



Всероссийский научно-исследовательский институт
фундаментальной и прикладной паразитологии
животных и растений

Филиал ФГБНУ «ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко РАН»

Том 16
Выпуск 3'2022

ISSN 1998-8435 (Print)
ISSN 2541-7843 (Online)

РОССИЙСКИЙ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Фундаментальные и прикладные вопросы паразитологии

В ВЫПУСКЕ:

- **Биохимия, биотехнология и диагностика**
Biochemistry, Biotechnology and Diagnostics
- **Патогенез, патология и экономический ущерб**
Pathogenesis, Pathology of Economic Damage
- **Фармакология, токсикология**
Pharmacology, Toxicology
- **Лечение и профилактика**
Treatment and Prevention
- **Наши юбилеры**
Our Anniversaries

RUSSIAN JOURNAL OF PARASITOLOGY

Vol. 16
Issue 3'2022



Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал ФГБНУ «ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко РАН»

DOI: 10.31016/1998-8435-2022-16-3

ISSN 1998-8435 (Print)
ISSN 2541-7843 (Online)

РОССИЙСКИЙ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 16
Выпуск 3'2022

Фундаментальные и прикладные вопросы паразитологии



All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”

DOI: 10.31016/1998-8435-2022-16-3

ISSN 1998-8435 (Print)
ISSN 2541-7843 (Online)

RUSSIAN JOURNAL OF PARASITOLOGY

Vol. 16
Issue 3'2022

Fundamental and Applied Questions of Parasitology

Научно-практический журнал

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФГБНУ «ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко РАН»
109428 г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, корп. 1

ИЗДАТЕЛЬ

Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН
117218 г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28

РЕДАКЦИЯ ЖУРНАЛА

117218 г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28
Телефон: +7 (499) 124-5655, 124-33-35, 125-66-98

Scientific and practice-oriented journal

FOUNDER

Federal State Budget Scientific Institution
“Federal Scientific Centre VIEV”
Ryazansky avenue, 24-1, 109428, Moscow, Russian Federation

PUBLISHER

All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution
“Federal Scientific Centre VIEV”
B. Cheremushkinskaya st., 28, 117218, Moscow, Russian Federation

EDITORS OFFICE ADDRESS

B. Cheremushkinskaya st., 28, 117218, Moscow, Russian Federation
Tel.: +7 (499) 124-5655, 124-33-35, 125-66-98

E-mail: journal@vniigis.ru
Website: <https://www.vniigis.ru>

«РОССИЙСКИЙ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ»

Международный журнал по фундаментальным и прикладным вопросам паразитологии

«Российский паразитологический журнал» предназначен для научных исследователей в области медицинской, ветеринарной и фитопаразитологии из различных стран мира: России, стран СНГ, Ближнего и Дальнего Зарубежья.

Журнал является Международным научно-практическим изданием по фундаментальным и прикладным вопросам паразитологии и единственным в России изданием по ветеринарной паразитологии и фитогельминтологии.

Журнал рекомендован **ВАК Минобрнауки России** для публикации научных работ, отражающих основное научное содержание кандидатских и докторских диссертаций

Журнал включен в **Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)**. Полнотекстовые версии статей, публикуемых в журнале, доступны на сайте Научной электронной библиотеки **eLIBRARY.RU** (<https://elibrary.ru>).

В настоящее время журнал присутствует и индексируется в российских и международных наукометрических базах данных и специализированных ресурсах, таких как RSCI, Agris и др.

Журнал является членом Комитета по этике научных публикаций, Ассоциации научных редакторов и издателей (АНРИ) и CrossRef.

Журнал придерживается лицензии «**Creative Commons Attribution 4.0 License**». Все материалы журнала доступны бесплатно для пользователей.

Авторы имеют право распространять свои материалы без ограничений, но со ссылкой на журнал.

<https://www.vniigis.ru>

Российский паразитологический журнал

Журнал издается с 2007 года

Зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций
Свидетельство ПИ № ФС77-26864 от 12 января 2007 г.

Перерегистрирован по причине изменения названия учредителя
Свидетельство ПИ № ФС77-74051 от 19 октября 2018 г.

Выходит 1 раз в квартал

Подписной индекс в каталоге «Почта России» ПН282

Журнал рекомендован ВАК Минобрнауки России для публикации научных работ, отражающих основное научное содержание кандидатских и докторских диссертаций

Журнал включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)

Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН

Руководитель: М. В. Арисов

Зам. руководителя по науке: И. А. Архипов

Тираж: 100 экз. Заказ № 3-001-2/2022. Свободная цена.

Формат: 70 x 108 1/16. Усл. печ. л. 10,75.

Подписано в печать: 14.09.2022

Электронная версия журнала:

<https://www.vniigis.ru>, <https://www.elibrary.ru>

Редакция приносит извинения за случайные грамматические ошибки.

Знаком информационной продукции не маркируется.

© Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, 2022

РЕДАКЦИЯ

Главный редактор

АРХИПОВ Иван Алексеевич, доктор ветеринарных наук, профессор, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Scopus ID: 12783579100, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkhipovhelm@mail.ru (Москва, Россия)

Заместители главного редактора

АРИСОВ Михаил Владимирович, доктор ветеринарных наук, профессор РАН, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, director@vniigis.ru (Москва, Россия)

УСПЕНСКИЙ Александр Витальевич, доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАН, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, a.v.uspensky@mail.ru (Москва, Россия)

Научный редактор

АРХИПОВА Дина Рамильевна, кандидат биологических наук, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, arkhipovhelm@mail.ru (Москва, Россия)

Ответственный секретарь

ВАРЛАМОВА Анастасия Ивановна, secretar@vniigis.ru (Москва, Россия)

Переводчик

ЯРЦЕВА Ангелина Сергеевна, bplogistika@mail.ru (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

ВАСИЛЕВИЧ Федор Иванович, академик РАН, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина; ORCID ID:0000-0003-0786-5317; SCOPUS ID: 57190309524; Researcher ID: K-9491-2015, rector@mgavm.ru (Москва, Россия)

ГОРОХОВ Владимир Васильевич, доктор биологических наук, профессор, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН; SCOPUS ID: 7005745406; gorohov@vniigis.ru (Москва, Россия)

ЗИНОВЬЕВА Светлана Васильевна, доктор биологических наук, Центр паразитологии ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН; ORCID ID: 0000-0002-0969-4569; SCOPUS ID: 6701599663; Researcher ID: Q-1756-2015; zinovievas@mail.ru (Москва, Россия)

КУРОЧКИНА Каринэ Гегамовна, доктор ветеринарных наук, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН; vog@vniigis.ru (Москва, Россия)

МАЛЫШЕВА Наталия Семеновна, доктор биологических наук, профессор, Курский Государственный Университет; SCOPUS ID: 7004568180; malisheva64@mail.ru (Курск, Россия)

МОВСЕЯН Сергей Оганесович, академик НАН Армении, Центр паразитологии ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН; SCOPUS ID: 6506375449; movsesyan@list.ru (Москва, Россия)

НАЧЕВА Любовь Васильевна, доктор биологических наук, профессор, Кемеровский государственный медицинский университет; SCOPUS ID: 6506186615; nacheva.48@mail.ru (Кемерово, Россия)

НИКИТИН Василий Филиппович, доктор ветеринарных наук, профессор, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН; secretar@vniigis.ru (Москва, Россия)

САФИУЛЛИН Ринат Туктарович, доктор ветеринарных наук, профессор, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН; ORCID ID: 0000-0003-0450-5527; SCOPUS ID: 7004260282; Researcher ID: N-2261-2018; safiullin_r.t@mail.ru (Москва, Россия)

СЕРГИЕВ Владимир Петрович, академик РАН, Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского Московского Государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; SCOPUS ID: 7004845265, Researcher ID: U-5520-2017; v.sergiev@yandex.ru (Москва, Россия)

СУЛЕЙМЕНОВ Маратбек Жаксыбекович, доктор ветеринарных наук (РГП «Институт зоологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан; maratbeks@mail.ru (Алматы, Казахстан)

ШЕСТЕПЕРОВ Александр Александрович, доктор биологических наук, профессор, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН; shesteperov@vniigis.ru (Москва, Россия)

BANKOV Iliа Y., профессор, Институт экспериментальной патологии и паразитологии Болгарской академии наук Scopus ID: 6602741010; office@cu.bas.bg (София, Болгария)

CABAI Wladislaw Yan, профессор, Институт паразитологии Польской академии наук; SCOPUS ID: 7003489179, ORCID ID: 0000-0002-4096-6462; cabajw@twarda.pan.pl (Варшава, Польша)

DEMIASZKIEWICZ Aleksander W., доктор ветеринарных наук, профессор, Институт паразитологии им. В. Стефанского Польской академии наук; SCOPUS ID: 6603786558, ORCID ID: 0000-0002-2799-3773; aldem@twarda.pan.pl (Варшава, Польша)

DUBINSKY Pavol, профессор, Институт паразитологии Словацкой академии наук; SCOPUS ID: 7004816422; dubinsky@saske.sk (Кошице, Словацкая Республика)

SANTIAGO Mas-Coma, профессор, Департамент паразитологии, Университет Валенсия; ORCID ID: 0000-0002-1685-7004, SCOPUS ID: 7003404234, Researcher ID: L-8319-2014; S.Mas.Coma@uv.es (Валенсия, Испания)

MOSER M., профессор, Центр по изучению паразитарных болезней Калифорнийского университета (Сан-Франциско, США)

PANAYOTOVA-PENCHEVA Mariana Stancheva, доктор биологических наук, Институт экспериментальной морфологии, патологии и антропологии с музеем (ИЕМПАМ) БАН; SCOPUS ID: 14834127000; marianasp@abv.bg (София, Болгария)

PETKO Branislav, профессор, Институт паразитологии Словацкой академии наук; ORCID ID: 0000-0001-5373-177X, SCOPUS ID: 13403121700; petko@saske.sk (Кошице, Словацкая Республика)

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ И ЧИТАТЕЛЕЙ

Все статьи журнала «Российский паразитологический журнал» находятся в открытом доступе – на сайте издания (<https://www.vniigis.ru>), в Научной электронной библиотеке (<https://elibrary.ru>) и прочих наукометрических ресурсах. Допускается свободное воспроизведение материалов журнала в личных целях и свободное использование в информационных, научных, учебных или культурных целях в соответствии со ст. 1273 и 1274 гл. 70 ч. IV Гражданского кодекса РФ. Иные виды использования возможны только после заключения соответствующих письменных соглашений с правообладателем.

