease in rats are most likely the levels of urea, creatinine, total protein, albumin and potassium.

Разработка тест-системы для диагностики вируса чумы мелких жвачных животных методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени – Кожабергенов Н.С., Адилова Г.С., Шыныбекова Г.О., Абаева М.Р., Султанкулова К.Т. – 2023, 3 (59), с. 60

Development of a test system for the diagnosis of peste des petits ruminants virus by real-time rt-pcr – Kozhabergenov N.S., Adilova G.S., Shynybekova G.O., Abayeva M.R., Sultankulova K.T. – 2023, 3 (59), p. 60

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.

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.

Диагностическая тест-система для выявления антител к структурным белкам вируса ящура генотипа Sat2/VII в жидкофазном блокирующем варианте ИФА – Луговская Н.Н., Силантьева Е.А., Михалишин Д.В., Мороз Н.В., Малыгин М.П., Харитонов А.А., Доронин М.И., Гочмурадов Ы.М., Оковытая Т.В., Борисов А.В. – 2023, 4 (60), с. 43

Diagnostic test-system for detection of antibodies to structural proteins of FMD virus genotype Sat2/VII in the liquid-phase blocking elisa – Lugovskaya N.N., Silantyeva E.A., Mikhailishin D.V., Moroz N.V., Malygin M.P., Kharitonova A.A., Gochmuradov Y.M., Doronin M.I., Okovytaya T.V., Borisov A.V. – 2023, 4 (60), p. 43

Разработана диагностическая тест-система для определения антител к структурным белкам вируса ящура генотипа SAT2/VII на основе жидкофазного блокирующего варианта ИФА. Разработка включала изготовление и оценку качества следующих компонентов реакции: антигена вируса ящура, сенсibiliзирующих (улавливающих) и детекторных антител, контрольных образцов сыворотки крови; определение рабочих разведений специфических компонентов с их последующей лиофилизацией. Были проведены испытания и анализ пригодности набора для определения антител к структурным белкам вируса ящура серотипа SAT 2. Данная тест-система позволяла обнаруживать специфические антитела к вирусу ящура серотипа SAT 2 в сыворотке крови вакцинированных или переболевших свиней и крупного рогатого скота. В тестовую панель входили 276 образцов сыворотки крови от иммунизированного моно- или поливалентной противоящурной вакциной (типы А, О, Asia 1 и/или SAT 1, SAT 2, SAT 3) и не вакцинированного против ящура крупного рогатого скота разных возрастных групп; экспериментальные сыворотки крови, отобранные от вакцинированных или зараженных ящуром серотипа SAT 2 свиней и крупного рогатого скота до и после проведения опыта. На основе статистического анализа результатов ИФА определили диагностические характеристики нового набора по данной выборке образцов: чувствительность – 96,84 %, специфичность – 97,79 %, точность – 97,46 %. Полученное значение к-критерия 0,944 свидетельствовало о высокой степени согласованности результатов с диагностическим статусом животных.

A diagnostic test system for the detection of antibodies to structural proteins of the FMDV genotype SAT2/VII based on a liquid-phase blocking ELISA variant has been developed. The development included the manufacture and quality assessment of the following reaction components: FMDV antigen, sensitizing (catching) and detection antibodies, control samples of blood serum; determination of working dilutions of specific components with their subsequent lyophilization. Tests and analysis of the suitability of the kit for the detection of antibodies to structural proteins of foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2 were carried out. This test system made it possible to detect specific antibodies to foot-and-mouth disease virus serotype SAT 2 in the blood serum of vaccinated or recovered pigs and cattle. The test panel included 276 blood serum samples from immunized with mono- or polyvalent FMD vaccine (types A, O, Asia 1 and/or SAT 1, SAT 2, SAT 3) and not vaccinated against FMD cattle of different age groups; experimental blood sera taken from pigs and cattle vaccinated or infected with FMD serotype SAT 2 before and after the experiment. Based on the statistical analysis of the ELISA results, the diagnostic characteristics of the new set for this set of samples were determined: sensitivity – 96.84 %, specificity – 97.79 %, accuracy – 97.46 %. The obtained k -criterion value of 0.944 indicated a high degree of agreement between the results and the diagnostic status of the animals.

Тест-система опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса методом ОТ-ПЦР-РВ в сырье для изготовления культуральных вакцин – Малыгин М.П., Доронин М.И. – 2023, 4 (60), с. 53

Test system for the indirect determination of the titer of infectious activity of alpha-coronavirus by RV-RT-PCR in raw materials for the manufacture of culture vaccines – Malygin M.P., Doronin M.I. – 2023, 4 (60), p. 53

В данной статье отражены сведения о разработке и применении тест-системы опосредованного определения титра инфекционной активности альфа-коронавируса на основе обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в сырье для изготовления культуральных вакцин. На основе анализа аминокислотной последовательности матричного белка возбудителя альфа-коронавирусной инфекции разработаны дизайны прямого праймера CCoV RICH-T-F, обратного праймера CCoV RICH-T-R и флуоресцирующего зонда CCoV RICH-T-P для создания тест-системы. Сконструирован вектор назначения pJet1.2sfGFP-CCoV на основе плазмиды pJet1.2sfGFP и целевого участка кДНК альфа-коронавируса (фрагмент М-гена в позициях 26355...26453 п. н.) с применением технологии высокопроцессивного клонирования Golden Gate и эндонуклеазы рестрикции BsaI класса II S. В результате трансфекции полученной плазмидой клеток чувствительной линии почки кошки Крэнделла Риса CRFK *in vitro* создан положительный контрольный образец. Зависимость между пороговым циклом амплификации и титром инфекционной активности альфа-коронавируса в сырье для вакцин представлена в виде логарифмической функции: $\lg T_{\text{CCoV}} = -0,2998 \times C_t + 10,491$ с эффективностью реакции амплификации 99,43 % и достоверностью аппроксимации – 0,9991. Данные, полученные с помощью разработанной тест-системы, коррелировали с результатами метода титрования в культуре клеток на 99,2–100,0 % для 8,0–6,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,9–99,2 % для 5,9–4,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 98,8–99,1 % для 3,9–1,6 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,5–99,1 % для 1,5–1,0 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96), на 97,0–98,2 % для 0,9–0,5 lg ТЦД₅₀/см³ (n=96). Аналитическая чувствительность разработанной тест-системы составила не менее 0,5 lg ТЦД₅₀/см³ с достоверностью результатов исследования не менее 97,0 %. В 95 %-ном доверительном интервале диагностическая чувствительность составила 99,12–100,00 %, диагностическая специфичность – 98,03–100 %, k -критерий – 1,000.

*This article reflects information on the development and application of a test system for indirect determination of the titer of infectious activity of alpha-coronavirus based on RV RT PCR in raw materials for the manufacture of cultural vaccines. Based on the analysis of the amino acid sequence of the matrix protein of the causative agent of alpha-coronavirus infection, the forward primer CCoV RICH-T-F, the reverse primer CCoV RICH-T-R and the fluorescent probe CCoV RICH-T-P were developed for the study. The pJet1.2sfGFP-CCoV destination vector was constructed based on the pJet1.2sfGFP plasmid, the target region of the alphacoronavirus cDNA (the M-RNA gene fragment at positions 26355–26453 nb) using the Golden Gate high-process cloning technology and BsaI class II S restriction endonuclease. Endell Rice CRFK *in vitro* generated a positive control sample with the resulting plasmid. The relationship between the threshold amplification cycle and the titer of infectious activity of alphacoronavirus in vaccine raw materials is presented as a logarithmic function: $\lg T_{\text{CCoV}} = -0.2998 \times C_t + 10.491$ with an efficiency of the amplification reaction of 99.43% and an approximation reliability of 0.9991. The data obtained using the developed test system correlated with the titration method in cell culture by 99.2–100.0 % for 8.0–6.0 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 98.9–99.2 % for 5.9–4.0 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 98.8–99.1 % for 3.9–1.6 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 97.5–99.1 % for 1.5–1.0 lg TCID₅₀/cm³ (n=96), by 97.0–98.2 % for 0.9–0.5 lg TCID₅₀/cm³ (n=96). The analytical sensitivity of the developed test system was at least 0.5 lg TCID₅₀/cm³ with the reliability of the study results at least 97.0 %. In the 95 % confidence interval, the diagnostic sensitivity was 99.12–100.00 %, the diagnostic specificity was 98.03–100 %, the kappa was 1.000.*

Современные методы индикации и дифференциации бактерий рода *Salmonella* (обзор) – Прунтова О.В., Шадрова Н.Б. – 2023, 4 (60), с. 61

Modern methods for Salmonella identification and differentiation (review) – Pruntova O.V., Shadrova N.B. – 2023, 4 (60), p. 61

В обзоре представлен анализ научных публикаций о современных методах выявления, дифференциации и количественного определения бактерий рода *Salmonella* в патологическом материале и продуктах животного происхождения. Бактерии рода *Salmonella* находятся на втором месте среди патогенов, вызывающих вспышки желудочно-кишечных инфекций у сельскохозяйственных животных и человека в Российской Федерации (РФ),

странах Европы и Северной Америки. В связи с этим быстрое обнаружение сальмонелл имеет решающее значение для предотвращения вспышек сальмонеллеза и минимизации случаев сальмонеллезоносительства. Выбор метода индикации и идентификации сальмонелл определяется целью исследования. Так при расследовании вспышек сальмонеллеза, с целью определения источника инфекции, путей передачи, установления родства между выявленными штаммами, выявления мутаций в популяции сальмонелл необходимо детальное изучение ферментативных, антигенных, патогенных, молекулярно-генетических и других свойств бактерий. Для этого в настоящее время применяют методы молекулярной гибридизации, полимеразную цепную реакцию, секвенирование и другие. Все методы наряду с несомненными достоинствами обладают и некоторыми недостатками. В последнее десятилетие исследователями разработаны альтернативные методы, основанные, в частности, на специфических биосенсорах. Все молекулярно-генетические методы позволяют выявлять различия генома сальмонелл, что важно для характеристики их популяций, выявления мутаций, приводящих к разным фенотипическим проявлениям (например, антибиотикорезистентности), установления родственных взаимосвязей между штаммами при выяснении причин вспышек сальмонеллеза. При анализе и систематизации сведений по методам индикации сальмонелл было показано, что в дополнение к вышеназванным, в последние годы были разработаны новые перспективные методы с использованием биосенсоров, которые в перспективе могут стать реальной альтернативой для быстрого выявления сальмонелл в патологическом материале и продукции животного происхождения.

Scientific publications on the development of modern methods for Salmonella detection, differentiation and quantification in pathological materials and products of animal origin were analyzed in the review. Salmonella are ranked the second among the pathogens causing gastrointestinal infections in livestock animals and in humans in the Russian Federation (RF), European and North American countries. Therefore, rapid Salmonella detection is of crucial importance for prevention of salmonellosis outbreaks and Salmonella-carrier status in livestock holdings and for consumer safety ensuring. The choice of methods to be used for Salmonella detection and identification depends on the aim of the study. Thus, investigation of salmonellosis outbreaks aimed at searching for the infection source, transmission routes, determination of the relationship between detected strains, detection of mutations in Salmonella populations requires detailed genotype study. The following methods are currently used for these purposes: molecular hybridization, restriction analysis, polymerase chain reaction, sequencing and others. All methods, along with their undoubted advantages, also have some drawbacks. Alternative methods based, in particular, on specific biosensors have been developed by researches in last decade. The review was aimed at analysis and systematization of scientific publication data on development of modern methods for Salmonella detection, differentiation and quantification in animal products. All directions in the research and development of new tests-systems for Salmonella detection, identification and differentiation in animal products are described in the paper. All molecular genetic methods allow detection of differences in Salmonella genome that is essential for the population characterization, detection of the mutations resulting in various phenotypic manifestations (for example, antimicrobial resistance), determination of the relationship between the strains during salmonellosis outbreak investigation aimed at searching for the outbreak causes. Analysis and systematization of the data on methods for Salmonella detection has showed that in addition to the abovementioned methods new promising methods using biosensors have been recently developed that in the future can become a potential alternative for the rapid and inexpensive Salmonella detection in pathological materials and animal products.