Редакционная политика журнала базируется на современных юридических требованиях в отношении авторского права, законности и плагиата, поддерживает Кодекс этики научных публикаций и принципы работы редакторов и издателей, разработанные Международным Комитетом по публикационной этике (COPE)

Все статьи проверяются на плагиат. В случае обнаружения многочисленных заимствований редакция действует в соответствии с правилами COPE.

Все научные статьи, поступившие в редакцию журнала «Российский паразитологический журнал», проходят обязательное анонимное («слепое») рецензирование (авторы рукописи не знают рецензентов и получают письмо с замечаниями за подписью главного редактора). При принятии решения о публикации единственным критерием является качество работы – оригинальность, важность и обоснованность результатов, ясность изложения. На основании анализа статьи принимается решение о рекомендации ее к публикации (без доработки или с доработкой), либо об отклонении. В случае несогласия автора статьи с замечаниями рецензентов его мотивированное заявление рассматривается редакционной коллегией.

Наличие положительной рецензии не является достаточным основанием для публикации статьи. Окончательное решение о публикации принимается редакционной коллегией. В конфликтных ситуациях решение принимает главный редактор.

Решение об отказе в публикации рукописи принимается на заседании редакционной коллегии в соответствии с рекомендациями рецензентов. Статья, не рекомендованная решением редакционной коллегии к публикации, к повторному рассмотрению не принимается. Сообщение об отказе в публикации направляется автору по электронной почте.

Статьи в журнале публикуются после получения положительных рецензий. В соответствии с политикой открытого доступа деятельность «Российского паразитологического журнала» финансируется за счет авторов, желающих опубликовать результаты научного исследования.

Статьи сотрудников ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и аспирантов публикуются бесплатно. Сторонние авторы публикуются в журнале на платной основе. Оплата редакционно-издательских услуг производится только после того, как статья принята к публикации. За подачу статьи, её проверку и рецензирование плата не взимается.

Общие правила публикации (подробнее см. <https://www.vniigis.ru>):

Авторы гарантируют, что статья является оригинальным произведением, и они обладают исключительными авторскими правами на нее. Все Авторы обязаны раскрывать в своих рукописях финансовые или другие существующие конфликты интересов, которые могут быть восприняты как оказавшие влияние на результаты или выводы, представленные в работе.

При подаче статьи Авторы соглашаются с положениями предоставляемого редакцией Авторского договора.

Для публикации научной статьи Авторы должны надлежащим образом оформить и представить в электронном виде необходимые материалы: рукопись статьи и сопроводительные документы к ней. Рукописи должны быть оформлены строго в соответствии с «Правилами оформления рукописи научной статьи», представленными на сайте журнала, тщательно структурированы, выверены и отредактированы Авторами.

Структура статьи (подробнее см. <https://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskij-zhurnal>):

1. Код УДК.
2. ФИО авторов и аффилиация (*на русском и английском языках*).
3. Название статьи – не более 10-ти слов (*на русском и английском языках*).
4. Аннотация – не менее 200–250 слов; должны быть четко обозначены следующие составные части (*на русском и английском языках*):
 - 1) Цель исследований (The purpose of the research);
 - 2) Материалы и методы (Materials and methods);
 - 3) Результаты и обсуждение (Results and discussion);
5. Ключевые слова – 5–10 слов (*на русском и английском языках*).
6. Благодарности / Признательность (*на русском и английском языках*).
7. Основной текст статьи – излагается в определенной последовательности с соответствующими подзаголовками (*на русском и английском языках*):
 - 1) "Введение" (Introduction) – 1–2 стр.;
 - 2) "Материалы и методы" (Materials and Methods) – 1–2 стр.;
 - 3) "Результаты и обсуждение" (Results and Discussion) – основной раздел, сопровождается иллюстрациями (таблицами, графиками, рисунками) или "Результаты исследований" и "Обсуждение";
 - 4) "Заключение" (Conclusion).
8. Список источников – для оригинальной научной статьи не менее 15–25 источников, для научного обзора не менее 50–80 источников (*на русском и английском языках*).
9. Вклад соавторов (*на русском и английском языках*).

Более подробная информация о журнале для авторов и читателей:

<https://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskij-zhurnal>

ISSN 1998-8435 (Print)

ISSN 2541-7843 (Online)

RUSSIAN JOURNAL OF PARASITOLOGY

International Journal of Fundamental and Applied Parasitology

“**Russian Journal of Parasitology**” is intended for scientific researchers in the field of medical, veterinary and phytoparasitology from various countries of the world: Russia, Countries of the Union of Independent States, the Near and Far Abroad.

The Journal is an international scientific and practical publication on fundamental and applied questions of parasitology and the only Russian edition on veterinary parasitology and phytohelminthology.

The journal is included in the list of peer-reviewed journals established by the Highest Certification Commission (HCC) of Russian Federation [Vysshaya attestatsionnaya komissiya (VAK) Rossijskoj Federacii].

All articles of the journal are publicly available – on the websites of the journal and the **Scientific Electronic Library** (<https://elibrary.ru>). The journal is included in the **Russian Science Citation Index** (RSCI; see https://elibrary.ru/project_risc.asp).

The Journal is present and indexed in Russian and International science-based databases and specialized resources.

All materials of the journal “**Russian journal of parasitology**” are published by using the license **Creative Commons Attribution 4.0 License**, allowing loading and distributing works on the assumption of indicating the authorship. The works may not be changed in any way or used for commercial interests.

The authors of the materials published in the journal have every right to distribute them without restrictions, but with reference to the journal.

<https://www.vniigis.ru>

Russian Journal of Parasitology

Published since 2007

Registration Certificate ПИ № ФС77-26864 of October 12, 2007
by the Ministry of Press, Broadcasting
and Mass Communications of the Russian Federation

Re-Registration Certificate ПИ № ФС77-74051 of October 19, 2018
by the Ministry of Press, Broadcasting
and Mass Communications of the Russian Federation

Goes out trimestral

Subscription index in catalogue “Russian Post” ПН282

The journal is recommended by VAK (the Higher Attestation Commission) of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation to publish scientific works encompassing the basic matters of theses for advanced academic degrees

Included in the Russian Science Citation Index (RSCI)

All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”

Acting Director of Institute: Mikhail V. Arisov

Deputy Director for Science: Ivan A. Arkhipov

Published: September 14, 2022

Scientific electronic library: <https://www.elibrary.ru>

Online: <https://www.vniigis.ru>

Sheet size 70x108 1/16. Conventional printed sheets 10.75.

Order No. 3-001-2/2022. Free price.

All accidental grammar and/or spelling errors are our own.

© All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, 2022

EDITORIAL BOARD

Editor-in-chief

Ivan A. ARKHIPOV, doctor of veterinary sciences, professor, VNIIP – FSC VIEV, Scopus ID: 12783579100, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706 arkhipovhelm@mail.ru (Moscow, Russian Federation)

Deputy editor-in-chief

Mikhail V. ARISOV, doctor of veterinary sciences, prof. RAS, VNIIP – FSC VIEV, director@vniigis.ru (Moscow, Russian Federation)

Alexander V. USPENSKY, doctor of veterinary sciences, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences (RAS), VNIIP – FSC VIEV, a.v.uspensky@mail.ru (Moscow, Russian Federation)

Science editor

Dina R. ARKHIPOVA, PhD in biological sciences, VNIIP – FSC VIEV, arkhipovhelm@mail.ru (Moscow, Russian Federation)

Executive Secretary

Anastasiya I. VARLAMOVA
secretar@vniigis.ru (Moscow, Russian Federation)

Translator

Angelina S. YARTSEVA
bplogistika@mail.ru (Moscow, Russian Federation)

EDITORIAL STAFF

Fedor I. VASILEVICH, academician RAS, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin; ORCID ID: 0000-0003-0786-5317; SCOPUS ID: 57190309524; Researcher ID: K-9491-2015; rector@mgavm.ru (Moscow, Russian Federation)

Vladimir V. GOROHOV, doctor of biological sciences, professor, VNIIP – FSC VIEV; SCOPUS ID: 7005745406; gorohov@vniigis.ru (Moscow, Russian Federation)

Svetlana V. ZINOVIEVA, doctor of biological sciences, Center for Parasitology of the A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the RAS; ORCID ID: 0000-0002-0969-4569; SCOPUS ID: 6701599663; Researcher ID: Q-1756-2015; zinovievas@mail.ru (Moscow, Russian Federation)

Karine G. KUROCHKINA, doctor of veterinary sciences, VNIIP – FSC VIEV; vog@vniigis.ru (Moscow, Russian Federation)

Natalia S. MALYSHEVA, doctor of biological sciences, professor, Kursk State University; SCOPUS ID: 7004568180; malisheva64@mail.ru (Kursk, Russian Federation)

Sergey O. MOVSESSYAN, academician of the National Academy of Sciences of Armenia Republic, corresponding member of the RAS, Center for Parasitology of the A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the RAS; SCOPUS ID: 6506375449; movsesyan@list.ru (Moscow, Russian Federation)

Lyubov V. NACHEVA, doctor of biological sciences, professor, Kemerovo State Medical University; SCOPUS ID: 6506186615; nacheva.48@mail.ru (Kemerovo, Russian Federation)

Vasily F. NIKITIN, doctor of veterinary sciences, professor, VNIIP – FSC VIEV; secretar@vniigis.ru (Moscow, Russian Federation)