Ультразвуковая диагностика беременности и развития плода у альпак – Шумилин Ю.А. – 2023, 4 (60), с. 66
Ultrasound diagnostics of pregnancy and fetal development in alpacas – Shumilin Yu.A. – 2023, 4 (60), p. 66

Для своевременной диагностики беременности у альпак, правильной организации кормления и ухода за беременными животными первое УЗИ исследование проводится на 45 день после даты спаривания, второе на 80 день и заключительное на 315 день (по показаниям). Критериями беременности и правильного развития плода являются: гиперэхогенные структуры эмбриона, в которых в зависимости от срока беременности просматриваются очертания головы, конечностей, позвоночника, грудной клетки. Плод окружен достаточным количеством анэхогенной жидкости, хорошо заметны сердцебиение и подвижность – указывающие на жизнеспособность. Трансабдоминальное сканирование в стоячем положении животного обеспечивает оптимальный доступ, позволяет получить изображение хорошего качества и визуализировать матку.

For timely diagnosis of pregnancy in alpacas, proper organization of feeding and care of pregnant animals, the first ultrasound examination is carried out on the 45th day after the date of mating, the second on the 80th day and the final on the 315th day (according to indications). The criteria for pregnancy and proper fetal development are: hyperechoic structures of the embryo, in which, depending on the period of pregnancy, the outlines of the head, limbs, spine, chest are visible. The fetus is surrounded by a sufficient amount of anechoic fluid, palpitations and mobility are clearly visible – indicating viability. Transabdominal scanning in the standing position of the animal provides optimal access, allows you to get a good quality image and visualize the uterus.

ИММУНОЛОГИЯ / IMMUNOLOGY

Модуляция рецепторов Т-клеток крови овец при экспериментальном заражении вирусом лейкоза крупного рогатого скота – Григорьев А.Г., Ездакова И.Ю., Капустина О.В., Белоусова Р.В. – 2023, 2 (58), с. 54

Modulation of sheep blood T-cell receptors under experimental incantation with cattle leukemia virus – Grigoriev A.G., Ezdakova I.Yu., Kapustina O.V., Belousova R.V. – 2023, 2 (58), p. 54

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (BLV) вызывает неопластическую инфекцию, которая нарушает многие функциональные звенья иммунной системы. Т-лимфоциты являются одними из важнейших лейкоцитов, которые играют центральную роль в адаптивном иммунном ответе. На сегодняшний день исследования, направленные на изучение рецепторной активности Т-клеток при лейкозе, немногочисленны. В связи с этим данная работа была направлена на идентификацию рецепторной активности Т-клеток при длительном персистировании BLV по форме локализации и степени экспрессии у овец разных возрастных групп. Результаты исследований показали, что в первую неделю после экспериментального заражения вирусом у животных обеих групп наблюдается супрессия CD4- и CD8-лимфоцитов. Стабильное увеличение CD4^{high}-клеток на второй год болезни у взрослых овец является признаком высокой напряженности Т-клеточного звена иммунитета под действием вируса и коррелирует с частой гибелью животных в этой группе. Волнообразное изменение экспрессионной активности CD4-рецептора Т-клеток в первый год у первой группы и в течение всего эксперимента у второй группы животных связано с адаптационными механизмами организма к вирусу в процессе хронизации болезни. Сохранение пролиферативной активности цитотоксических клеток при одновременном преобладании CD8^{low}-лимфоцитов на протяжении всего опыта у взрослых и молодых овец говорит об анергии клеток и блокировке их цитотоксических функций. Установленные высокие значения форм-локализации рецептора CD4 «петч/эндоцитоз» свидетельствует об активной презентации вирусных белков Т-хелперам и могут являться индикатором инфекционного процесса, по которому можно судить о степени воздействия вируса на клетки мишени. Полученные данные могут помочь приблизиться к пониманию особенностей течения болезни у животных в процессе иммуногенеза и использовать данный алгоритм для дальнейшего изучения рецепторной активности Т- и В-клеток в процессе длительной хронической инфекции.

The bovine leukemia virus (BLV) causes a neoplastic infection that disrupts many functional links of the immune system. T-lymphocytes are among the most important white blood cells that play a central role in the adaptive immune response. To date, studies aimed at studying the receptor activity of T cells in leukemia are few. In this regard, this work was aimed at identifying the receptor activity of T cells during prolonged persistence of BLV by the form of localization and degree of expression in sheep of different age groups. The results of the studies showed that in the first week after experimental infection with the virus, CD4- and CD8-lymphocyte suppression was observed in animals of both groups. A stable increase in CD4 high cells in the second year of the disease in adult sheep is a sign of high tension of the T-cell link of immunity under the influence of the virus, and correlates with the frequent death of animals in this group. The wave-like change in the expression activity of CD4-receptor T cells in the first year in the first group and throughout the experiment in the second group of animals is associated with the adaptation mechanisms of the body to the virus during the chronization of the disease. The preservation of the proliferative activity of cytotoxic cells with the simultaneous predominance of Cd8 lymphocytes throughout the entire experiment in adult and young sheep indicates anergy of cells and blocking of their cytotoxic functions. The established high values of the CD4 receptor localization “petch/endocytosis” indicates the active presentation of viral proteins to T-helpers and can be an indicator of the infectious process, by which one can judge the degree of exposure of the virus to target cells. The obtained data can help to get closer to understanding the features of the course of the disease in animals during immunogenesis and use this algorithm to further study the receptor activity of T and B cells during long-term chronic infection.

КОРМЛЕНИЕ / FEEDING

Влияние рациона кормления на время восстановления, среднюю скорость лошадей, участвующих в соревнованиях по конным дистанционным пробегам – Гусева В.А., Кузнецова Т.Ш., Назарова А.В., Семенов Б.С. – 2023, 1 (57), с. 55

The effect of the feeding diet on the recovery time, the average speed of horses participating in equestrian distance running competitions – Guseva V.A., Kuznetsova T.S., Nazarova A.V., Semenov B.S. – 2023, 1(57), p. 55

Подбор рационов для лошадей, участвующих в конных дистанционных пробегах, может позволить добиваться лучших результатов. Наиболее демонстрирующими успех прохождения дистанции показателями являются средняя скорость и время восстановления животного. За это время пульс должен приходить в норму. Объектом исследований служили лошади разных верховых пород, возраст 6–7 лет, участвующие в соревнованиях на дистанции 40 км. Лошадей по принципу аналогов разделили на 3 группы (по 10 голов) в зависимости от типа кормления. Лошади, получавшие рацион, в котором количество клетчатки было 62,5 г, жира 39,2 г и количество белка 61,6 г, проходили дистанцию со средней скоростью 14,71±0,41 км/час, что было статистически значимо выше по сравнению с животными других групп.

The selection of rations for horses participating in endurance can allow you to achieve better results. The most indicators demonstrating the success of passing the distance are the average speed and recovery time of the animal. During this time, the pulse should return to normal. The object of research was horses of different riding breeds, aged 6–7 years, participating in competitions at a distance of 40 km. The horses were divided into 3 groups (10 heads each) according to the principle of analogues, depending on the type of feeding. Horses receiving a diet in which the amount of fiber was 62.5 g, fat 39.2 g and protein 61.6 g walked the distance at an average speed of 14.71±0.41 km/h, which was statistically significantly higher compared to animals of other groups.

Определение острой токсичности комбикормов для лабораторных грызунов на тест-объекте *Paramecium caudatum* – Карпенко Л.Ю., Махнин И.А., Беренев Ю.Е., Лукина И.А. – 2023, 3 (59), с. 84

Determination of acute toxicity of compound feeds for laboratory rodents at the Paramecium caudatum test facility – Karpenko L. Yu., Makhnin I. A., Berenev Yu. E., Lukina I. A. – 2023, 3 (59), p. 84

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.

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.

МИКРОБИОЛОГИЯ / MICROBIOLOGY

Антимикробная активность фитогенных препаратов в отношении условно-патогенной микрофлоры кишечника кур – Тамбиев Т.С., Тамбиева Ю.Г., Дулетов Е.Г., Федоров В.Х., Тазаян А.Н., Федюк В.В., Шлычков А.Е. – 2023, 2 (58), с. 27

Antimicrobial activity of phytogetic drugs against conditionally pathogenic intestinal microflora of chickens – Tambiev T.S., Tambieva Yu.G., Duletov E.G., Fedorov V.H., Tazayan A.N., Fedyuk V.V., Shlychikov A.E. – 2023, 2 (58), p. 27

Работа посвящена изучению антибактериальной активности фитогенных препаратов Activo и Activo Liquid в отношении условно-патогенной микрофлоры кишечника кур. По результатам проведенных бактериологических исследований установлено, что в тонком отделе кишечника кур обитает ассоциация условно-патогенных бактерий: *Escherichia coli* (100%), *Enterococcus faecalis* (85%), *Proteus vulgaris* (55%), *Pantoea agglomerans* (25%), *Citrobacter freundii* (15%) и *Klebsiella pneumoniae* (10%). Изучение антибиоточувствительности выделенных штаммов микроорганизмов выявило их чувствительность к тилфлотриму, цефтриаксону и левомецитину. Результаты изучения антимикробной активности фитогенных препаратов Activo и Activo Liquid в отношении условно-патогенной микрофлоры доказали их достаточно высокую антибактериальную эффективность. Данные фитодобавки не уступают по своей активности антибиотикам, в связи с чем их можно рекомендовать к применению в птицеводстве в качестве альтернативы традиционным антибактериальным средствам. Подавляя развитие условно-патогенной микрофлоры, фитогенные препараты способствуют нормализации кишечного микробиоценоза и повышению колонизационной резистентности кишечника у кур.

The work is devoted to the study of the antibacterial activity of the phytogetic drugs “Activo” and “Activo Liquid” in relation to the opportunistic intestinal microflora of chickens. According to the results of bacteriological studies, it was found that an association of opportunistic bacteria lives in the small intestine of chickens: Escherichia coli (100%), Enterococcus faecalis (85%), Proteus vulgaris (55%), Pantoea agglomerans (25%), Citrobacter freundii (15%) and Klebsiella pneumoniae (10%). The study of antibiotic sensitivity of isolated strains of microorganisms showed their sensitivity to Tilflotrim, Ceftriaxone and Chloramphenicol. The results of the study of the antimicrobial activity of the phytogetic drugs “Activo” and “Activo Liquid” in relation to opportunistic microflora proved their rather high antibacterial efficacy. These herbal supplements are not inferior in their activity to antibiotics, and therefore they can be recommended for use in poultry farming as an alternative to traditional antibacterial drugs. By suppressing the development of opportunistic microflora, phytogetic drugs contribute to the normalization of intestinal microbiocenosis and increase colonization resistance of the intestine in chickens.

Определение антагонистической активности микроорганизмов пробиотической пищевой добавки Life 9 – Закрепина Е.Н., Носкова В.И., Муллагалиева О.А. – 2023, 3 (59), с. 11

Determination of antagonistic activity of microorganisms of probiotic food additive "Life 9" – Zakrepina E.N., Noskova V.I., Mullagalieva O.A. – 2023, 3 (59), p. 11

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.

*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.*

Сравнительная оценка биологической эффективности штаммов *Bacillus thuringiensis* и препаратов на их основе в отношении личинок *Galleria mellonella* – Желябовская Д.А., Шульга И.С., Лаврушина Л.А., Остякова М.Е. – 2023, 4 (60), с. 10

*Comparative evaluation of the biological efficacy of strains *Bacillus thuringiensis* and preparations based on them with regard to the larvae of *Galleria mellonella* – Zhelyabovskaya D.A., Shulga I.S., Lavrushina L.A., Ostyakova M.E. – 2023, 4 (60), p. 10*

Важнейшая отрасль сельского хозяйства Дальневосточного федерального округа – пчеловодство. Опасный вредитель медоносной пчелы – большая восковая моль. Наиболее перспективным методом борьбы является применение биоинсектицидов. В качестве основы для биологических инсектицидов широко используются спорообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis*. Штаммы одного и того же вида *Bacillus thuringiensis*, обладают разными уровнями патогенности к личинкам различных насекомых. Произведено изучение инсектицидной активности разных энтомопатогенных препаратов, содержащих в своем составе культуру *Bacillus thuringiensis*. Исследования доказывают высокую энтомопатогенную активность опытного препарата «Антигаллерин» и его специфичность в отношении личинок большой восковой моли в сравнении с препаратами «Лепидоцид» и «Битоксибациллин». Так же проведена оценка инсектицидной активности музейных коллекционных штаммов *B. thuringiensis* за восьмилетний период хранения. Выявлено, что перспективность применения штаммов *B. thuringiensis* 00045, *B. thuringiensis* 851 и *B. thuringiensis* 859 для борьбы с восковой молью остается актуальной.

*The most important branch of agriculture in the Far Eastern Federal District is beekeeping. The large wax moth is a dangerous pest of the honey bee. The most promising method of control is the use of bioinsecticides. The spore-forming bacteria *Bacillus thuringiensis* are widely used as the basis for biological insecticides. The strains of the same species of *Bacillus thuringiensis* have different levels of pathogenicity to the larvae of various insects. The insecticidal activity of various entomopathogenic preparations containing the *Bacillus thuringiensis* culture was analyzed. Our study has proved a high entomopathogenic activity of the experimental drug "Antigallerin" and its specificity against the larvae of the large wax moth in comparison with the drugs "Lepidocide" and "Bitoxibacillin". The insecticidal activity of museum collection strains of *B. thuringiensis* over an eight-year storage period was also evaluated. It was revealed that the prospects for the use of strains *B. thuringiensis* 00045, *B. thuringiensis* 851 and *B. thuringiensis* 859 for the fight against the wax moth remain relevant.*

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ / MOLECULAR BIOLOGY

Сравнительная оценка структуры генов Rem-1, MyoD1 у овец отечественных пород по разным сборкам в базе данных NCBI – Криворучко А.Ю., Сафарян Е.Ю., Каниболоцкая А.А., Спарикина Т.Ю. – 2023, 4 (60), с. 3

Comparative evaluation of the structure of the Rem-1, MyoD1 genes in sheep of domestic breeds according to different assemblies in the NCBI database – Krivoruchko A.Yu., Safaryan E.Yu., Kanibolotskaya A.A., Saprikina T.Yu. – 2023, 4 (60), p. 3

Целью данной работы явилось сравнение и анализ структуры генов Rem-1 и MyoD1, функции которых напрямую связаны с развитием мышечной ткани. Исследование референсного генома проводилось между сборками oviAri 2.0, oviAri 4.0 и oviAri 3.1 в базе данных National Center for Biotechnology Information (NCBI). При сравнительном анализе структуры гена Rem-1 нами было проанализировано 15 однонуклеотидных замен и 26 замен в гене MyoD1. Ранее в наших работах были выявлены полиморфизмы в этих генах по сборке oviAri 3.1. Замены были обнаружены у овец отечественных пород. Проведенный анализ показывает отличия между сборками oviAri

2.0, oviAri 4.0, oviAri 3.1 генов Rem-1 и MyoD1 по длине генов, позиции SNP на хромосоме, наименовании SNP по номенклатуре. Необходимо дальнейшее изучение референсного генома *Ovis aries*, сборок oviAri 2.0, oviAri 4.0, oviAri 3.1 по другим генам, с целью подтверждения того, что найденные ранее замены не потеряли своей актуальности, располагаются в тех же областях гена и сохраняют свою функциональную нагрузку.

*The purpose of this work was to compare and analyze the structure of the Rem-1 and MyoD1 genes, the functions of which are directly related to the development of muscle tissue. The reference genome study was conducted between the oviAri 2.0, oviAri 4.0 and oviAri 3.1 assemblies in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database. In a comparative analysis of the structure of the Rem-1 gene, we analyzed 15 single nucleotide substitutions and 26 substitutions in the MyoD1 gene. Earlier, in our work, polymorphisms in these genes were identified in the oviAri 3.1 assembly. Substitutions were found in sheep of domestic breeds. The analysis performed shows differences between the oviAri 2.0, oviAri 4.0, and oviAri 3.1 assemblies of the Rem-1 and MyoD1 genes in terms of gene length, SNP position on the chromosome, and SNP naming by nomenclature. Further study of the reference genome of *Ovis aries*, assemblies oviAri 2.0, oviAri 4.0, oviAri 3.1, is required to confirm that the substitutions found earlier have not lost their relevance, are located in the same regions of the gene and retain their functional load.*

МОРФОЛОГИЯ / MORPHOLOGY

Морфология кожного покрова каспийского тюленя (*Phoca caspica* Gmelin, 1788) – Грушко М.П., Володина В.В. – 2023, 1 (57), с. 60

*Morphology of the skin of the Caspian seal (*Phoca caspica* Gmelin, 1788) – Grushko M.P., Volodina V.V. – 2023, 1 (57), p. 60*

Каспийский тюлень является единственным морским млекопитающим, уникальным эндемиком, обитающим в Каспийском море. В XX столетии его численность насчитывала до миллиона особей, а в настоящее время этот вид внесен в Красную книгу как редкий. Изучение морфофункционального строения и состояния его органов является весьма актуальным и позволяет в большей мере понять и предупредить негативное воздействие факторов для современной популяции этого вида. Результаты анализа показали, что кожа тюленя морфологически схожа со всеми млекопитающими, но имеются особенности организации этого органа (по толщине). Для каспийского тюленя характерно наличие мощного слоя подкожно-жировой клетчатки, толщина которого достигала 7 см, что связано с образом жизни и условиями среды обитания. Анализ строения кожи эмбрионов и половозрелых особей тюленя показал, что у сравниваемых групп животных разного возраста значительно отличалась толщина слоев. Морфофункциональное строение кожных покровов у разновозрастных особей каспийского тюленя не имело явно выраженных патологий, соответствовали нормальному развитию на фоне климатических особенностей среды обитания млекопитающих.

The Caspian seal is the only marine mammal, a unique endemic living in the Caspian Sea. In the 20th century, its population numbered up to a million individuals, and at present this species is listed in the Red Book as rare. The study of the morphofunctional structure and the state of its organs is very relevant and makes it possible to better understand and prevent the negative impact of factors on the modern population of this species. The results of the analysis showed that seal skin is morphologically similar to all mammals, but there are peculiarities in the organization of this organ (in terms of thickness). The Caspian seal is characterized by the presence of a powerful layer of subcutaneous fat, the thickness of which reached 7 cm, which is associated with the lifestyle and environmental conditions. An analysis of the structure of the skin of embryos and mature seals showed that the compared groups of animals of different ages significantly differed in the thickness of the layers. The morphofunctional structure of the skin in the Caspian seal individuals of different ages did not have pronounced pathologies, they corresponded to normal development against the background of the climatic features of the mammalian habitat.

Морфофункциональные особенности внутрипеченочных сосудов домашнего кролика – Манakov А.М., Слесаренко Н.А., Завалева С.М. – 2023, 1 (57), с. 64

Morphofunctional features of intrahepatic vessels of a domestic rabbit – Manakov A.M., Slesarenko N.A., Zavaleva S.M. – 2023, 1 (57), p. 64

В данной работе представлены результаты научного исследования в области микроморфологии внутрипеченочного сосудистого русла у животных. Задачей настоящего морфологического исследования является определение морфофункциональных особенностей кровеносных сосудов печени половозрелых кроликов породы бабочка. В статье отражены микроморфологические и морфометрические сведения внутриорганных сосудов печени. В совокупности результаты исследования указывают на тесную взаимосвязь гемодинамических условий и структурной организации кровеносных сосудов и являются базовыми в вопросах оценки внутрипеченочного кровообращения и диагностики гепатопатологий.

This article presents the results of a scientific study in the field of micromorphology of the intrahepatic vascular bed in animals. The objective of this morphological study is to determine the morphological and functional features of the blood vessels of the liver of mature rabbits of the "Butterfly" breed. The article reflects the micromorphological and morphometric data of the intraorganic vessels of the liver. Altogether, the results of the study shows a close relationship between hemodynamic conditions and the structural organization of blood vessels and are basic in assessing intrahepatic circulation and diagnosing hepatopathologies.

Морфологическая характеристика яиц *Hasstilesia ovis* (Trematoda: hasstilesiidae) – Логинова О.А., Белова Л.М., Чупрак Д.И. – 2023, 1 (57), с. 20

*Morphological characterization of eggs of *Hasstilesia ovis* (Trematoda: hasstilesiidae)* – Loginova O.A., Belova L.M., Chuprak D.I. – 2023, 1 (57), p. 20

В работе представлена текстовая и графическая (фотоснимки) характеристика морфологии яиц зоопаразитической трематоды *Hasstilesia ovis* (Orloff, Erschoff et Badanin, 1934). Яйца были получены в результате овоскопии смешанной выборки фекалий алтайских горных баранов (*Ovis ammon ammon*) и сибирских горных козлов (*Capra sibirica*). Яйца *H. ovis* имеют размеры 0,024–0,036 × 0,016–0,020 мм. У них гладкая оболочка, выпуклая крышечка и небольшой прозрачный штифттик на противоположном полюсе. Внутри можно рассмотреть сформированного мирацидия. Яйца асимметричные, но это заметно не во всех проекциях. Необходимо отличать яйца *H. ovis* от яиц *Dicrocoelium*. Последние имеют более насыщенную коричневую окраску и напоминают кедровые орешки в скорлупе, тогда как яйца *H. ovis* по цвету ближе к зрелым желудям. Кроме того, яйца дикроцелия больше по размеру, а у мирацидия дикроцелия в яйце видны два зернистых шара, которых нет у мирацидия хасстилезии.

*The paper presents textual and graphical (micrographs) characterization of the morphology of the eggs of the zooparasitic trematode *Hasstilesia ovis* (Orloff, Erschoff et Badanin, 1934). The eggs were obtained via ovoscopy of the mixed sample set of feces of Altai argali (*Ovis ammon ammon*) and Siberian ibex (*Capra sibirica*). *H. ovis* eggs measure 0.024–0.036×0.016–0.020 mm. They have smooth egg membrane, a convex operculum, and small transparent pin at the opposite pole. Inside one can see the developed miracidium. The eggs are asymmetrical, but this is not noticeable in all projections. *H. ovis* eggs must be distinguished from *Dicrocoelium* eggs. The latter have darker brown color and resemble inshell pine nuts, while *H. ovis* eggs are closer in color to ripe acorns. In addition, *Dicrocoelium* eggs are larger in size, and *Dicrocoelium*'s miracidium inside the egg shows two granular balls, which *Hasstilesia*'s miracidium lacks.*

Оценка эффективности противопаразитарных обработок коз в фермерском хозяйстве Ленинградской области – Белова Л.М., Гаврилова Н.А. – 2023, 2 (58), с. 39

Evaluating the effectiveness of antiparasitic treatments for goats on the farm in the Leningrad region – Belova L.M., Gavrilova N.A. – 2023, 2 (58), p. 39

Копрологическими исследованиями 17 коз породы ламанча возрастной категории от 6 месяцев до 5 лет, принадлежащие крестьянско-фермерскому хозяйству Тосненского района Ленинградской области, в Лаборатории по изучению паразитарных болезней кафедры паразитологии им В. Л. Якимова в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» была выявлена их паразитофауна. Копроовоскопическим методом Дарлинга с усовершенствованной флотационной жидкостью у всех 17 коз были обнаружены ооцисты рода *Eimeria* (Sporozoa: Coccidea), различающиеся по размерам и форме. Интенсивность инвазии у козлят была значительно выше по сравнению со взрослыми животными. Ларвоскопическим методом Бермана-Орлова у всех коз в возрасте от 2-х до 5 лет были обнаружены личинки гельминтов, относящиеся к роду *Muellerius* (Nematoda: Strongylida), паразитирующие в мелких бронхах и под плеврой легкого животных. В фекальных массах после культивирования сбора с помощью запатентованного устройства личинки были определены до сем. *Trichostrongylidae*. В пробах фекалий коз, собранных с подстилки, были выявлены гельминты рода *Strongyloides*. Паразиты были определены по характерному строению рабдитовидного пищевода, имеющего предбульбус и бульбус. Несмотря на проводимые противопаразитарные обработки препаратами группы макроциклических лактонов 2 раза в год без учета паразитофауны и биологии возбудителей, происходит циркуляция инвазионных стадий возбудителей среди разных возрастных групп и накопление их во внешней среде.