Rinat T. SAFIULLIN, doctor of veterinary sciences, professor, VNIIP – FSC VIEV; ORCID ID: 0000-0003-0450-5527; SCOPUS ID: 7004260282; Researcher ID: N-2261-2018; safiullin_r.t@mail.ru (Moscow, Russian Federation)

Vladimir P. SERGIEV, academician of the RAS, E.I. Martynovskiy Institute of Medical Parasitology and Tropical Medicine at I.M. Sechenov Moscow Medical Academy; SCOPUS ID: 7004845265, Researcher ID: U-5520-2017; v.sergievy@yandex.ru (Moscow, Russian Federation)

Maratbek Zh. SULEYMENOV, doctor of veterinary sciences, RSE “Institute of Zoology” of the science Committee of the Ministry of education and science of the Republic of Kazakhstan; maratbeks@mail.ru (Almaty, Kazakhstan)

Aleksandr A. SHESTEPEROV, doctor of biological sciences, professor, VNIIP – FSC VIEV; shesteperv@vniigis.ru (Moscow, Russian Federation)

Iliia BANKOV, professor, Institute of Experimental Morphology and Anthropology with Muzeum; Scopus ID: 6602741010; office@cu.bas.bg (Sofia, Bulgaria)

Wladislaw CABAI, professor, Institute of Parasitology of the Polish Academy of Sciences; SCOPUS ID: 7003489179, ORCID ID: 0000-0002-4096-6462; cabajw@twarda.pan.pl (Warsaw, Poland)

Aleksander W. DEMIASZKIEWICZ, professor, Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences; SCOPUS ID: 6603786558, ORCID ID: 0000-0002-2799-3773; aldem@twarda.pan.pl (Warsaw, Poland)

Pavol DUBINSKY, professor, Parasitological Institute of Slovak Academy of Sciences; SCOPUS ID: 7004816422; dubinsky@saske.sk (Kosice, Slovakia)

Mas-Coma SANTIAGO, professor, Human Parasitology Unit, Departamento de Parasitologia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia; ORCID ID: 0000-0002-1685-7004, SCOPUS ID: 7003404234, Researcher ID: L-8319-2014; S.Mas.Coma@uv.es (Valencia, Spain)

M. MOSER, professor, Center for Basic Research in Parasitic Diseases, University San-Francisco (California, USA)

Mariana S. PANAYOTOVA-PENCHEVA, doctor of biological sciences, Institute of Experimental Morphology and Anthropology with Muzeum; SCOPUS ID: 14834127000; marianasp@abv.bg (Sofia, Bulgaria)

Branislav PETKO, professor, Parasitological Institute of Slovak Academy of Sciences; ORCID ID: 0000-0001-5373-177X, SCOPUS ID: 13403121700; petko@saske.sk (Kosice, Slovakia)

INFORMATION FOR AUTHORS AND READERS OF THE JOURNAL

The journal "Russian Journal of Parasitology" = "Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal"

All articles of the journal are publicly available – on the websites of the journal and the Scientific Electronic Library (<https://elibrary.ru>). A free reproduction of material of the journal for personal use and a free using of material of the journal for information, research, educational or cultural purposes are permitted in accordance with Art. 1273–1274 of Ch. 70 of Part IV of the Civil Code of the Russian Federation. Other variants of using are only possible after the signing of appropriate agreements with the copyright holders (the management of the journal and the authors of the articles of the journal).

All articles are checked for plagiarism. If plagiarism is identified, the COPE guidelines on plagiarism will be followed.

All scientific articles received in the journal go through obligatory anonymous ("blind") reviewing (the authors of the articles do not know the reviewers and receive a letter with comments signed by the editor in chief). When making the decision to publish, the only criterion is the quality of the work - originality, importance and validity of the results, clarity of presentation. Based on the analysis of the article, a decision is made to recommend it for publication (without further development or with revision) or for rejection. In case of disagreement of the author of the article with comments of reviewers, his motivated statement is considered by the editorial board.

The presence of positive review is not a sufficient basis for the publication of the article. The final decision to publish is taken by the editorial board. In conflict situations, the decision is made by the editor-in-chief.

The decision to refuse publication of the manuscript is taken at a meeting of the editorial board in accordance with the recommendations of reviewers. An article not recommended by a decision of the editorial board is not accepted for reconsideration. The message about refusal of publication is sent to the author by e-mail.

Articles in the journal are published after receiving positive reviews. Pursuant to the open access policy, activities carried out by the "Russian Journal of Parasitology" are funded by authors who wish to publish results of their scientific research.

Articles by the FSC VIEV's employees and postgraduate students are published free of charge. Independent authors' studies are published in the Journal on a fee basis.

Such editorial-and-publishing services shall only be paid after an Article is accepted for publication. No fee shall be charged for the Article submission, verification or reviewing.

General Publishing Rules (<https://www.vniigis.ru>):

To publish a scientific article, the author(s) should submit a manuscript and other needed documents in exact accordance with the following requirements. The Editorial Board reserves the right to reject works that do not conform to the journal's publishing rules.

The authors shall guarantee that the submitted manuscript is the original work and all copyrights on it belong to him / her. The author transfers the rights on using the manuscript the publisher. All authors should disclose in their manuscript any financial or other substantive conflict of interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript. All sources of financial support for the project should be disclosed

The author agrees to the terms of the enclosed Authors Agreement by submission of the article.

The Editorial Board does request authors of manuscripts submit them only after carefully editing. All authors' ideas should be clearly and consistently structured.

The structure of article (подробнее см. <https://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskiy-zhurnal>):

1. A code of UDC.
2. A full name of author, ORCID, ResearcherID, Scopus ID; academic degrees and titles; a place of work(s) / study with indication of the position(s) / course and specialization(s); an address and a telephone of organization.
3. A heading of the article.
4. An abstract (not less than 250 words); it should be correctly structured and include the following sections:
 - 1) The purpose of the research;
 - 2) Materials and methods;
 - 3) Results and discussion;
5. Keywords (up to 10 words).
6. Acknowledgements.
7. A text of article: it must contain sections with such headings as:
 - 1) "Introduction";
 - 2) "Materials and Methods";
 - 3) "Results and Discussion" or "Results" and "Discussion";
 - 4) "Conclusion".
8. A list of references. We recommend using of not less than 15–25 sources in an original research article, and not less than 50–80 in scientific review.

Detailed information about the journal for authors and readers:

<https://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskiy-zhurnal>

ISSN 1998-8435 (Print)

ISSN 2541-7843 (Online)

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ И ДИАГНОСТИКА

- Маниковская Н. С., Начева Л. В.
Пищеварительная система гепатотрематоды *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932 (Plathelminthes, Trematoda): морфофункциональная организация, гистологические и гистохимические особенности к адаптивной специализации 263
- Чалышева Э. И., Сафиуллин Р. Т.
Эффективность методов диагностики эймериоза у индеек в хозяйствах промышленного типа и видовая идентификация эймерий 274
- Козырева Н. Г., Абашин И. Ю., Иванова Л. А.
Генетический анализ изолятов ВЛКРС у перинатально инфицированного крупного рогатого скота в молодом возрасте 282

ПАТОГЕНЕЗ, ПАТОЛОГИЯ И ЭКОНОМИЧЕСКИЙ УЩЕРБ

- Емельянова Н. Б., Курносова О. П.
Влияние сифациоза на биохимические и клинические показатели крови лабораторных крыс 296
- Стаффорд В. В.
Влияние паразитирования *Eimeria stiedae* в печени кроликов на показатели крови и гистеоархитектонику органов 303

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ

- Индюхова Е. Н., Арисов М. В.
Сроки выведения остаточных количеств ивермектина из организма цыплят-бройлеров после применения Ивербутана 309
- Мусаев М. Б., Емельянова Н. Б., Белова Е. Е.
Влияние эквиверма-2,0% в повышенных дозах на клиническое состояние организма лошадей 319
- Точиева О. Н., Арисов М. В.
Изучение острой токсичности и кумулятивных свойств комплексного препарата на основе имидаклоприда, пирипроксифена и моксидектина 327

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА

- Архипов И. А., Варламова А. И., Радионов А. В.
Оценка эффективности антигельминтиков из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота 335

Васильева Т. А., Скачков Д. П. Испытание микронизированных лекарственных форм празиквантела и альбендазола при ботриоцефалезе карпов	341
Конрат А. Н., Новик Т. С., Шестеперов А. А. Эффективность препарата фармайод для обеззараживания почвы от галловых нематод	352
Марченко В. А., Рар В. А., Бирюков И. В. Профилактическая эффективность препаратов при пироплазмидозах лошадей в Горном Алтае	359
Фетисов Л. Н., Святогорова А. Е., Кононенко К. Н., Чекрышева В. В., Зубенко А. А. Проблема разработки антипротозойных средств для лечения и профилактики протозоозов рыб, теоретические и практические подходы к её решению	367

НАШИ ЮБИЛЯРЫ

Марченко В. А.	377
---------------------	-----

CONTENTS

BIOCHEMISTRY, BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

Manikovskaya N. S., Nacheva L. V. Digestive system of the hepatotrematode <i>Parafasciolopsis fasciolaemorpha</i> Ejsmont, 1932 (Plathelminthes, Trematoda): morphofunctional organization, histological and histochemical features to adaptive specialization	263
Chalysheva E. I., Safullin R. T. The effectiveness of methods to diagnose eimeriosis in turkeys on industrial farms and the species identification	274
Kozyreva N. G., Abashin I. Yu., Ivanova L. A. Bovine Leukemia Virus (BLV) isolates genetic analysis in perinatally infected cattle at young age	282

PATHOGENESIS, PATHOLOGY AND ECONOMIC DAMAGE

Emelyanova N. B., Kurnosova O. P. Effect of siphaciosis on biochemical and clinical blood parameters of laboratory rats	296
Stafford V. V. Effects of <i>Eimeria stiedae</i> parasitism in the liver of rabbits on blood parameters and histoarchitecture of organs	303