*Parasite fauna of 17 Lamancha goats aged from 6 months to 5 years, belonging to the private farm located in the Tosnensky district of the Leningrad region, was identified by means of coprological studies conducted at the Laboratory for the study of parasitic diseases of the Department of parasitology named after V. L. Yakimov of the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine. The oocysts of the genus *Eimeria* (Sporozoa: Coccidea) differed in size and shape were found in all 17 goats using Darling's coproovoscopic method with an improved flotation liquid. The intensity of invasion in goatlings was significantly higher compared to adult animals. Larvae of helminths belonging to the genus *Muellerius* (Nematoda: Strongylida), parasitizing in the small bronchi and under the pleura of the lung, were found in all goats aged 2 to 5 years using Berman-Orlov' larvoscopic method. The larvae were identified up to family *Trichostrongylidae* after their culturing in the collected feces using a patented device. Helminths of the genus *Strongyloides* were detected in the samples of goat feces collected from their litter. Parasites were identified by the characteristic structure of the rhabditis esophagus, which has a prebulb and a bulb. Despite the ongoing antiparasitic treatments with medications of the group of macrocyclic lactones twice a year, without taking into account the parasite fauna and the biology of pathogens, there is a circulation of invasive stages of pathogens among different age groups of goats and helminths accumulation in the environment.*

Устойчивость гельминтов к антигельминтикам: механизм, методы детекции, способы предотвращения резистентности – Забровская А.В., Белова Л.М., Гаврилова Н.А. – 2023, 2 (58), с. 42

Resistance of helminths to antihelminthics: mechanism, detection methods, prevention resistance approaches – Zabrovskaya A.V., Belova L.M., Gavrilova N.A. – 2023, 2 (58), p. 42

Гельминтозы повсеместно распространены у сельскохозяйственных животных, протекают клинически и субклинически, нанося вред их здоровью и продуктивности. Проведение лечебной и профилактической дегельминтизации является основным средством контроля инвазии, но серьезно осложняется повсеместным распространением лекарственной устойчивости паразитических нематод и цестод к антигельминтикам (АГ). В статье представлен анализ научной литературы о причинах возникновения, механизмах резистентности к АГ, способах определения резистентности в популяции гельминтов и мерах по предотвращению ее распространения. Основными механизмами устойчивости к АГ являются снижение возможности проникновения препарата в гельминта, усиление вывода (эффлюкса) препарата из клетки, расщепление препарата, изменение рецептора прикрепления препарата. В статье рассмотрены преимущества и недостатки методов *in vivo* и *in vitro* диагностики резистентности, разработанных Всемирной ассоциацией по развитию ветеринарной паразитологии (World Association for the Advanced of Veterinary Parasitology – WAAP), применяемых в целях осуществления мониторинга устойчивости гельминтов к АГ. Данные методики позволяют получить сопоставимые результаты не только на региональном, но на национальном и международном уровне. Проведение организационно-хозяйственных мероприятий, направленных на сведение к минимуму возможности инвазирования животных, разработку стратегии рационального применения АГ и постоянный мониторинг резистентности гельминтов к ним способствует предотвращению развития резистентных к АГ форм гельминтов и их распространению.

*Helminthiasis are widespread in farm animals, occurs clinically and subclinically, harming their health and productivity. Therapeutic and preventive deworming is the main means of controlling invasion, but is seriously complicated by the widespread drug resistance of parasitic nematodes and cestodes to anthelmintics (AH). The article presents an analysis of the scientific literature on the causes, mechanisms of resistance to AH, methods for determining resistance in the helminth population and measures to prevent its spread. The main mechanisms of resistance to AH are a decrease in the possibility of penetration of the drug into the helminth, an increase in the withdrawal (efflux) of the drug from the cell, destruction of the drug, a change in the receptor of attachment of the drug. The article discusses the advantages and disadvantages of *in vivo* and *in vitro* methods of resistance detection developed by the World Association for the Advanced of Veterinary Parasitology (WAAP), used to monitor the resistance of helminths to AH. These methods allow us to obtain comparable results not only at the regional, but also at the national and international level. Carrying out organizational and economic measures aimed at minimizing the possibility of animal invasion, developing a strategy for the rational use of AH and continuous monitoring of helminth resistance to them, helps to prevent the development of forms of helminths resistant to AH and their spread.*

Мониторинг родового и видового состава иксодовых клещей как специфических переносчиков и резервуара трансмиссивных заболеваний в северных районах Ростовской области – Кривко А.С., Тамбиев Т.С., Кривко М.С., Тазаан А.Н., Федоров В.Х. – 2023, 2 (58), с. 49

Monitoring of generic and species composition of ixodid ticks as specific carriers and reservoir of vector-borne diseases in the northern regions of the Rostov region – Krivko A.S., Tambiev T.S., Krivko M.S., Tazayan A.N., Fedorov V.H. – 2023, 2 (58), p. 49

В настоящее время актуальной проблемой как для медицинской, так и ветеринарной науки является изучение клещей семейства *Ixodidae*, являющихся переносчиками и резервуаром различных трансмиссивных заболеваний человека и животных. Целью работы являлось проведение мониторинга родового и видового состава иксодовых клещей и передающихся ими трансмиссивных заболеваний в северных муниципальных образованиях Ростовской области. Сбор иксодовых клещей проводили в Боковском, Верхнедонском, Кашарском, Миллеровском, Милютинском, Обливском, Советском, Тарасовском, Чертковском и Шолоховском районах. Установлено, что на данных территориях обитает 6 родов и 7 видов иксодовых клещей, таких как: *Hyalomma marginatum* – 61,1%; *Hyalomma scupense* – 12,9%; *Dermacentor marginatus* – 11,3%; *Ixodes ricinus* – 7,9%; *Rhipicephalus rossicus* – 4,6%; *Haemaphysalis punctata* – 2,0% и *Boophilus annulatus* – 0,2%. Зараженность клещей возбудителями трансмиссивных болезней исследовали методом полимеразной цепной реакции. Результаты молекулярно-генетических исследований проб клещей показали, что северные районы Ростовской области являются эндемичными по конго-крымской геморрагической лихорадке и бабезиозам животных.

*Currently, an urgent problem for both medical and veterinary science is the study of ticks of the Ixodidae family, which are carriers and reservoirs of various vector-borne diseases in humans and animals. The aim was to monitor the generic and species composition of ixodid ticks and vector-borne diseases transmitted by them in the northern regions of the Rostov region. The collection of ixodid ticks was carried out in Bokovsky, Verkhnedonsky, Kasharsky, Millerovsky, Milyutinsky, Oblivsky, Sovetsky, Tarasovsky, Chertkovsky and Sholokhovsky districts of the Rostov region. 6 genera and 7 species of ixodid ticks have been identified, such as *Hyalomma marginatum* – 61.1%; *Hyalomma scupense* – 12.9%; *Dermacentor marginatus* – 11.3%; *Ixodes ricinus* – 7.9%; *Rhipicephalus rossicus* – 4.6%; *Haemaphysalis punctata* – 2.0% and *Boophilus annulatus* – 0.2%. Detection of tick-borne pathogens was carried out by PCR. The results of the study of samples of ixodid ticks by PCR showed that the northern districts of the Rostov region are endemic for Crimean-Congo hemorrhagic fever and animal babesiosis.*

Краевые особенности эпизоотического процесса при аскариозе свиней в Воронежской области – Беспалова Н.С. – 2023, 3 (59), с. 45

Regional features of the epizootic process in pig ascariasis in the Voronezh region – Bespalova N.S. – 2023, 3 (59), p. 45

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.

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.

К вопросу биоэкологического мониторинга кишечных паразитозов водных птиц на природной территории национального парка «Лосиный остров» – Марюшина Т.О., Крюковская Г.М., Давыдов Е.В., Ананьев Л.Ю., Дианова П.О., Арсеньева Е.В. – 2023, 3 (59), с. 48

On the issue of bioecological monitoring of intestinal parasitosis of aquatic birds in natural area of the national park "Losiny ostrov" – Maryushina T.O., Kryukovskaya G.M., Davydov E.V., Ananyev L.Yu., Dianova P.O., Arsenyeva Ye.V. – 2023, 3 (59), p. 48

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 высокоурбанизированных 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.

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.

Зараженность трихинеллезом среди диких и домашних животных в Амурской области – Трухина Т.И., Бондаренко Г.А., Соловьева И.А. – 2023, 3 (59), с. 52

Infection with trichinosis among wild and domestic animals in the Amur region – Trukhina T.I., Bondarenko G.A., Solovyova I.A. – 2023, 3 (59), p. 52

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.

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.

Биологический способ борьбы с гамазовыми клещами змей – Белова Л.М., Гаврилова Н.А. – 2023, 4 (60), с. 23
A biological way to combat gamase mites of snakes – Belova L.M., Gavrilova N.A. – 2023, 4 (60), p. 23

В данной работе представлены результаты изучения биологического способа борьбы с гамазовыми клещами *Ophionyssus natricis*, паразитирующими на различных видах змей, содержащихся в неволе, при помощи подселения в террариум хищных клещей *Hypoaspis miles*. Гамазовых клещей *O. natricis* помещали в террариумы со змеями *Python regius* (королевский питон), *Boa constrictor imperator* (удав обыкновенный императорский), *Corallus hortulanus* (садовый удав), *Lampropeltis triangulum sinaloae* (синалойская молочная змея). После нападения клещей на змей в террариумы помещали хищных клещей – *H. miles*. Поведение клещей *H. miles* наблюдали внутри террариумов и *in vitro*. Клещи *O. natricis* в большей степени нападали на обыкновенного императорского и садового удава, в меньшей – королевского питона и синалойскую молочную змею. Со второго дня после нападения клещей все змеи проявляли беспокойство, залегали в поилках с водой. Наблюдениями за клещами *O. natricis* и *H. miles in vitro* была установлена гибель паразитических клещей в чашке Петри на следующие сутки после подсаживания гипоасписа. В террариумах отмечали уменьшение клещей *O. natricis* на 3-е сутки у наиболее зараженной змеи *Boa constrictor imperator*. На 5 сутки отметили отсутствие клинических признаков у всех змей (животные не проявляли беспокойства, не терлись о стенки террариумов и не залегали в поилках), а также имаго и протонимф на коже всех змей. Случаев нападения *H. miles* за период наблюдения на подопытных животных не было выявлено. Хищные клещи находились в слое подстилки, преимущественно в «холодном» углу террариумов. На основании полученных данных был сделан вывод о том, что хищный клещ *H. miles* является эффективным биологическим средством борьбы с гамазовым клещом *O. natricis*, паразитирующим на змеях.

This paper presents the results of studying the biological method of combating the gamasid mites Ophionyssus natricis, parasitizing on various species of snakes kept in captivity, by introducing predatory mites Hypoaspis miles into the terrarium. Gamasid mites O. natricis were placed in terrariums with snakes Python regius (royal python), Boa constrictor imperator (common imperial boa), Corallus hortulanus (garden boa), Lampropeltis triangulum sinaloae (Sinaloi milk snake). After ticks attacked snakes, predatory ticks, H. miles, were placed in terrariums. The behavior of H. miles mites was observed inside terrariums and in vitro. O. natricis mites attacked the common imperial and garden boa to a greater extent, and to a lesser extent, the royal python and the Sinaloi milk snake. From the second day after the attack of ticks, all the snakes showed anxiety, lay down in drinking bowls with water. Observations of O. natricis and H. miles mites in vitro showed the death of parasitic mites in a Petri dish on the next day, after planting the hypoaspis. In terrariums, a decrease in O. natricis mites was noted on the 3rd day in the most affected snake Boa constrictor imperator. On the 5th day, the absence of clinical signs was noted in all snakes (the animals did not show anxiety, did not rub against the walls of terrariums and did not lie in drinkers), as well as adults and protonymphs on the skin of all snakes. There were no cases of H. miles attacks on experimental animals during the observation period. Predatory mites were found in the litter layer, mainly in the «cold» corner of the terrariums. On the basis of the data obtained, it was concluded that the predatory mite H. miles is an effective biological agent for the control of the gamasid mite O. natricis, which parasitizes snakes.

Роль зоофильных мух в распространении телезиоза крупного рогатого скота в Лабинском районе Краснодарского края – Деткова Е.А., Луцук С.Н. – 2023, 4 (60), с. 26

The role of zoophilic flies in the spread of bovine thelaziosis in the Labinski district of the Krasnodar territory – Detkova E.A., Lutsuk S.N. – 2023, 4 (60), p. 26

В условиях Юга России распространение телезиозной инвазии у крупного рогатого скота осуществляется в основном с помощью зоофильных мух семейства *Muscidae*, в период с апреля по октябрь. Доминантным видом является *Musca osiris*, индекс обилия – 25,6%, а также *Musca autumnalis* 22,6% и *Musca amica* – 17,3%. Максимальная численность насекомых – 29,6 особей на животном, интенсивность инвазирования – 8,6%, отмечается в июне-июле. Телезиозом болеет крупный рогатый скот всех возрастов, в среднем, экстенсивность инвазии 4,5%, но чаще болеет молодежь группы 6-12 месяцев, экстенсивность инвазии – 5,3%. Возбудителем болезни преимущественно является *Th. rhodesi*, экстенсивность инвазирования – 86%.

In the conditions of the South of Russia, the spread of thelazia invasion in cattle is carried out mainly with the help of zoophilic flies of the Muscidae family, in the period from April to October. The dominant species is Musca osiris, the abundance index is 25.6%, as well as Musca autumnalis 22.6% and Musca amica 17.3%. The maximum number of insects is 29.6 individuals on the animal, the intensity of invasion is 8.6%, noted in June-July. Cattle of all ages are sick with thelaziosis, on average, the intensity of invasion is 4.5%, but more often young animals of the group of 6-12 months are susceptible to the disease, the intensity of invasion is 5.3%. The causative agent of the disease is predominantly Th. rhodesi, invasion extensiveness – 86%.