PHARMACOLOGY, TOXICOLOGY

Indyuhova E. N., Arisov M. V. The elimination period of Ivermectin residuals from the body of broiler chickens after Iverbutan	309
Musaev M. B., Emelyanova N. B., Belova E. E. Effects of 2.0% Equiverm in high doses on the clinical state of the horses' organism	319
Tochieva O. N., Arisov M. V. Study of the acute toxicity and cumulative properties of the combined drug based on imidacloprid, pyriproxyfen and moxidectin	327

TREATMENT AND PREVENTION

Arkipov I. A., Varlamova A. I., Radionov A. V. Evaluation of the efficacy of benzimidazole anthelmintics against different stages of gastrointestinal nematodes of young cattle	335
Vasilyeva T. A., Skachkov D. P. Testing of micronized praziquantel and albendazole dosage forms against bothriocephalosis of cyprinids	341
Konrat A. N., Novik T. S., Shesteporov A. A. The effect of Farmayod on nematodes of different trophic groups <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i>	352
Marchenko V. A., Rar V. A., Biryukov I. V. Prophylactic efficacy of drugs against equine piroplasmidosis in Gorny Altai	359
Fetisov L. N., Svyatogorova A. E., Kononenko K. N., Chekrysheva V. V., Zubenko A. A. Development issue of antiprotozoal agents to treat and prevent protozoal infections of fish, and theoretical and practical approaches to its solution	367

OUR ANNIVERSARIES

Marchenko V. A.	377
----------------------	-----

Научная статья

УДК 576.89:591.69-9:611.3

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-263-273>

Пищеварительная система гепатотрематоды *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932 (Plathelminthes, Trematoda): морфофункциональная организация, гистологические и гистохимические особенности к адаптивной специализации

Наталья Сергеевна Маниковская¹, Любовь Васильевна Начева²

¹ Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

² Кемеровский государственный медицинский университет Минздрава России, Кемерово, Россия

¹ manikovskaya_ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6915-3115>

² nacheva.48@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3148-8788>

Аннотация

Цель исследований – изучить морфофункциональную организацию, гистологические и гистохимические особенности пищеварительной системы мариты *Parafasciolopsis fasciolaemorpha*, обеспечивающих адаптацию к паразитированию в эндостации – печени *Alces alces*.

Материалы и методы. Материалом служили половозрелые трематоды *P. fasciolaemorpha* (Ejsmont, 1932), собранные из желчных протоков печени *Alces alces*. Мариты фиксировали в 70 и 80%-ных спиртах, спирт-формалине по Шафферу в соотношении 1 : 9 и 10%-ном нейтральном формалине. Гистологические окраски: гематоксилин и эозин и по методу Маллори с последующей докраской ядер литиевым кармином Орта. Гистохимические окраски: сулема-бромфеноловый синий (БФС) по Бонхеу, ШИК-реакция по Мак-Манусу с докраской ядер гемалауном Майера, альциановый синий (АС) по Сидмену и Моури (рН 3,0 и 2,2) и толуидиновый синий (ТС) (рН 2,0-5,0).

Результаты и обсуждение. *P. fasciolaemorpha* (Ejsmont, 1932) является наиболее патогенным гепатопаразитом *Alces alces* L. Изучение особенностей морфологической организации пищеварительной системы как одной из пограничных систем организма паразита выявило ряд особенностей: мышцы крупной ротовой присоски содержат много суммарных белков, что подтверждается интенсивной бромфенолофилией; в толще стенки присоски располагаются мелкие секреторные клетки и нейросекреторные клетки с обильно альциано- и толуидинофильной вакуолизированной цитоплазмой; наличие одиночных и расположенных группой пищеварительных желез в паренхиме в месте перехода префаринкса в фаринкс и на границе между фаринксом и пищеводом; в апикальной части эпителия кишечника образуется «щеточная кайма», тонкие микроворсинки которой способствуют увеличению рабочей поверхности пристеночного пищеварения у *P. fasciolaemorpha*, усиливая трофические процессы гельминта для выживания в организме хозяина. Выявленные гистологические и гистохимические особенности пищеварительной системы *P. fasciolaemorpha* могут рассматриваться как примеры адаптивной специализации в месте эндостации.

Ключевые слова: паразиты, зоонозы, лось, печень, трематоды, *Parafasciolopsis fasciolaemorpha*

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Маниковская Н. С., Начева Л. В. Пищеварительная система гепатотрематоды *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932 (Plathelminthes, Trematoda): морфофункциональная организация, гистологические и гистохимические особенности к адаптивной специализации // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 263–273.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-263-273>

© Маниковская Н. С., Начева Л. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Digestive system of the hepatotrematode *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932 (Plathelminthes, Trematoda): morphofunctional organization, histological and histochemical features to adaptive specialization

Natalya S. Manikovskaya¹, Lyubov V. Nacheva²¹ Kemerovo State University, Kemerovo, Russia² Kemerovo State Medical University of the Russian Ministry of Health, Kemerovo, Russia¹ manikovskaya_ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6915-3115>² nacheva.48@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3148-8788>**Abstract**

The purpose of the research is to study the morphofunctional organization, histological and histochemical features of the digestive system of the marita *Parafasciolopsis fasciolaemorpha*, which provide adaptation to parasitism in the endostasis – the liver *Alces alces*.

Materials and methods. Mature specimens of the trematode *P. fasciolaemorpha* (Ejsmont, 1932) collected from the bile ducts of the *Alces alces* liver served as the material. Maritas were fixed in 70 and 80% alcohols, Schaffer alcohol-formalin 1 : 9, and 10% neutral formalin. Histological stains: with hematoxylin-eosin and by the Mallory method, followed by additional staining of the nuclei with Orta lithium carmine. Histochemical stains: sublimate-bromophenol blue according to Bonheg, Schick reaction according to McManus with additional staining of nuclei with Mayer's hemalaune, alcian blue according to Steedman and Mowry (pH 3.0 and 2.2) and toluidine blue (pH 2.0-5.0).

Results and discussion. *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* (Ejsmont, 1932) is the most pathogenic hepatoparasite of *Alces alces* L. The study of the features of the morphological organization of the digestive system as one of the border systems of the organism of the parasite revealed a number of features: the muscles of the large oral sucker contain many total proteins, which is confirmed by intense bromophenolophilia; in the thickness of the sucker wall there are small secretory cells and neurosecretory cells with abundant alcian- and toluidinophilic vacuolated cytoplasm; the presence of single and grouped digestive glands located in the parenchyma at the junction of the prepharynx to the pharynx, and on the border between the pharynx and the esophagus; in the apical part of the intestinal epithelium, a "brush border" is formed, the thin microvilli of which contribute to an increase in the working surface of parietal digestion in *P. fasciolaemorpha*, enhancing the trophic processes of the helminth to survive in the body owner. The revealed histological and histochemical features of the parafasciolopsis digestive system can be considered as examples of adaptive specialization at the site of endostasis.

Keywords: parasites, zoonoses, elk, liver, trematodes, *Parafasciolopsis fasciolaemorpha*

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Manikovskaya N. S., Nacheva L. V. Digestive system of the hepatotrematode *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932 (Plathelminthes, Trematoda): morphofunctional organization, histological and histochemical features to adaptive specialization. *Rossiyskiy parazitologicheskij zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 263–273. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-263-273>

© Manikovskaya N. S., Nacheva L. V., 2022

Введение

Трематода *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* (Ejsmont, 1932) (сем. Fasciolidae Railliet, 1895) – это гельминт листовидной или ланцетовид-

ной формы, имеющий следующие морфометрические показатели: длина от $2,0 \pm 0,15$ до $5,3 \pm 0,09$ мм и ширина от $0,7 \pm 0,02$ до $2,2 \pm 0,05$ мм [4, 13].

P. fasciolaemorpha – это гепатопаразит лосей, оленей и косуль. Парафасциолопсоз наиболее часто встречается у лосей (*Alces alces* L.), в популяции которых поражается до 57–90% особей [1, 3, 25, 28]. Интенсивность инвазии может составлять от 3–4 тыс. до 22–38 тыс. паразитов в печени одного животного [4, 13], а иногда – и до 114 800 экз. [2].

Изучение гельминтофауны лосей в некоторых регионах РФ и ряда соседних стран (Польша, Беларусь, Латвия и др.) показало, что она включает до 12–19 и более видов гельминтов [12, 26]. При этом *P. fasciolaemorpha* является не только облигатным и доминантным паразитом лосей, но считается одним из их самых патогенных гельминтов, способным вызвать их гибель [22]. У оленей и косуль, в отличие от лося, показатели численности паразита в сотни раз ниже (ИИ от 2 до 14 экз., в среднем 9,5 экз.) [1, 3], что позволяет в данном случае отнести *P. fasciolaemorpha* к видам-субдоминантам [1], и указывает на отсутствие специфичной гостальности по отношению к этим млекопитающим.

Столь высокая инвазия лосей объясняется рядом причин:

- 1) благоприятными условиями циркуляции паразита в экосистемах: наличие водоемов с богатой растительностью, количество осадков;
- 2) благоприятными условиями для развития промежуточного хозяина – роговой катушки – *Planorbarius corneus*, высокая плотность которой наблюдается в пойменных водоемах с зарослями макрофитов [3];
- 3) высокой плодовитостью марит: среднее число яиц составляет $9,9 \pm 1,6$ экз. [14] и, как следствие, высоким биологическим загрязнением окружающей среды яйцами гельминта;
- 4) высокой плотностью популяции дефинитивных хозяев – лосей [3].

Заражение диких жвачных происходит посредством заглатывания адолескариев *P. fasciolaemorpha* при питье воды или поедании водно-болотного растительного корма из непроточных, хорошо прогреваемых водоемов. Гистопатологическое исследование образцов печени выявило фиброз, разрастание желчных протоков, перихолангит, отложения кам-

ней в желчных протоках и другие заметные гистологические изменения в ткани печени, которые могут вызывать печеночные трематоды [24]. Масса печени может увеличиваться с 2–6 кг (в норме) до 75 кг, что является следствием суперинвазии; количество тяжелых патологических поражений увеличивается с интенсивностью заражения [8, 27]. Помимо этого, существует возрастная вариативность к заболеванию: лоси старше 6 лет поражаются чаще – до 80%, тогда как молодняк – около 42% [4].