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ / PATHOLOGICAL ANATOMY

Патоморфологические изменения при сочетанном дезоксиниаленолом и Т-2 микотоксикозе у поросят – Кудряшов А.А., Максимов Т.П., Балабанова В.И. – 2023, 1 (57), с. 69

Pathomorphological changes in combined deoxynivalenol and T-2 mycotoxicosis in piglets – Kudryashov A.A., Maksimov T.P., Balabanova V.I. – 2023, 1 (57), p. 69

Цель исследования – выявление патоморфологических изменений при сочетанном дезоксиниваленолом и Т-2 токсикозе у поросят группы дорашивания. Материалом исследования послужили 19 поросят-отъемышей в возрасте 52–63 дня, у которых при жизни заподозрили микотоксикоз. Материалом для исследования также послужили 10 проб полнорационного гранулированного комбикорма СК-4 для поросят в возрасте 1,5–2 месяцев, скармливаемого в группах исследованных животных. Провели патологоанатомическое исследование, применив метод «полной эвисцерации» по Г. В. Шору. При вскрытии у поросят при отобрали образцы печени и почек для гистологического исследования. Патологический материал фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина. Затем проводили заливку в парафин и на ротационном микротоме изготовили срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрасили гематоксилином и эозином. Определили количественное содержание микотоксинов в пробах корма в лаборатории биохимического анализа Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» с использованием метода высокоэффективной хроматографии в тандеме с масс-спектрометрией (ВЖХ-МС/МС). В результате исследования в образцах комбикорма установлено содержание токсина Т-2 в концентрации от 0,03 до 0,89 мг/кг и наличие токсина дезоксиниваленола (ДОН) в концентрации от 0,5 мг/кг до 4,9 мг/кг, что значительно превышало предельно допустимые уровни этих микотоксинов в кормах для свиней. На вскрытии у поросят установили кровоизлияния, очаги некроза и эрозии в коже, анемию, очаги некроза, эрозии, кровоизлияния, катаральное воспаление в желудке, кровоизлияния и воспаление в кишечнике, отек легких и острый реактивный гепатит. При гистологическом исследовании в печени обнаружили зернистую и водяночную дистрофию, некроз гепатоцитов, лейкоцитарную инфильтрацию пространств Диссе. В почках – водяночную дистрофию и некроз клеток эпителия почечных каналец.

The aim of the study was to identify pathomorphological changes in combined deoxynivalenol and T-2 toxicosis in piglets of the rearing group. The material of the study was 19 weaned piglets aged 52–63 days, in which mycotoxicosis was suspected during their lifetime. The material for the study also served as 10 samples of full-grain granular compound feed SK-4 for piglets aged 1.5–2 months, fed in groups of the studied animals. We conducted a pathoanatomic study using the method of “complete evisceration” according to G. V. Shor. During the autopsy, liver and kidney samples were taken from piglets for histological examination. The pathological material was fixed in a 10 % solution of neutral formalin. Then the filling was carried out in paraffin and sections 5–7 microns thick were made on a rotary microtome. The sections were stained with hematoxylin and eosin. The quantitative content of mycotoxins in feed samples was determined in the laboratory of biochemical analysis of the Federal Scientific Center “All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Poultry Farming” using the method of high-performance chromatography in tandem with mass spectrometry (HPLC-MS/MS). As a result of the study, the content of T-2 toxin in the concentration from 0.03 to 0.89 mg/kg and the presence of deoxynivalenol (DON) toxin in the concentration from 0.5 mg/kg to 4.9 mg/kg were found in the feed samples, which significantly exceeded the maximum permissible levels of these mycotoxins in pig feed. At the autopsy, hemorrhages, foci of necrosis and erosion in the skin, anemia, foci of necrosis, erosion, hemorrhages, catarrhal inflammation in the stomach, hemorrhages and inflammation in the intestines, pulmonary edema and acute reactive hepatitis were found in piglets. Histological examination of the liver revealed granular and watery dystrophy, necrosis of hepatocytes, leukocyte infiltration of Disse spaces. In the kidneys – watery dystrophy and necrosis of the epithelial cells of the renal tubules.

Кокцидиоз у королевского питона *Python regius* – Кадулина Л.М., Кудряшов А.А. – 2023, 1 (57), с. 74

*Coccidiosis in the royal python *Python regius** – Kadulina L.M., Kudryashov A.A. – 2023, 1 (57), p. 74

В литературе не удается найти публикации с описанием отдельных случаев комплексной диагностики кокцидиоза у змей, поэтому, в качестве восполнения недостатка подобной информации, целью работы явилась диагностика кокцидиоза у королевского питона *Python regius*. Королевский питон в возрасте 2-х месяцев болел 9 дней сразу после транспортировки из другого города. Наблюдала анорексию, беспокойство, диарею. После смерти питон был вскрыт. На вскрытии обнаружили воспаленный сальник, увеличенную печень, имевшую несвойственный для змеи светло-желтый цвет, а также воспаленный и вздутый тонкий кишечник. При микроскопическом исследовании в нативных мазках содержимого кишечника было обнаружено большое число кокцидий.

*It is not possible to find publications in the literature describing individual cases of complex diagnosis of coccidiosis in snakes, therefore, as a remedy for the lack of such information, the aim of the work was to diagnose coccidiosis in the royal python *Python regius*. The royal python at the age of 2 months, was ill for 9 days immediately after transportation from another city. Anorexia, anxiety, diarrhea was observed. After death, the python was autopsied. The autopsy revealed an inflamed omentum, an enlarged liver that had a light-yellow color unusual for a snake, as well as an inflamed and swollen small intestine. Microscopic examination revealed a large number of coccidia in native swabs of intestinal contents.*

Морфологическая оценка патологических изменений в легких убойных свиней – Кудряшов А.А., Балабанова В.И. – 2023, 2 (58), с. 63

Morphological assessment of pathological changes in the lungs of slaughter pigs – Kudryashov A.A., Balabanova V.I. – 2023, 2 (58), p. 63

Цель исследования – определить морфологические изменения, возникающие при оглушении свиней углекислым газом перед убоем, то есть в процессе танатогенеза. Материалом исследования послужили легкие 12 свиней в возрасте 6–7 месяцев, массой около 100 кг: от 3-х свиней, оглушенных электрическим током, и от 9 свиней, оглушенных с помощью углекислого газа. Патологический материал зафиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Затем провели заливку в парафин и на ротационном микротоме изготовили срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрасили гематоксилином и эозином. Легкие свиней после оглушения углекислым газом и обескровливания при макроскопическом исследовании имели неоднородную окраску. Какая-то их часть имела светло-красный цвет, была воздушной, что соот-

ветствовало виду обычного обескровленного легкого. Другая же часть была уплотненной, безвоздушной, темно-красного цвета. При рассечении легкого в области уплотненных, темно-красных участков с поверхности разреза стекала кровь. В гистологических срезах образцов легких из области уплотненных, темно-красных участков обнаружили отек легочных альвеол и полнокровие кровеносных сосудов, что указывает на недостаточное обескровливание. В правилах ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и продуктов убоя животных нет указания на утилизацию и уничтожение легких с застойной гиперемией и отеком. Учитывая то обстоятельство, что при застойной гиперемии, придающей легким необычный вид, снижается товарная ценность субпродукта, целесообразно предложить ветеринарно-санитарным экспертам и товароведам определить пригодность таких легких для выработки каких-либо изделий или для иного использования.

The aim of the study is to determine the morphological changes that occur when pigs are stunned with carbon dioxide before slaughter; that is, during thanatogenesis. The study material was the lungs of 12 pigs aged 6–7 months, weighing about 100 kg: from 3 pigs stunned by electric shock, and from 9 pigs stunned with carbon dioxide. The pathological material was recorded in a 10% solution of neutral formalin. Then they were poured into paraffin wax and slices 5–7 microns thick were made on a rotary microtome. The sections were stained with hematoxylin and eosin. The lungs of pigs after stunning with carbon dioxide and exsanguination during macroscopic examination had a non-uniform color. Some part of them had a light red color; was airy, which corresponded to the appearance of an ordinary bloodless lung. The other part was compacted, airless, dark red in color. When the lung was dissected in the area of compacted, dark red areas, blood flowed from the incision surface. In histological sections of lung samples from the area of compacted, dark red areas, pulmonary alveoli edema and fullness of blood vessels were found, indicating insufficient exsanguination. In the rules of veterinary and sanitary examination of meat and animal slaughter products, there is no indication of the disposal and destruction of lungs with congestive hyperemia and edema. Taking into account the fact that with stagnant hyperemia, which gives the lungs an unusual appearance, the marketable value of the by-product decreases, it is advisable to offer veterinary and sanitary experts and commodity experts to determine the suitability of such lungs for the production of any products or for other use.

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ / PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY

Изменения в крови и моче у больных коз после окота с воспалением вымени и осложнением мочевыделительной системы – Филатова А.В., Сандакчи Д.Н., Губернаторова В.А., Никитина А.А. – 2023, 3 (59), с. 15

Changes in blood and urine in sick goats after lambing with inflammation of the udder and urinary system – Filatova A.V., Sandakchi D.N., Gubernatorova V.A., Nikitina A.A. – 2023, 3 (59), p. 15

В процессе маммологической диспансеризации молочных коз после окота в различных домохозяйствах и на крупном предприятии в 27,6+/-1,79 % 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 моче выделительной 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 моче выделительной системе, поэтому рекомендуем ветеринарным специалистам обратить внимание на выявленный нами факт и ввести в протокол лечения мастита лекарственные средства, восстанавливающие функцию моче выделительной системы.

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 27.6+/-1.79 % 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.

РАЗВЕДЕНИЕ / BREEDING

Продуктивные особенности красного степного скота на юге России – Тлецерук И.Р., Бесланев Э.В. – 2023, 1 (57), с. 49

Productive features of red steppe cattle in the south of Russia – Tletseruk I.R., Beslaneev E.V. – 2023, 1 (57), p. 49

Цель исследований – установить продуктивные особенности и выявить оплату корма молоком коровами красной степной породы разного происхождения в условиях степной зоны Кабардино-Балкарской Республики. Для достижения поставленной цели исследований были сформированы 3 группы коров: I – красная степная, II – помеси с кровностью менее 50 % по голштинам красно-пестрой масти (КПГ) и III – помеси более 50 % КПГ. Установлено, что за 1-ую лактацию превосходство голштинизированных первотелок над сверстницами красной степной породы составило 378–622 кг ($P>0,95-0,99$), причем наибольшим преимуществом по этому показателю характеризовались особи с большей кровностью по улучшающей породе, к 3-ей лактации – 612–700 кг ($P>0,95$). В период от 1-ой к 3-ей лактации наибольшее увеличение удоя демонстрировали помеси с кровностью до 50 % по голштинской породе красно-пестрой масти, которое достигло 868 кг, у других генотипов – 634–712 кг. Во все лактации коровы красной степной породы отличались от помесей с голштинами красно-пестрой масти большими значениями жирномолочности, однако достоверное превосходство зарегистрировано в сравнении с более высококровными по улучшающей породе животными ($P>0,95$). По концентрации белка в молоке голштинизированные животные существенно и достоверно уступали сверстницам красной степной породы. Наибольший выход молочного жира и молочного белка, как за отдельные, так и за все анализируемые лактации наблюдается от коров с кровью больше 50 % голштинов красно-пестрой масти, у которых это превосходство над маточным поголовьем красной степной породы составило по 1-ой лактации соответственно 19,5 ($P>0,95$) и 16,6 кг ($P>0,95$), по 3-ей – 21,2 ($P>0,95$) и 17,9 кг ($P>0,95$). Голштинизированные коровы затрачивали на производство 1 кг молока значительно меньше питательных веществ, что, вероятно, связано с более интенсивными окислительно-восстановительными процессами в их организме по сравнению с особями красной степной породы.