Морфология и гистохимия *P. fasciolaemorpha* считаются мало изученными. Некоторые вопросы морфофизиологических адаптаций были описаны ранее при изучении взаимоотношений в системе «паразит-хозяин» при других трематодозах [6, 8–10, 15, 18]. Исследования показали, что микроморфологические адаптации гельминта к паразитированию в определенной эндостации хозяина обеспечиваются, прежде всего, его питанием и особенностями пищеварительной системы, и, как следствие, способствует формированию самой системы «паразит-хозяин».

Цель наших исследований – изучить морфофункциональную организацию, гистологические и гистохимические особенности пищеварительной системы мариты *P. fasciolaemorpha*, обеспечивающих адаптацию к паразитированию в эндостации – печени лося.

Материалы и методы

Для работы были взяты зрелые *P. fasciolaemorpha* (Ejmont, 1932), паразитирующие в желчных протоках печени лосей. Именно эта локализация *P. fasciolaemorpha* в организме хозяина дает возможность условно относить паразита к группе гепатотрематод [19]. Мариты фиксировали в 70 и 80%-ных спиртах, спирт-формалине по Шафферу в соотношении 1 : 9 и 10%-ном нейтральном формалине. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по основному методу Маллори с последующей докраской ядер литиевым кармином Орта. Для выявления белков применяли метод сулема-бромфеноловый синий (БФС) по Бонхегу. Для определения гликогена и мукопротеидов проводили ШИК-реакцию по Мак-Манусу с докраской ядер гемалауном Майера. Гексозаминогликаны определяли окраской альциановым

синим (АС) по Сиддмену и Моури при рН 3,0 и 2,2 и окраской толуидиновым синим (ТС) при рН 2,0–5,0.

Результаты и обсуждение

После заражения ювенильные особи *P. fasciolaemorpha* мигрируют в желчные протоки и, в отличие от фасциол, не проникают в паренхиму печени диких жвачных [27]. В фиксации зрелых паразитов в желчных протоках участвуют присоски и шипики, покрывающие тегумент гельминта [5]. Как и многие другие гепатотрематоды, имеющие небольшие размеры (описторхи, меторхи, дикроцелии, клонорхи) [15], *P. fasciolaemorpha* характеризуется наличием двух присосок, довольно крупных относительно размеров тела самого гельминта. Присоски являются не только органами прикрепления, но и, за счет сокращения или расслабления мышц, обеспечивают паразиту возможность относительного передвижения в эндостации, а ротовая присоска, кроме того, участвует в захвате пищи, что подтверждается изменчивостью диаметра присосок на ряде гистологических срезов.

При окраске БФС наблюдается интенсивная бромфенолофилия мышц присосок, что указывает на большое содержание суммарных белков, в том числе и сократительного типа [5], а также на участие в адгезивных процессах [20]. В брюшной присоске при ШИК-реакции отмечается высокое содержание мелких гликогеновых гранул (рис. 1), которые, как известно, представляют собой резерв углеводов, используемых в качестве первичного источника энергии, реализуемых паразитом в виде фиксации в желчных протоках печени лосей.

Изнутри ротовая присоска имеет тегументальную выстилку, отличающуюся наличием на поверхности небольших плоских папилл. В толще стенки присоски лежат мелкие секреторные клетки округлой формы, характеризующиеся обильной вакуолизацией цитоплазмы, подтверждаемой различными гистохимическими окрасками, особенно в реакции с БФС (рис. 2) [8].

Мы полагаем, что клетки выделяют в просвет присоски секрет, который помогает её взаимодействию с тканью хозяина, а также обеспечивает начальный этап процесса переваривания углеводов за счет адгезии [10].

За ротовой присоской следует узкий короткий префаринкс длиной 0,15–0,33 мм, который

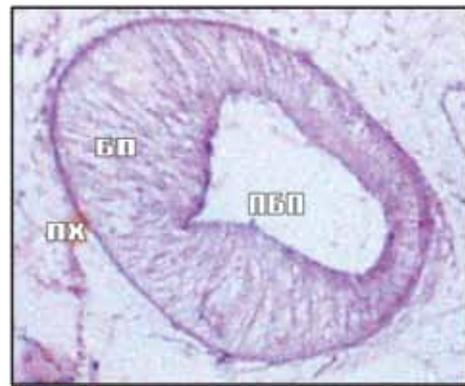


Рис. 1. Брюшная присоска *P. fasciolaemorpha*: БП – брюшная присоска, ПБП – полость брюшной присоски, ПХ – паренхима (микрофото, увел. 7 × 20; окраска по Маллори)

[Fig. 1. Abdominal sucker *P. fasciolaemorpha*: BP – ventral sucker; PBP – cavity of the ventral sucker; PH – parenchyma (microphoto, 7 × 20; Mallory coloring)]

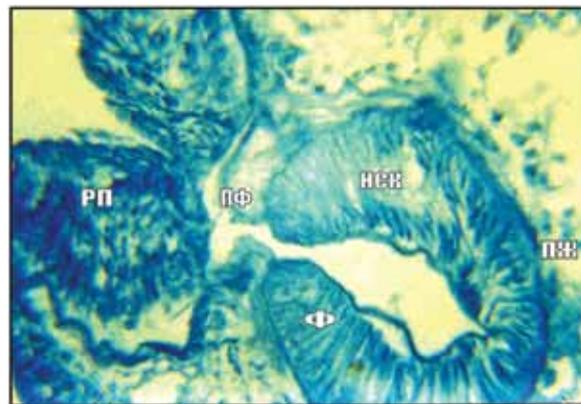


Рис. 2. Начальные отделы пищеварительной системы *P. fasciolaemorpha*: РП – ротовая присоска; ПФ – префаринкс; Ф – фаринкс; ПЖ – пищеварительные железы; НСК – нейросекреторные клетки (микрофото, увел. 7 × 40; окраска БФС по Бонхегу)

[Fig. 2. The initial sections of the digestive system of *P. fasciolaemorpha*: RP – oral sucker; PF – prefarinx; F – farinx; PG – digestive glands, NSC – neurosecretory cells (microphoto, 7 × 40; BFS staining according to Bonhegy)]

ведет в округло-овальный фаринкс длиной 0,174–0,250 мм и шириной 0,140–0,237 мм (см. рис. 2). Покрывающая префаринкс и фаринкс слизистая оболочка проявляет бромфеноло-, толуидинофилию и альцианофилию [6]. Это является свидетельством того, что слизистая оболочка в начальных отделах пищеварительной системы парафасциолопсиса инициирует процесс адаптации в эндостации хозяина. В месте перехода префаринкса в фаринкс среди

паренхимных клеток в небольшом количестве располагаются мелкие одиночные железистые клетки колбообразной формы с вакуолизированной цитоплазмой и крупным ядром, что служит свидетельством активной экспрессии генов в них, и, как следствие, доказательством их секреторной деятельности [6].

В толще стенок присосок и фаринкса нами обнаружены нейросекреторные клетки овальной формы с небольшим ядром и вакуолизированной по периферии цитоплазмой (рис. 3) [5, 6]. Наличие нейросекреторных клеток указывает на инициативную и нейрогуморальную роль присосок и фаринкса в процессах взаимoadaptации с тканью хозяина.

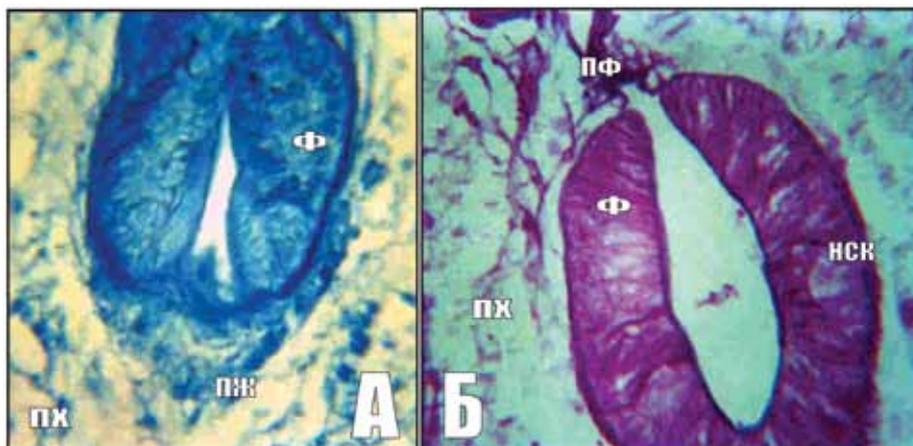


Рис. 3. А, Б. Передние отделы пищеварительной системы *P. fasciolaemorpha*: ПФ – префаринкс; Ф – фаринкс; ПХ – паренхима; ПЖ – пищеварительные железы; НСК – нейросекреторные клетки (микрофото, увел. 7 × 40, окраска БФС по Бонхегу (А), окраска по Маллори (Б))

[Fig. 3. A, B. Anterior parts of the digestive system of *P. fasciolaemorpha*: PF – prepharynx; F – pharynx; PH – parenchyma; PZh – digestive glands; NSC – neurosecretory cells (microphoto, 7 × 40, BFB stain by Bonheg (A), Mallory stain (B))

Пищевод прямой длиной около 0,30±0,03 мм, имеет слизистую оболочку, интенсивно окрашивающуюся БФС, ТС и ШИК-реакцией. В паренхиме, в месте перехода фаринкса в пищевод, лежат небольшие группы секреторных клеток, которые, как мы полагаем, являются пищеварительными железами [5, 8]. Ядра секреторных клеток крупные, базофильные. Границ между выводными протоками клеток в световой микроскоп нам обнаружить не удалось, однако, мы полагаем, что не исключено наличие общего выводного протока этой группы клеток, который открывается в полость пищевода [6].

Кишечные стволы прямые и сравнительно тонкие, без ответвлений и дивертикулов. Они тянутся от пищевода билатерально и доходят практически до заднего конца тела, где слепо заканчиваются. В эпителии стенки кишечника можно выделить апикальную и базальную части в соотношении по высоте 2–2,5 (рис. 4). При окраске БФС по Бонхегу четко опреде-

ляется темно-синее окрашивание базальной части и синее – апикальной микроворсинчатой части, что свидетельствует о содержании в этих структурах кишечника большого количества суммарных белков.

Апикальная часть эпителиальной выстилки кишечника *P. fasciolaemorpha* представлена тонкими микроворсинками, образующими негустую щеточную кайму (рис. 4). В базальной части клеток на разном уровне, в «шахматном порядке», лежат крупные ядра. Кроме того, цитоплазма в этой части содержит большое количество вакуолей, проявляющих положительную ШИК-окраску. Цитоплазма апикальной части имеет более слабую ШИК-окраску. В то же время, на конце микроворсинки, обращенном в просвет кишечника, отмечается сильное окрашивание при ШИК-реакции, что в совокупности с бромфенолофилией свидетельствует о том, что вещества, локализованные на апикальном конце микроворсинки, имеют гликопротеиновую природу

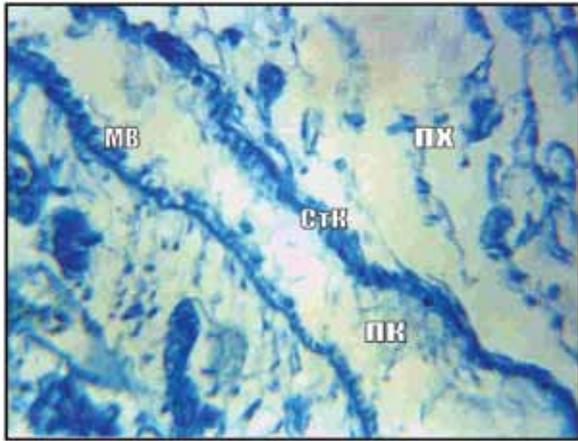


Рис. 4. Фрагмент кишечника *P. fasciolaemorphia*: СтК – стенка кишечника; МВ – микроворсинки; ПК – полость кишечника; ПХ – паренхима (микрофото, увел. 7 × 40, окраска БФС по Бонхегу)

[Fig. 4. A fragment of the intestine of *P. fasciolaemorphia*: StK – intestinal wall; MV – microvilli; IC – intestinal cavity; PH – parenchyma (microphoto, 7 × 40, BFS staining according to Bonheg)

(табл.). Базальная мембрана кишечного эпителия при окраске по методу Маллори приобретает голубой цвет, что говорит о ее коллагеновой основе [17].

Из таблицы видно, что практически все органы и ткани пищеварительной системы *P. fasciolaemorphia* показывают насыщенную окраску, особенно БФС, что может быть об-

условлено образованием белок-полисахаридного комплекса, так как некоторые кислые мукополисахариды (гепарин, гепарин-моносульфат) при соединении с белком проявляют свойства антикоагулянтов. Наличие незначительного количества эритроцитов крови хозяина может быть косвенным доказательством того, что кровь в кишечнике паразита не сворачивается, а постепенно лизируется его ферментами. В тоже время, содержание в эпителии кишечника кислых белков в комплексе с кислыми углеводами придает клеткам устойчивость к химическому воздействию крови хозяина [5, 8, 11]. Со стороны паренхимы к кишечной стенке примыкают клетки – энтеротрофоциты, которые выражены слабо, имеют вытянутую в ширину форму и светлую вакуолизованную цитоплазму [11].

Пищеварение у *P. fasciolaemorphia* преимущественно носит пристеночный характер. Вблизи микроворсинок образуется комплекс пищевого материала, расщепляющийся под действием ферментов, выделяемых энтероцитами [10, 16, 21]. Клетки кишечного эпителия функционируют по типу микроапокриновой секреции. Полостное пищеварение встречается только на некоторых участках [8].

Выявленные морфологические и гистологические особенности и некоторые гистохимические показатели реактивности пищеварительной системы *P. fasciolaemorphia*

Таблица [Table]

Сравнительный анализ некоторых гистохимических реакций органов пищеварительной системы *Parafasciolopsis fasciolaemorphia*

[Comparative analysis of some histochemical reactions of the digestive system *Parafasciolopsis fasciolaemorphia*]

Тканевые системы [Tissue systems]		Гистохимические красители [Histochemical stains]	
		ШИК-реакция [PAS reaction]	БФС [BFS]
Ротовая присоска [oral sucker]	Выстилка [Lining]	+++±	++
	Мышцы [Muscles]	+++	+++
	Нейросекреторные клетки [Neurosecretory cells]	+++	+++
Префаринкс [Prepharynx]		+±	++
Фаринкс [Pharynx]		++	++
Пищевод [Esophagus]		++	+
Кишечник [Intestines]	апикальная часть [apical part]	+ / +++	++
	базальная часть [basal part]	++	+++
	базальная мембрана [basement membrane]	+++	++
	энтеротрофоциты [enterotrophocytes]	+++±	++

Примечание: «+» – интенсивность окраски

[Note: "+" – color intensity]

указывают на то, что паразит имеет приспособительные возможности к существованию в своей эндостации. Питание трематоды осуществляется доступными веществами, которые образуются в ходе разнообразных метаболических реакций хозяина. Прежде всего, в печени хозяина происходит превращение глюкозы в гликоген, который депонируется [15, 23]. Глюкозу из печени легко всасывает паразит, и в кишечнике в ходе пристеночного пищеварения этот мономер проникает в его организм и образует специфический для гельминта гликоген, который накапливается в паренхиме и мышцах как трофический материал [15, 16]. Кроме этого, для трематод характерна клеточная микрия, то есть, используя эндостацию, гельминт может всасывать и другие вещества – «воровать» у хозяина микроэлементы, гормоны, витамины, аминокислоты, что косвенно подтверждается выраженной бромфенолофилией, толуидинофилией и положительной ШИК-реакцией в органах пищеварения парафасциолопсиса.

Заключение

Морфофункциональные, гистологические и гистохимические исследования пищеварительной системы зрелых особей *P. fasciolaemorphae* выявили следующие особенности адаптивной специализации паразита в месте локализации в хозяине:

- 1) мышцы крупной ротовой присоски проявляют интенсивную бромфенолофилию, что указывает на наличие суммарных белков, включая сократительного типа белки; в толще присоски располагаются мелкие секреторные и нейросекреторные клетки с вакуолизированной альциано-, толуидино- и бромфенолофильной цитоплазмой, что может служить доказательством участия присоски в адгезии с пищевым субстратом и начальных стадиях пищеварительного процесса, а также в инициации и нейрорегуляции взаимоадаптации в системе «паразит-хозяин».
- 2) пищеварительные железы и секреторные клетки имеют разную форму и размеры и располагаются как одиночно, так и группами; одиночное расположение мелких железистых колбообразных клеток наблюдается в паренхиме в месте перехода префаринкса в фаринкс, а на участке перехода фаринкса

в пищевод встречаются небольшие железы из группы секреторных клеток; цитоплазма железистых клеток проявляет бромфенолофилию, альцианофилию и толуидинофилию, содержит крупные ядра, что служит свидетельством активной экспрессии в них генов, и, как следствие, доказательством их секреторной деятельности.

- 3) кишечник выстлан эпителием, при этом его апикальная часть представлена тонкими микроворсинками, а базальная – содержит ядра и сетевидную цитоплазму; эпителий отграничен от паренхимы базальной мембраной, имеющей коллагеновую природу; интенсивная бромфенолофилия и толуидинофилия, проявляющаяся на апикальном конце микроворсинок, указывает на скопления гликопротеинов и участие в расщеплении пищи, а также в усилении устойчивости энтероцитов к антигенному воздействию хозяина; энтероциты функционируют по типу микроапокриновой секреции, а пищеварение носит в основном пристеночный характер; наличие микроворсинок в апикальной части эпителия кишечника увеличивает площадь рабочей поверхности и ускоряет процессы пристеночного пищеварения, усиливая трофические процессы гельминта для выживания в организме хозяина, что помогает паразитам маленьких размеров адаптироваться в эндостации.

Список источников

1. Бреславцев С. А., Ромашов Б. В. Особенности распространения и морфологическая изменчивость трематоды *Parafasciolopsis fasciolaemorphae* (Trematoda, Fasciolidae) в природных условиях Воронежской области // «Инновационные технологии и технические средства для АПК»: материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. 2016. С. 164-167.
2. Казлаускас Ю., Шлейкус П. *Parafasciolopsis fasciolaemorphae* Ejsmont, 1932 у лосей Литовской ССР // Acta parasitologica Lithuanica, 1962. Вып. 4. С. 193-194.
3. Кошеваров Н. И., Архипов И. А. Распространение *Parafasciolopsis fasciolaemorphae* Ejsmont, 1932 у жвачных животных в Нечерноземье Российской Федерации // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы научной конференции. 2013. Вып. 14. С. 171-173.