The purpose of the research is to establish productive features and to identify the payment of milk feed by cows of red steppe breed of different origin in the conditions of the steppe zone of the Kabardino-Balkarian Republic. To achieve this research goal, 3 groups of cows were formed: I – red steppe, II – crossbreeds with a blood density of less than 50 % according to holsteins of red-mottled color (CNG) and III – crossbreeds of more than 50 % CNG. It was found that during the 1st lactation, the superiority of holstinized heifers over the peers of the red steppe breed was 378–622 kg ($P>0,95-0,99$), and the greatest advantage in this indicator was characterized by individuals with greater blood in the improving breed, by the 3rd lactation – 612–700 kg ($P>0,95$). In the period from the 1st to the 3rd lactation, the greatest increase in milk yield was demonstrated by crossbreeds with a blood density of up to 50 % for the holstein breed of red-mottled color, which reached 868 kg, in other genotypes – 634–712 kg. During all lactation, cows of the red steppe breed differed from crossbreeds with holsteins of the red-mottled suit by large values of fat content, however, a significant superiority was registered in comparison with animals of a higher-blooded improving breed ($P>0,95$). In terms of protein concentration in milk, holstinized animals were significantly and reliably inferior to their peers of the red steppe breed. The highest yield of milk fat and milk protein, both for individual and for all analyzed lactation, is observed from cows with blood more than 50 % of holsteins of red-mottled color; in which this superiority over the breeding stock of the red steppe breed was 19,5 ($P>0,95$) and 16,6 kg ($P>0,95$), on the 3rd – 21,2 ($P>0,95$) and 17,9 kg ($P>0,95$). Holstein cows spent significantly less nutrients on the production of 1 kg of milk, which is probably due to more intensive redox processes in their body compared to individuals of the red steppe breed.

ТЕРАПИЯ / THERAPY

Импульсная магнитотерапия при лечении мочекаменной болезни собак и кошек (клиническое исследование) – Чуваев И.В., Дарков П.Ю., Будник Ж.С., Березина О.Н. – 2023, 3 (59), с. 64

Pulsed magnetotherapy in the treatment of urolithiasis of dogs and cats (clinical trial) – Chuvaev I.V., Darkov P.Yu., Budnik Zh.S., Berezina O.N. – 2023, 3 (59), p. 64

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 уралитов. 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.

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.

ФАРМАКОЛОГИЯ / PHARMACOLOGY

L-карнитин: применение в животноводстве (обзор литературы) – Сабирзянова Л.И., Лунегов А.М., Коновалова Г.В., Токарь В.В. – 2023, 1 (57), с. 25

L-carnitine: application in animal husbandry (Literature review) – Sabirzyanova L.I., Lunegov A.M., Konovalova G.V., Tokar V.V. – 2023, 1 (57), p. 25

В данной статье представлен обзор имеющихся экспериментальных и теоретических данных о применении L-карнитина в ветеринарии. L-карнитин – это витаминоподобное вещество, которое играет важную роль в транспорте жирных кислот и дальнейшем их использовании в качестве источника энергии. Его основная роль заключается в транспорте длинноцепочечных жирных кислот в митохондрии для окисления. Это вещество содержится практически во всех клетках высших животных, а также в некоторых микроорганизмах и растениях. На сегодняшний день область применения L-карнитина в клинической практике достаточно широка – его используют при диабете, сепсисе, кардиомиопатии, недоедании, циррозе печени, эндокринных расстройствах, старении, нейропатических расстройствах. Результаты ранее проведенных эпидемиологических и экспериментальных исследований использования L-карнитина в качестве терапевтического средства подтверждают целесообразность его применения в лечебной практике в ветеринарии.

This article provides an overview of the available experimental and theoretical data on the use of L-carnitine in veterinary medicine. L-carnitine is a vitamin-like substance that plays an important role in the transport of fatty acids and their further use as an energy source. Its' main role is to transport long chain fatty acids into the mitochondria for oxidation. This substance is found in almost all cells of higher animals, as well as in some microorganisms and plants. To date, the scope of L-carnitine in clinical practice is quite wide – it is using in diabetes, sepsis, cardiomyopathy, malnutrition, liver cirrhosis, endocrine disorders, aging, neuropathic disorders. The results of previous epidemiological and experimental studies of the use of L-carnitine as a therapeutic agent confirm the expediency of its use in medical practice in veterinary medicine.

Хондропротекторы: эффективность и механизмы действия (аналитический обзор) – Чуваев И.В. – 2023, 1 (57), с. 32

Chondroprotectors: effectiveness and mechanisms of action (Analytical review) – Chuvaev I.V. – 2023, 1 (57), p. 32

В обзоре представлен анализ основных аспектов патогенеза болезней, связанных с дистрофическими изменениями в хрящевой ткани суставов и позвоночника у мелких домашних животных и человека. На основании данных литературы дана оценка эффективности и описаны основные механизмы действия хондропротекторов, проанализирована роль и целесообразность применения нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) в лечении остеоартрита и дистрофических болезней межпозвоночных дисков и позвонков. Показана высокая эффективность применения хондропротекторов, особенно в виде комплексных препаратов, созданных на основе хондроитина и глюкозамина, как в виде монотерапии, так и в сочетании с НПВС. В случаях острого течения патологического процесса наиболее эффективным представляется применение хондропротекторов третьего поколения в сочетании с селективными и высокоселективными НПВС.

The review analyzes the main aspects of the pathogenesis of diseases of small domestic animals associated with degenerative-dystrophic changes in the cartilage tissue of joints and the spine. Based on literature data, the effectiveness is evaluated and the main mechanisms of action of chondroprotectors are described, the role and feasibility of using NSAIDs in the treatment of osteoarthritis and dystrophic diseases of intervertebral discs and vertebrae are analyzed. The high efficiency of chondroprotectors has been shown, especially in the form of complex preparations based on chondroitin and glucosamine, both as monotherapy and in combination with NSAIDs. In cases of the acute pathological process, the most effective is the use of chondroprotectors of the third generation in combination with selective and highly selective NSAIDs.

Экспериментальные исследования по оценке безвредности кормовой добавки «Лозекорм» и ее производственные испытания в условиях птицеводческих хозяйств – Онищук Ф.Д., Семененко М.П., Онищук А.А., Лагунина Н.А., Катарская Т.В., Иванова А.Н. – 2023, 3 (59), с. 72

Experimental studies to assess the safety of the feed additive "Losekorm" and its production tests in the conditions of poultry farms – Onishchuk Ph.D., Semenenko M.P., Onishchuk A.A., Lagunina N.A., Kataraskaya T.V., Ivanova A.N. – 2023, 3 (59), p. 72

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 качестве иммуномодулятора для создания стойкого напряженного специфического иммунитета к инфекционным заболеваниям птицы: Ньюкаслской болезни (НБ), инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ), инфекционного бронхита кур (ИБК). Уста-

новлено, 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.

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.

Меры борьбы с арахноэнтомозами крупного рогатого скота – Шафиев А.П., Токарев А.Н. – 2023, 3 (59), с. 77

Analysis of the literature review on measures to combat arachnoentomoses of cattle – Shafiev A.P., Tokarev A.N. – 2023, 3 (59), p. 77

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.

*The purpose of our study was to study modern Russian and foreign literature sources on measures to combat such invasive diseases of cattle as chorioposis, psoroposis, bovicolysis, hematopinos 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 (chorioposis, psoroposis, bovicolysis, linognathosis, hematopinos): a group of macrocyclic lactones and a group of synthetic pyrethroids. According to the authors, the most effective treatment of chorioposis 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.*

Особенности новых лекарственных форм и задачи, выдвигаемые при создании новых систем и средств доставки – Кастарнова Е.С., Оробец В.А., Киреев И.В., Скрипкин В.С. – 2023, 4 (60), с. 69

Features of new dosage forms and tasks put forward when creating new delivery systems and means – Kastarnova E.S., Orobets V.A., Kireev I.V., Skripkin V.S. – 2023, 4 (60), p. 69

Новые лекарственные формы и системы доставки являются одним из наиболее перспективных направлений развития фармацевтической индустрии. Они позволяют решать многие проблемы, связанные с поглощением, распределением и метаболизмом лекарственных веществ в организме человека. Новые технологии и инновационные методы позволяют обеспечивать более эффективную и безопасную терапию, а также уменьшать нагрузку на пациента и снижать стоимость лечения. Разработка и использование инноваций, достижений науки и техники, модернизация в фармацевтической области оказывают существенный эффект на всю экономику. В числе первоочередных задач государства на пути инновационного развития фармотрасли выделяют стимулирование нано- и биотехнологий для решения вопросов «эффективной доставки» в организм животных известных активных веществ. В данной статье рассматриваются особенности новых лекарственных форм и задачи, выдвигаемые при создании новых систем и средств доставки.

New dosage forms and delivery systems are one of the most promising areas of development of the pharmaceutical industry. They make it possible to solve many problems related to the absorption, distribution and metabolism of drugs in the human body. New technologies and innovative methods make it possible to provide more effective and safe therapy, as well as reduce the burden on the patient and reduce the cost of treatment. The development and use of innovations, achievements of science and technology, modernization in the pharmaceutical field have a significant effect on the entire economy. Among the priorities of the state on the path of innovative development of the pharmaceutical industry is the stimulation of nano- and biotechnologies to address the issues of "effective delivery" of known active substances to the animal body. This article discusses the features of new dosage forms and the tasks put forward when creating new delivery systems and means.

Оценка токсических свойств профилактического препарата для нормализации минерального обмена у крупного рогатого скота – Кручинкина Т.В. – 2023, 4 (60), с. 76

Assessment of the toxic properties of a preventive drug for normalization of mineral metabolism in cattle – Kruchinkina T.V. – 2023, 4 (60), p. 76

В Амурской области патология обмена веществ у крупного рогатого скота регистрируется во всех районах и имеет массовый характер, так как относится к неблагоприятным биогеохимическим зонам, в которых большой дефицит всех нормируемых макро- и микроэлементов. Нарушения обменных процессов проявляются гипопроteinемией, гипогликемией, гипокальциемией, нарушением соотношения кальция и фосфора. Нами был разработан профилактический препарат для нормализации минерального обмена у крупного рогатого скота на основе природных цеолитов Вангинского месторождения. Обязательным этапом доклинического исследования нового препарата является изучение его токсикологических свойств. Острую и хроническую токсичность определяли на белых мышах. При изучении острой токсичности профилактического препарата признаки острой интоксикации у мышей отсутствовали. Определить среднелетальную дозу (LD50) не удалось. При изучении хронической токсичности установили, что включение в рацион белых мышей профилактического препарата в дозах 1,0 г/кг и 2,0 г/кг массы в течение 2-х месяцев не выявило признаков хронической интоксикации, о чем свидетельствует увеличение прироста живой массы у мышей опытных групп в 3,4 и 1,6 раза по сравнению с контролем и 100 %-ная сохранность мышей во всех группах, что подтверждает его безвредность. Исходя из полученных результатов, подтверждено, что профилактический препарат для нормализации минерального обмена крупного рогатого скота относится к IV классу токсичности – «вещества малоопасные».

In the Amur Region, the pathology of metabolism in cattle is registered in all areas and has a massive character, since it refers to unfavorable biogeochemical zones in which there is a large shortage of all normalized macro- and microelements. Metabolic disorders are manifested by hypoproteinemia, hypoglycemia, hypocalcemia, violation of the ratio of calcium and phosphorus. We have developed a preventive drug for normalization of mineral metabolism in cattle based on natural zeolites of the Wanginsky deposit. A mandatory stage of preclinical research of a new drug is the study of its toxicological properties. Acute and chronic toxicity was determined on white mice. When studying chronic toxicity, it was found that the inclusion of a prophylactic drug in the diet of white mice in doses of 1.0 g/kg and 2.0 g/kg of weight for 2 months did not reveal signs of chronic intoxication, as evidenced by an increase in live weight gain in mice of the experimental groups by 3.4 and 1.6 times compared with the control and 100 % safety of mice in all groups, which confirms its harmlessness. Based on the results obtained, it was confirmed that the prophylactic drug for normalization of mineral metabolism of cattle belongs to the IV class of toxicity – “low-risk substances”.

Опыт применения современных инсектицидов группы BuFF для борьбы с зоофильными мухами в условиях звероводческих хозяйств – Ромашова Е.Б. – 2023, 4 (60), с. 80

Experience of application of modern insecticides of the BuFF group to combat zoophilic flies in the conditions of farm breedings – Romashova E.B. – 2023, 4 (60), p. 80

Основным методом содержания пушных зверей в условиях звероводческого хозяйства являются полуоткрытые шеды, что является условием для широкого распространения зоофильных мух. В звероводческом хозяйстве «Савватьево» Тверской области нами выявлены доминирующие среди зоофильных мух виды – *Musca domestica* (сем. *Muscidae*) и *Lucilia caesar* (сем. *Calliphoridae*). Выделено несколько факторов негативного влияния этих насекомых на пушное звероводство: «фактор стресса», «фактор транспозиции», «фактор паразитизма» и «фактор беспокойства». Для борьбы с зоофильными мухами нами впервые для условий звероводческого хозяйства было проведено испытание препаратов группы BuFF («Максимум» и «Ультимейт»). Для эксперимента были выбраны два шед: шед с лисицами и шед с норками. Первый шед был обработан препаратом BuFF «Максимум», второй шед – BuFF «Ультимейт». Распыление препарата проводили с помощью специализированной машины-распылителя MT Vulcano Sprayer 300 L в присутствии животных. Препараты BuFF («Максимум» и «Ультимейт») показали высокую эффективность для борьбы с зоофильными мухами в условиях звероводческого хозяйства. После применения препаратов количество погибших насекомых для BuFF «Максимум» достигало 30–40 экз./м², для BuFF «Ультимейт» – 45–50 экз./м². Также отмечен ярко репеллентный эффект от препаратов, продолжительность которого составляет 10–20 дней. Считаем, что инсектицидные препараты BuFF можно рекомендовать в звероводческую практику с целью борьбы с зоофильными мухами и эффективного снижения их численности.