4. Литвинов В. Ф. Паразитоценозы диких животных. Минск: БГТУ, 2007. 582 с.
5. Маниковская Н. С. Морфофункциональные особенности пищеварительной системы трематод при формировании системы «паразит-хозяин»: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.19. М., 2005. 24 с.
6. Маниковская Н. С. Функциональная морфология пищеварительных желез некоторых гепатотрематод (Plathelminthes, Trematoda) // Медико-биологические проблемы: сборник научных трудов. Кемерово-Москва, 2010. Вып. 17. С. 30-31.
7. Маниковская Н. С. Энтероцит – универсальная морфофункциональная единица кишечника трематод // Медицина в Кузбассе. 2003. № S1. С. 34.
8. Маниковская Н. С., Начева Л. В. Адаптивная специализация пищеварительной системы энтеротрематод при паразитировании у разных таксономических хозяев // «Актуальные медико-биологические проблемы паразитологии»: Материалы Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 60-летию кафедры биологии с основами генетики и паразитологии и 90-летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора Евгения Дмитриевича Логачёва. 2016. С. 80-89.
9. Маниковская Н. С., Сас И. А., Романенко Ю. А. Морфо-экологический анализ пищеварительной системы некоторых трематод, обитающих в кишечнике // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2011. № S1. С. 176.
10. Маниковская Н. С. Сумбаев Е. А. Функциональная морфология взаимоотношений в системе «паразит-хозяин» на разных стадиях онтогенеза гепатотрематод // Медицина в Кузбассе. 2010. Т. 9. № 1. С. 40-42.
11. Маниковская Н. С., Начева Л. В. Морфоэкологическая характеристика кишечника трематод // «Проблемы медицины и биологии»: Материалы Всероссийской научной конференции-семинара, посвящённой 275-летию Российской Академии Наук. 1999. С. 131.
12. Масленникова О. В. Плодовитость трематод *Parafasciolopsis fasciolaemorphia* на севере Нечерноземья // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: сборник научных статей по материалам Международной научной конференции. 2020. № 21. С. 223-228.
13. Масленникова О.В., Панова С. В. Морфологическая характеристика трематод *Parafasciolopsis fasciolaemorphia* (Ejsmont, 1932) // Международный журнал экспериментального образования. 2015. № 8-1. С. 82-83.
14. Масленникова О. В., Шихова Т. Г., Панкратов А. П. Влияние экологических факторов на зараженность лося (*Alces alces*) трематодами на территории Вятского бассейна // Зоологический журнал. 2019. Т. 98. № 5. С. 578-587.
15. Начева Л. В. Морфоэкологический анализ и эволюционная динамика тканевых систем трематод, реактивность их органов и тканей при действии антигельминтиков: автореф. дис.... д-ра биол. наук: 03.00.20. М., 1993. 57 с.
16. Начева Л. В., Маниковская Н. С. Сравнительная морфофункциональная характеристика щеточной каймы кишечника трематод разных эндостаций // «Медико-биологические проблемы»: сборник научных трудов. Кемерово-Москва, 2002. С. 14-18.
17. Начева Л. В., Маниковская Н. С. Энтероцит как морфофункциональная единица эпителия кишечника трематод разных эндостаций // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: Материалы научной конференции. 2009. № 10. С. 277-279.
18. Начева Л. В., Воробьева Е. И. Функциональная морфология взаимоотношений в системе «паразит-хозяин» при эуритрематозе // Гистологические и гистохимические исследования. Кемерово-Москва, 2007. С. 32.
19. Ошмарин П. Г. К изучению специфической экологии гельминтов. ДВФил. АН СССР. Владивосток, 1959. 111 с.
20. Перминов А. А., Воробьева Е. И. Морфоэкологические особенности адгезии между гельминтом и хозяином в зависимости от эндостации паразитирования // «Медико-биологические проблемы»: сборник научных трудов. Кемерово, 1995. С. 26-27.
21. Уголев А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций: Элементы современного функционализма. Л.: Наука, 1985. 544 с.
22. Шалдыбин Л. С. Гельминтофауна промысловых зверей Мордовского государственного заповедника: дис. ... канд. биол. наук. М., 1951. С. 38-121.
23. Шишова-Касаточкина О. А. Биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина (обмен белков, витаминов и стероидов в процессах паразитирования). М.: Наука, 1979. 280 с.
24. Bergmane B., Bērziņa D., Višocka A. Histopathological changes in liver of elks with *Parafasciolopsis fasciolaemorphia* invasion.

- Research for Rural Development 2019. Annual 25th International Scientific Conference Proceedings (online resource), Latvia Univ. of Life Sciences and Technologies, Jelgava (Latvia). International Scientific Conference: Research for Rural Development 2019; 25, Jelgava (Latvia), 15–17 May 2019; 262–264. <https://doi.org/10.22616/rrd.25.2019.040>
25. Filip K. J., Pyziel A. M., Demiaszkiewicz A. W. A massive invasion of Parafasciolopsis fasciolaemorpha in elk (*Alces alces*) in Lublin Province, Poland. *Ann Parasitol.* 2016;62 (2): 107-110. <https://doi.org/10.17420/ap6202.40>
26. Filip-Hutsch K., Czopowicz M., Barc A., Demiaszkiewicz A. W. Gastrointestinal Helminths of a European Moose Population in Poland. *Pathogens.* 2021 Apr 11; 10 (4): 456. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040456>.
27. Filip-Hutsch K., Tomasz H., Kolasa S., Demiaszkiewicz A. W. First Description of Histopathological Lesions associated with a Fatal Infection of Moose (*Alces Alces*) with the Liver Fluke Parafasciolopsis Fasciolaemorpha Ejsmont, 1932. *Journal of Veterinary Research* 63 (4). <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0068>
28. Mehlhorn H. *Parafasciolopsis fasciolaemorpha*. In: Mehlhorn H. (eds) *Encyclopedia of Parasitology.* 2016. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43978-4_4151

Статья поступила в редакцию 28.07.2022; принята к публикации 15.08.2022

Об авторах:

Маниковская Наталья Сергеевна, Кемеровский государственный университет (650000, г. Кемерово, Красная, 6), г. Кемерово, Россия, кандидат биологических наук, доцент, ORCID ID: 0000-0002-6915-3115, manikovskaya_ns@mail.ru

Начева Любовь Васильевна, Кемеровский государственный медицинский университет (650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а 85), г. Кемерово, Россия, доктор биологических наук, профессор, ORCID ID: 0000-0002-3148-8788, nacheva.48@mail.ru

Вклад соавторов:

Маниковская Наталья Сергеевна – идея, обзор и анализ литературных данных по гепатотрематоду *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932; написание и оформление статьи; осуществление технической части – гистологические и гистохимические методы окраски препаратов, их микроскопия; обобщение и систематизация полученных данных, формирование выводов.

Начева Любовь Васильевна – работа с литературными источниками; микроскопическое изучение препаратов; обобщение и систематизация полученных данных, критический анализ материалов и формирование выводов.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

- Breslavtsev S. A., Romashov B. V. Features of the distribution and morphological variability of the trematode *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* (Trematoda, Fasciolidae) in the natural conditions of the Voronezh region. «*Innovatsionnyye tekhnologii i tekhnicheskiye sredstva dlya APK: materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov = "Innovative technologies and technical means for the agro-industrial complex": materials of the International scientific and practical conference of young scientists and specialists.* 2016: 164-167. (In Russ.)
- Kazlauskas J., Shleykus P. *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932 in moose of the Lithuanian SSR. *Acta parasitologica Lithuanica.* 1962; 4: 193-194. (In Russ.)
- Koshevarov N. I., Arkhipov I. A. Distribution of *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932 in ruminants in the Non-Chernozem region of the Russian Federation. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: materialy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of combating parasitic diseases": materials of a scientific conference.* 2013; 14: 171-173. (In Russ.)
- Litvinov VF Parasitocenoses of wild animals. Minsk: BSTU., 2007; 582. (In Russ.)
- Manikovskaya N. S. Morphofunctional features of the digestive system of trematodes during the formation of the "parasite-host" system: avtoref. dis. ... Cand. Biol. Sci.: 03.00.19. Moscow, 2005; 24. (In Russ.)
- Manikovskaya N. S. Functional morphology of the digestive glands of some hepatotrematodes (Plathelminthes, Trematoda). *Mediko-biologicheskiye problemy: sbornik nauchnykh trudov = Medico-biological problems: a collection of scientific papers.* Kemerovo-Moscow, 2010; 17: 30-31. (In Russ.)