*Semi-open sheds are the main method of keeping fur-bearing animals in a fur farm, this is a condition for the wide distribution of zoophilous flies. In the fur farm “Savvat’evo” in the Tver region, we identified the dominant species of zoophilous flies – *Musca domestica* (family *Muscidae*) and *Lucilia caesar* (family *Calliphoridae*). We identified several factors of the negative impact of these insects on fur farming: “stress factor”, “transposition factor”, “parasitism factor” and “disturbance factor”. We tested drugs from the BuFF group (“Maximum” and “Ultimate”) to control zoophilous flies in a fur farm. Two shads were chosen for the experiment: a shad with foxes and a shad with minks. The first shed was treated with BuFF “Maximum”, the second shed was treated with BuFF “Ultimate”. We sprayed the drug using a specialized spray machine MT Vulcano Sprayer 300 L in the presence of animals. Preparations BuFF (“Maximum” and “Ultimate”) have shown high efficiency in the fight against zoophilous flies in fur farms. The number of dead insects*

reached: for BuFF “Maximum” 30–40 ind./m², for BuFF “Ultimate” – 45–50 ind./m². We also noted the repellent effect of drugs, the repellent effect is 10–20 days. We believe that BuFF insecticidal preparations can be recommended for fur farming practice in order to control bestial flies and effectively reduce their numbers.

Комплексное лекарственное средство для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний телят – Шульга И.С., Желябовская Д.А., Остякова М.Е., Горбачева И.Е. – 2023, 4 (60), с. 84

Complex medicinal product for the prevention and treatment of gastrointestinal diseases in calves – Shulga I.S., Zhelyabovskaya D.A., Ostyakova M.E., Gorbacheva I.E. – 2023, 4 (60), p. 84

Изучали эффективность комплексного растительного лекарственного средства в сочетании с пробиотическим штаммом *Bacillus subtilis*. В животноводческом хозяйстве, неблагополучном по желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят, было выявлено, что у телят двухдневного возраста имеется определенный бактериальный фон, на который наслаиваются микроорганизмы, попадающие в кишечник в первые дни неонатального периода. При бактериологическом исследовании биоматериала от заболевших телят установлено этиологическое значение бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в возникновении массовых желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят. Профилактическая эффективность предлагаемого комплексного лекарственного средства в отношении желудочно-кишечных заболеваний у телят была в сравнении с контролем в 3,5 раза выше. Заболевшие телята опытной группы болели в легкой форме, клиническое выздоровление заболевших телят опытной группы отмечалось, в 1,7–2,3 раза быстрее. Изучение состояния микробиоценоза кишечника после окончания эксперимента показало положительные изменения в структуре микробиоценоза у телят, получавших в течение 10 дней комплексное лекарственное средство в сочетании с пробиотическим штаммом *Bacillus subtilis*.

In the livestock farm unfavourable for gastrointestinal diseases of newborn calves it was revealed that two-day-old calves have a certain bacterial background on which microorganisms entering the intestine in the first days of the neonatal period are layered. At bacteriological study of biomaterial from diseased calves the etiological importance of bacteria of Enterobacteriaceae family in the occurrence of mass gastrointestinal diseases of newborn calves was established. The prophylactic efficacy of the proposed complex medicinal product in relation to gastrointestinal diseases in calves was 3.5 times higher in comparison with the control. Sick calves of the experimental group were sick in a mild form, clinical recovery of sick calves of the experimental group was 1.7–2.3 times faster. The study of intestinal microbiocenosis after the end of the experiment showed positive changes in the structure of microbiocenosis in calves that received complex drug in combination with probiotic strain of Bacillus subtilis for 10 days.

ФИЗИОЛОГИЯ / PHYSIOLOGY

Коррекция даларгином активности перекисного окисления липидов в плазме крови и селезенке у белых крыс с экспериментальным гипотиреозом – Гармаева Д.В., Сиразиев Р.З., Кузнецов А.И. – 2023, 1 (57), с. 8

Correction of lipid peroxidation activity in blood plasma and spleen by dalargin in white rats with experimental hypothyroidism – Garmaeva D.V., Siraziev R.Z., Kuznetsov A.I. – 2023, 1 (57), p. 8

Исследование выполнено на белых беспородных крысах с индуцированным гипотиреозом. Гипотиреоз моделировали с помощью мерказолила в дозе 10 мг/кг (перорально, ежедневно в течение 8 недель). Изучали влияние даларгина 0,1 мг/кг (внутримышечно, ежедневно, 10 дней) на концентрацию продуктов ПОЛ (малоновый диальдегид и диеновые конъюгаты) в крови и селезенке, а также на антиокислительную активность. Выявлено, что интенсивность ПОЛ зависит от тиреоидного статуса организма. Продукты ПОЛ у гипотиреоидных крыс активировались, при этом замедлялось превращение диеновых конъюгатов (ДК) в малоновый диальдегид (МДА), они накапливались в селезенке и частично вымывались в кровь. Введение даларгина существенно ограничивало вымывание продуктов ПОЛ из селезенки в кровь, способствовало превращению ДК в МДА и сохранению антиокислительного потенциала органа и крови.

The study was performed on white mongrel rats with induced hypothyroidism. Hypothyroidism was modeled using mercazolil at a dose of 10 mg/kg (orally, daily for 8 weeks). The effect of dalargin (0.1 mg/kg, intramuscularly, daily, 10 days) on the concentration of lipid peroxidation (LPO) products was studied (malonic dialdehyde and diene conjugates) in the blood and spleen, as well as antioxidant activity. We found that lipid peroxidation intensity depends on the thyroid status of the organism. LPO products in hypothyroid rats were activated, while the conversion of diene conjugates (DC) into malondialdehyde (MDA) was slowed down. They accumulated in the spleen and were partially washed out into the blood. The introduction of dalargin significantly limited the leaching of LPO products from the spleen into the blood, contributed to the transformation of DC into MDA and the preservation of the antioxidant potential of the organ and blood.

Влияние интервального тренинга на биохимические показатели сыворотки крови лошадей, участвующих в дистанционных конных пробегах на 80 км – Семенов Б.С., Гусева В.А., Назарова А.В., Кузнецова Т.Ш. – 2023, 2 (58), с. 3

The effect of interval training on biochemical parameters of blood serum of horses participating in distance horse run for 80 km – Semenov B.S., Guseva V.A., Nazarova A.V., Kuznetsova T.Sh. – 2023, 2 (58), p. 3

Задачей исследования было сравнить влияние обычного тренинга и интервальной тренировки на биохимические показатели сыворотки крови лошадей, участвующих в пробегах на дистанции 80 км. С учетом характера

тренинга сформировано две группы лошадей по 10 голов в каждой с учетом пола, возраста. Кровь для биохимического исследования у лошадей отбирали до старта и повторно после прохождения ветеринарного контроля на окончательной ветеринарной инспекции – после финиша. При оценке показателей крови лошадей первой группы, которые тренировались без интервального тренинга, были выявлены значительные диапазоны изменений некоторых показателей сыворотки крови. У лошадей 2-й группы по многим показателям диапазон изменений был ниже по сравнению с лошадьми 1-й группы. Наши исследования показали, что интервальная тренировка является более эффективной. Лошади, которых готовили к соревнованиям с помощью интервального тренинга, имели меньший диапазон изменений показателей сыворотки крови до и после соревнований и получали высшие оценки за состояние мышечной ткани, качество движений рысью и дегидратации.

The aim of the study was to compare the effect of regular training and interval training on the biochemical parameters of blood serum of horses participating in runs at a distance of 80 km. Taking into account the nature of the training, two groups of horses of 10 heads each were formed, taking into account gender and age. Blood for biochemical examination from horses was taken before the start and again after passing veterinary control at the final veterinary inspection – after the finish. When assessing the blood parameters of the horses of the first group who trained without interval training, significant ranges of changes in some blood serum parameters were revealed. In the horses of the 2nd group, the range of changes was lower in many indicators compared to the horses of the 1st group. Our research has shown that interval training is more effective. Horses that were prepared for competitions using interval training had a smaller range of changes in blood serum parameters before and after.

Некоторые особенности формирования контакта между химическими синапсами и мембраной астроцитов в первичной соматосенсорной коре головного мозга крыс – Филиппова С.Ю., Кириченко Е.Ю., Логвинов А.К. – 2023, 2 (58), с. 10

Some features of the formation of contact between chemical synapses and the astrocyte membrane in the primary somatosensory cortex of the rat brain – Filippova S.Yu., Kirichenko E.Yu., Logvinov A.K. – 2023, 2 (58), p. 10

Контакт астроцита и химического синапса – это место сигнальных и транспортных процессов, играющих важную роль в функционировании нервной системы и патогенезе неврологических заболеваний человека и животных. Перед исследованием была поставлена цель – изучить связь между средним размером активной зоны синапса и частотой образования контакта синапса и мембраны астроцита в слоях коры головного мозга крыс. Материалом для исследования послужили 40 мкм фронтальные срезы первичной соматосенсорной коры 5 беспородных белых крыс мужского пола. Маркирование астроцитов для ТЭМ проводили путем инкубации срезов с первичными антителами к белку s100 β и вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена, с последующим проявлением метки в реакции с ДАБ. Для каждого слоя было получено по 250 снимков с увеличением 25 000. На снимках измеряли длину синаптической щели и подсчитывали количество синапсов, образующих контакт с мембраной астроцита. Исследование показало, что в V и VI слоях частота образования исследуемого контакта в первичной соматосенсорной коре крыс не связана со средней длиной синаптической щели. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что контакт образуется в результате сочетания случайного события встречи мембран с последующим избирательным закреплением или отталкиванием мембраны астроцита под действием различных факторов.

The astrocyte and chemical synapse contact is the site of signaling and transport processes that play an important role in the functioning of the nervous system and the pathogenesis of neurological diseases in humans and animals. Our goal was to study the relationship between the average size of synapse active zone and the frequency of the contact between the synapse and the astrocyte membranes formation in the layers of rat cerebral cortex. The material for the study was 40 μ m frontal sections of the primary somatosensory cortex of 5 outbred male white rats. Astrocytes were labeled for TEM by incubation of sections with primary antibodies to the s100 β protein and secondary antibodies conjugated with horseradish peroxidase, followed by the label development in the reaction with DAB. For each layer, 250 images were obtained with a magnification of 25 000. On the images the length of the synaptic cleft was measured and the number of synapses forming contact with the astrocyte membrane was counted. The study showed that in V and VI layers of somatosensory cortex, the studied contact formation frequency is not associated with the average length of the synaptic cleft. The data obtained suggest that the contact is formed as a result of a combination of a random event of membrane encounter with subsequent selective fixation or repulsion of the astrocyte membrane under the influence of various factors.

ЭКОЛОГИЯ / ECOLOGY

Анализ последствий изменения климата для морских млекопитающих Арктики – Гапонова В.Н., Непочатая С.А. – 2023, 1 (57), с. 3

Analysis of the effect of climate change on Arctic marine mammals – Gaponova V.N., Nepochataya S.A. – 2023, 1 (57), p. 3

Последствия изменения климата – потепление, сокращение арктического морского ледяного покрова – существенно отражается на многих представителях популяций морских млекопитающих, таких как настоящие тюлени, гренландский кит, морж, кольчатая нерпа, включая белого медведя. Ведущую роль среди причин глобального потепления занимают факторы антропогенного характера. Изменения, связанные с потеплением климата, затрагивают многие экосистемы, при этом влияние может быть различным в за-

висимости от вида и популяции. К основным из них можно отнести: уменьшение толщины и площади ледяного покрова и изменение температуры окружающей среды, миграции, изменения в пищевой цепи – кормовой базы, хищников, конкурентных видов, появление новых инфекционных и инвазионных заболеваний, изменения поведения, фенотипа и генотипа животных, которые могут оказать огромное влияние как на отдельные популяции, так и на виды в целом. Необходимо учитывать последствия изменений климата, возникающие в популяциях морских млекопитающих Арктики в связи с глобальным потеплением, и вовремя предпринимать меры по сохранению данных видов животных при угрозе снижения численности их популяций.

The consequences of climate warming changes, the reduction of the Arctic sea ice cover, significantly affects many representatives of marine mammal populations, such as real seals, bowhead whale, walrus, ringed seal, including polar bear. Anthropogenic factors play a leading role among the causes of global warming. Changes associated with climate warming affect many ecosystems, while the impact may vary depending on the species and population. The main ones include: a decrease in the thickness and area of the ice cover and changes in the temperature of the environment, migration, changes in the food chain – food supply, predators, competitive species, the emergence of new infectious and invasive diseases, changes in behavior, phenotype and genotype of animals, which can have a huge impact on both individual populations and the views in general. It is necessary to take into account the consequences of climate change occurring in the populations of Arctic marine mammals due to global warming and take timely measures to preserve these animal species in the face of the threat of a decline in their populations.

ЭМБРИОЛОГИЯ / EMBRIOLOGY

Технология клонирования сельскохозяйственных животных методом Hand-made Cloning (обзор литературы) – Кириенко К.В., Апрышко В.П., Яковенко С.А. – 2023, 4 (60), с. 15

Farm animal cloning technology by Hand-made Cloning (literature review) – Kirienko K.V., Apryshko V.P., Yakovenko S.A. – 2023, 4 (60), p. 15

Тема настоящего обзора посвящена технике Hand-made Cloning, т. е. технике «ручного» клонирования, которая является альтернативным методом переноса ядер соматических клеток. Классический метод ядерного переноса с целью получения клонированных животных требует использования дорогостоящего и сложного оборудования, в том числе инвертированного микроскопа и микроманипуляторов. Инновационный подход техники Hand-made Cloning подразумевает манипулирование с ооцитами и эмбрионами, лишенными блестящей оболочки, так как удаление *zona pellucida* существенно облегчает и ускоряет отдельные этапы технологии клонирования, что приводит к сравнимому, или даже более высокому уровню рождаемости, чем при использовании традиционного клонирования. Применение Hand-made Cloning радикально снижает затраты на приобретение дорогостоящего оборудования и потребность в квалифицированной рабочей силе. Кроме того, техника Hand-made Cloning позволяет интенсифицировать производственный процесс получения клонированных эмбрионов и увеличить эффективность технологии клонирования в целом.

The topic of this review is devoted to the Hand-made Cloning technique, i.e. the technique of “manual” cloning, which is an alternative method of somatic cells nuclear transfer. The classical method of nuclear transfer to obtain cloned animals requires the use of expensive and sophisticated equipment, including an inverted microscope and micromanipulators. The innovative approach of the Hand-made Cloning technique involves the manipulation of zona pellucida free oocytes and embryos, since the removal of the zona pellucida greatly facilitates and speeds up the individual steps of the cloning technology, resulting in a comparable or even higher birth rate than using traditional cloning. The application of Hand-made Cloning radically reduces the cost of acquiring expensive equipment and the need for skilled labor. In addition, the Hand-made Cloning technique makes it possible to intensify the production process for obtaining cloned embryos and increase the efficiency of cloning technology as a whole.

ЭПИЗООТОЛОГИЯ / EPIZOOTOLOGY

Экодинамика бешенства – Макаров В.В., Барсуков О.Ю., Барсуков Ю.И., Домский Ю.А. – 2023, 1 (57), с. 12
Ecodynamics of rabies – Makarov V.V., Barsukov O.Yu., Barsukov Yu.I., Domskey I.A. – 2023, 1 (57), p. 12

Паразитосистемные отношения вируса бешенства (RABV) связаны с видами-хозяевами, как правило, отрядов *Carnivora* и *Chiroptera*. Вместе с тем хищники и рукокрылые далеко не всех видов являются резервуарами, и существуют потенциальные резервуары вне этих таксонов. Новые паразитохозяинные ассоциации с формированием новых вариантов паразитарных систем возникают из-за случайных, исторически редких трафиков RABV в популяции других видов. Многочисленные случаи межвидовой передачи инфекции в большинстве сопровождаются неудачными результатами (экологическими или эпизоотическими тупиками). Тем не менее некоторое количество заражений приводит к трансмиссии RABV среди вида-реципиента. Несмотря на универсальную чувствительность к RABV всех млекопитающих и потенциальную предрасположенность к восприимчивости многих видов, истинными паразитосистемными хозяевами, обеспечивающими укорене-

ние инфекции в экологическом и эпизоотологическом контексте, могут быть представители только нескольких таксонов, внутривидовые особенности которых соответствуют вполне определенным детерминантам. Исходный этап естественно-исторической смены хозяина RABV определяется исключительно экологическими факторами, которые обеспечивают изначальные «технические» возможности для межвидовой экспозиции и передачи инфекции. Различные стратегии персистенции у хозяев разных видов и фенотипические различия между вариантами RABV свидетельствуют о важной роли генетической пред- и постадаптации вируса к экологическим факторам хозяина. Очевидно, что проблема экодинамики бешенства и межгостального траффика далека от решения. Видовое многообразие млекопитающих, вовлекаемых в эпизоотический процесс на территории РФ, прежде всего сельскохозяйственных и мелких домашних животных, регистрация инцидентов среди автохтонных летучих мышей и в целом отношение как к пренебрегаемой инфекции делает актуальной проблему экодинамики бешенства в национальном масштабе.

The parasitic system relationship of rabies virus (RABV) is associated with host species in the main the orders Carnivora and Chiroptera. At the same time predators and bats are by no means reservoirs of all species and there are potential reservoirs outside these taxa. New parasitic host associations with the formation of new variants of parasitic systems arise due to random, rare historical traffic of RABV in the population of other species. Numerous cases of cross-species transmission of infection are mostly accompanied by unsuccessful results (ecologic or epizootic deadlocks). However a certain number of infections result in the transmission of RABV among the recipient species. Despite the universal sensitivity to RABV of all mammals and the potential predisposition to susceptibility of many species only a few taxa can be true parasite systemic hosts that ensure the rooting of the infection in the ecological and epizootological context the intraspecies features of which meet quite specific requirements. The initial stage of the natural historic shifts of the RABV host is determined solely by environmental factors that provide the initial “technic” opportunities for cross-species exposure and transmission of infection. Different persistence strategies in hosts of different species and phenotypic differences between RABV variants suggest an important role for genetic pre- and post-adaptation of the virus to host environmental factors. Obviously, the problem of the ecodynamics of rabies and between host traffic is far from being solved. The species diversity of mammals involved in the epizootic process on the territory of the Russian Federation primarily agricultural and small domestic animals the registration of incidents among autochthonous bats and in general the attitude as a neglected infection makes the problem of rabies ecodynamics on a national scale relevant.

Эпизоотологический мониторинг инфекционных и инвазионных болезней животных в республике Башкортостан – Николаева О.Н., Муллаярова И.Р., Савинцев Д.А. – 2023, 2 (58), с. 32

Epizootological monitoring of infectious and invasive animal diseases in the republic of Bashkortostan – Nikolaeva O.N., Mullayarova I.R., Savintsev D.A. – 2023, 2 (58), p. 32

Своевременное проведение эпизоотологического мониторинга, разработка и внедрение профилактических мероприятий являются необходимыми условиями контроля инфекционных и инвазионных болезней. В целях профилактики возникновения особо опасных и массовых заболеваний, в том числе общих для человека и животных, в республике Башкортостан ежегодно проводится лабораторный диагностический мониторинг. Целью исследований явилось проведение эпизоотологического мониторинга в республике Башкортостан по инфекционным и инвазионным заболеваниям за 2019–2021 гг. в Бирском, Бураевском, Караидельском и Мишкинском районах. Установлено, что на северо-востоке республики Башкортостан стабильная эпизоотическая ситуация по бруцеллезу и лептоспирозу сельскохозяйственных животных, сапу лошадей и инфекционному эпидидимиту баранов, инфекционной анемии лошадей, случной болезни лошадей. Отмечается тенденция к снижению случаев лейкоза крупного рогатого скота и хламидиоза сельскохозяйственных животных. Наиболее распространенными инвазионными и протозойными заболеваниями остаются стронгилятозы желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных и пироплазмоз собак.

Timely epizootological monitoring, development and implementation of preventive measures are necessary conditions for controlling infectious and invasive diseases. In order to prevent the emergence of particularly dangerous and mass diseases, including those common to humans and animals, in the Republic of Bashkortostan annual diagnostic activities are carried out. The purpose of the research was to conduct epizootological monitoring in the Republic of Bashkortostan on infectious and invasive diseases for 2019–2021. As a result of the studies it was found that in Birska, Burayevsky, Karaidelsky and Mishkinsky districts of the Republic of Bashkortostan stable epizootic situation on brucellosis, leptospirosis of farm animals, sap of horses and infectious epididymitis rams, infectious horse anemia, horse mating disease, there is a downward trend of cases of bovine leukosis and chlamydiosis of farm animals. The most widespread invasive and protozoan diseases remain strongylatosis of gastrointestinal tract of farm animals and pyroplasmosis of dogs.

Экотипы паразитарной системы бешенства в Бразилии – Лохмачёва С.В. – 2023, 3 (59), с. 41

Ecotypes of the parasitic system of rabies in Brasil – Lokhmacheva S.V. – 2023, 3 (59), p. 41

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.

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 virulence 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.

Контроль напряженности иммунитета животных, вакцинированных против бешенства, и рекомендации применения данного исследования в условиях Санкт-Петербурга – Алиев А.А., Березкин В.А., Дресвянникова С.Г., Тарлавин Н.В., Веретенников В.В., Красков Д.А., Искендерова Н.Э., Лаврик А.А. – 2023, 4 (60), с. 27

Control of immunity tension of animals vaccinated against rabies and recommendations for the use of this study in the conditions of St. Petersburg – Aliev A.A., Berezkin V.A., Dresvyannikova S.G., Tarlavin N.V., Veretennikov V.V., Kraskov D.A., Iskenderova N.E., Lavrik A.A. – 2023, 4 (60), p. 32

Отметка о вакцинации против бешенства в ветеринарном паспорте животного, несет только информативный характер. В реалиях современного мира доказательством вакцинации является наличие антител в крови животного, которое можно установить, проведя лабораторный тест. Для этого используют серологический тест – FAVN (fluorescent antibody virus neutralization test). Тест измеряет количество антител, вырабатываемых в крови животного после вакцинации против бешенства. Данный тест обычно требуют проводить при вывозе животного за границу с выдачей соответствующего сертификата. Вирус бешенства в Российской Федерации циркулирует как в популяции собак, так и среди диких животных, поэтому проведение тестирования на антирабические антитела иммунизированных животных может быть актуальным и в иных случаях. В этой статье была поставлена цель выяснить, в каких случаях необходимо использовать данное исследование.

The mark of vaccination against rabies in the veterinary passport of the animal is only informative. In the realities of the modern world and due to the fact that science is taking leaps and bounds, the proof of vaccination is the presence of antibodies in the blood of an animal, which can be established by conducting a laboratory test. For this purpose, one of the most complex serological tests used in laboratory practice is used – RFFIT (rapid fluorescent focus inhibition test) and FAVN (fluorescent antibody virus neutralization test). The test measures the amount of antibodies produced in the animal's blood. This test is usually required to be carried out when exporting an animal abroad with the issuance of an appropriate certificate. The rabies virus in the Russian Federation circulates in the dog population and wild fauna, so testing for anti-rabies antibodies is necessary. In this article, the goal was to find out in which cases it is necessary to use this study.

Лиссавирусы (краткий обзор литературы) – Макаров В.В., Барсуков О.Ю., Барсуков Ю.И., Лохмачёва С.В. – 2023, 4 (60), с. 38

Lyssaviruses (brief informative literature review) – Makarov V.V., Barsukov O.Yu., Barsukov Yu.I., Lokhmacheva S.V. – 2023, 4 (60), p. 33

Краткий информационный обзор посвящен общей характеристике рода лиссавирусов – возбудителей классического бешенства и подобных зоонозных заболеваний. Приведены современные данные и иллюстрации по таксономии, структуре и составу, антигенности, патогенности и эпидемиологии.

A brief informational review is devoted to the general characteristics of the genus of lyssaviruses – the causative agents of classical rabies and rabies-like zoonotic diseases. Modern data and illustrations on taxonomy, structure and composition, antigenicity, pathogenicity and epidemiology are given.

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