7. Manikovskaya N. S. Enterocyte is a universal morphofunctional unit of the intestine of trematodes. *Meditsina v Kuzbasse = Medicine in Kuzbass*. 2003; S1: 34. (In Russ.)
8. Manikovskaya N. S., Nacheva L. V. Adaptive specialization of the digestive system of enterotrematodes during parasitism in different taxonomic hosts. «Aktual'nyye mediko-biologicheskiye problemy parazitologii»: *Materialy Mezhrional'noy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem, posvyashchonnoy 60-letiyu kafedry biologii s osnovami genetiki i parazitologii i 90-letiyu so dnya rozhdeniya doktora biologicheskikh nauk, professora Yevgeniya Dmitriyevicha Logachova = "Actual medical and biological problems of parasitology": Proceedings of the Interregional scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 60th anniversary of the Department of Biology with the basics of genetics and parasitology and the 90th anniversary of the birth of Doctor of Biological Sciences, Professor Evgeny Dmitriyevich Logachev*. 2016; 80-89. (In Russ.)
9. Manikovskaya N. S., Sas I. A., Romanenko Yu. A. Morpho-ecological analysis of the digestive system of some intestinal trematodes. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Russian State Medical University*. 2011; S1: 176. (In Russ.)
10. Manikovskaya N. S., Sumbaev E. A. Functional morphology of relationships in the "parasite-host" system at different stages of ontogenesis of hepatotrematodes. *Meditsina v Kuzbasse = Medicine in Kuzbass*. 2010; 9 (1): 40-42. (In Russ.)
11. Manikovskaya N. S., Nacheva L. V. Morphological and ecological characteristics of the intestines of trematodes. «Problemy meditsiny i biologii»: *Materialy Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii-seminara, posvyashchennoy 275-letiyu Rossiyskoy Akademii Nauk = "Problems of Medicine and Biology": Proceedings of the All-Russian Scientific Conference-Seminar Dedicated to the 275th Anniversary of the Russian Academy of Sciences*. 1999: 131. (In Russ.)
12. Maslennikova O. V. Fertility of trematodes *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* in the north of the Non-Chernozem region. «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»: *sbornik nauchnykh statey po materialam Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of combating parasitic diseases": a collection of scientific articles based on the materials of the International Scientific Conference*. 2020; 21: 223-228. (In Russ.)
13. Maslennikova O. V., Panova S. V. Morphological characteristics of trematodes *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* (Ej-smont, 1932). *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya = International Journal of Experimental Education*. 2015; 8 (1): 82-83. (In Russ.)
14. Maslennikova O. V., Shikhova T. G., Pankratov A. P. Influence of environmental factors on the infestation of elk (*Alces alces*) with trematodes in the Vyatka basin. *Zoologicheskyy zhurnal = Zoological Journal*. 2019; 98 (5): 578-587. (In Russ.)
15. Nacheva L. V. Morphoecological analysis and evolutionary dynamics of trematode tissue systems, reactivity of their organs and tissues under the action of anthelmintics: avtor. dis.... Doc. Biol. Sci. 03.00.20. Moscow, 1993: 57. (In Russ.)
16. Nacheva L. V., Manikovskaya N. S. Comparative morphofunctional characteristics of the brush border of the intestines of trematodes of different endostasis. *Mediko-biologicheskiye problemy: sbornik nauchnykh trudov = Medico-biological problems: a collection of scientific papers*. Kemerovo-Moscow, 2002: 14-18. (In Russ.)
17. Nacheva L. V., Manikovskaya N. S. Enterocyte as a morphofunctional unit of the intestinal epithelium of trematodes of different endostations. «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»: *Materialy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": Proceedings of the scientific conference Materials of reports of the scientific conference*. 2009; 10: 277-279. (In Russ.)
18. Nacheva L. V., Vorobyeva E. I. Functional morphology of relationships in the "parasite-host" system in eurytrematosis. *Gistologicheskyye i gistokhimicheskiye issledovaniya = Histological and histochemical studies*. Kemerovo-Moscow, 2007: 32. (In Russ.)
19. Oshmarin P. G. On the study of the specific ecology of helminths, DVfil. Academy of Sciences of the USSR. Vladivostok, 1959: 111. (In Russ.)
20. Perminov A. A., Vorobyeva E. I. Morphoecological features of adhesion between the helminth and the host depending on the endostasis of parasitism. *Mediko-biologicheskiye problemy: sbornik nauchnykh trudov = Medico-biological problems: a collection of scientific papers*. Kemerovo, 1995: 26-27. (In Russ.)
21. Ugolev A. M. Evolution of digestion and principles of evolution of functions: Elements of modern functionalism. L.: Nauka, 1985: 544. (In Russ.)
22. Shaldybin L. S. Helminth fauna of game animals of the Mordovian State Reserve: dis. ... Cand. Biol. Sci. Moscow, 1951: 38-121. (In Russ.)
23. Shishova-Kasatochkina OA Biochemical aspects of the relationship between the helminth and the host

- (the exchange of proteins, vitamins and steroids in the processes of parasitism). Moscow: Nauka, 1979: 280. (In Russ.)
24. Bergmane B., Bērziņa D., Višocka A. Histopathological changes in liver of elks with Parafasciolopsis fasciolaemorpha invasion. Research for Rural Development 2019. Annual 25th International Scientific Conference Proceedings (online resource), Latvia Univ. of Life Sciences and Technologies, Jelgava (Latvia). *International Scientific Conference: Research for Rural Development 2019*, 25, Jelgava (Latvia), 15–17 May 2019: 262–264. <https://doi.org/10.22616/rrd.25.2019.040>
25. Filip K. J., Pyziel A. M., Demiaszkiewicz A. W. A massive invasion of Parafasciolopsis fasciolaemorpha in elk (*Alces alces*) in Lublin Province, Poland. *Ann Parasitol.* 2016; 62(2):107-10. <https://doi.org/10.17420/ap6202.40>
26. Filip-Hutsch K., Czopowicz M., Barc A., Demiaszkiewicz A.W. Gastrointestinal Helminths of a European Moose Population in Poland. *Pathogens.* 2021 Apr 11; 10 (4): 456. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040456>.
27. Filip-Hutsch K., Tomasz H., Kolasa S., Demiaszkiewicz A.W. First Description of Histopathological Lesions associated with a Fatal Infection of Moose (*Alces Alces*) with the Liver Fluke Parafasciolopsis Fasciolaemorpha Ejsmont. *Journal of Veterinary Research.* 1932; 63 (4). <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0068>
28. Mehlhorn H. Parafasciolopsis fasciolaemorpha. In: Mehlhorn H. (eds) *Encyclopedia of Parasitology.* 2016. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43978-4_4151

The article was submitted 24.05.2022; accepted for publication 15.08.2022

About the authors:

Manikovskaya Natalya S., Kemerovo State University (6, Krasnaya st., Kemerovo, 650000), Kemerovo, Russia, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, ORCID ID: 0000-0002-6915-3115, manikovskaya_ns@mail.ru

Nacheva Lyubov V., Kemerovo State Medical University (22 A, Voroshilova st., Kemerovo, 650056), Kemerovo, Russia, Doctor of Biological Sciences, Professor, ORCID ID: 0000-0002-3148-8788, nacheva.48@mail.ru

Contribution of co-authors:

Manikovskaya Natalya S. – idea, review and analysis of literature data on the hepatorematode *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* Ejsmont, 1932; writing and design of the article; implementation of the technical part – histological and histochemical methods for staining preparations, their microscopy; generalization and systematization of obtained data, the formation of conclusions.

Nacheva Lyubov V. – work with literary sources; microscopic study of preparations; generalization and systematization of obtained data, critical analysis of materials and conclusions.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:616.993:636.5

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-274-281>

Эффективность методов диагностики эймериоза у индеек в хозяйствах промышленного типа и видовая идентификация эймерий

Эльвира Ивановна Чалышева¹, Ринат Туктарович Сафиуллин²

^{1,2}Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹elviraivanovna00@mail.ru

²safullin_r.t@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0450-5527>

Аннотация

Цель исследований – провести сравнительную оценку эффективности методов диагностики эймериоза у индеек и их видовую идентификацию.

Материалы и методы. Сравнительную оценку эффективности прижизненных методов диагностики эймериоза у индюшат проводили с использованием копроскопических исследований: по Дарлингу – с одним хлоридом натрия, с хлоридом натрия и глицерином; Мак Мастеру – с хлоридом натрия и глюкозой; Фюллеборну – с одним хлоридом натрия. Диагностическую эффективность разных методов оценивали путем искусственной закладки ооцист эймерий в стандартные пробы помета, свободные от инвазии. Морфологические исследования и определение признаков видовой принадлежности эймерий индюшат осуществляли в лаборатории после завершения споруляции.

Результаты и обсуждение. Диагностическая эффективность флотационного метода Фюллеборна при эймериозе индеек составила 62,4%, комбинированных методов Дарлинга¹ – 79,2, Дарлинга² – 85,6, Мак Мастера – 90,4%. Используемые нами комбинированные методы Дарлинга и Мак Мастера по технологии их выполнения предусматривают двойное центрифугирование: осаждение водой и флотация с солевым раствором, благодаря чему исследуемая под микроскопом проба содержит не так много остатков корма и других частиц, что отражается на диагностической эффективности метода. У молодняка индеек из хозяйств Пензенской и Московской областей обнаружены следующие виды эймерий: *Eimeria meleagridis* – у 62–80%, *E. meleagridis* – у 15–16, *E. adenoides* – у 5–13, *E. gallopavonis* – у 9%. В индейководческих хозяйствах отмеченных регионов преобладали *E. meleagridis* и *E. gallopavonis*. Значительно меньше встречались *E. adenoides* и *E. gallopavonis*.

Ключевые слова: молодняк, индейки, ооцисты, *Eimeria* spp., диагностика, эффективность, идентификация

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Чалышева Э. И., Сафиуллин Р. Т. Эффективность методов диагностики эймериоза у индеек в хозяйствах промышленного типа и видовая идентификация эймерий // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 274–281.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-274-281>

© Чалышева Э. И., Сафиуллин Р. Т., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

The effectiveness of methods to diagnose eimeriosis in turkeys on industrial farms and the species identification

Elvira I. Chalysheva¹, Rinat T. Safullin²

^{1,2}All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia

¹elviraivanovna00@mail.ru

²safullin_r.t@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0450-5527>

Abstract

The purpose of the research is a comparative assessment of the effectiveness of methods to diagnose eimeriosis in turkeys and the species identification.

Materials and methods. A comparative effectiveness assessment of life-time diagnostic methods for eimeriosis in turkey poults was conducted using coproscopic examinations: with sodium chloride alone, and with sodium chloride and glycerin according to Darling; with sodium chloride and glucose according to McMaster; and with sodium chloride alone according to Fülleborn. The diagnostic strength of different methods was evaluated with *Eimeria* oocysts artificially placed in standard litter samples free from infection. Morphological examinations and characteristics determination of *Eimeria* species in the turkey poults were conducted in the laboratory after the completed sporulation.

Results and discussion. The diagnostic strength of the Fülleborn's flotation method for turkey eimeriosis was 62.4%, 79.2% for the combined Darling1 methods, 85.6% for the combined Darling2 methods, and 90.4% for the McMaster's methods. The combined Darling's and McMaster's methods used by us provide, according to their technology, for double centrifugation: water settling and flotation with saline, thus the microscopically examined sample contained not so many feed residues or other particles, which affected the diagnostic strength of the method. The young turkeys from the Penza and Moscow Regions' farms were found to have the following types of *Eimeria*: *Eimeria meleagrimitis* in 62–80%, *E. meleagridis* in 15–16%, *E. adenoides* in 5–13%, and *E. gallopavonis* in 9%. *E. meleagrimitis* and *E. meleagridis* dominated on the turkey farms in the said regions. *E. adenoides* and *E. gallopavonis* were significantly less common.

Keywords: young birds, turkeys, oocysts, *Eimeria* spp., diagnostics, effectiveness, identification

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Chalysheva E. I., Safullin R. T. The effectiveness of methods to diagnose eimeriosis in turkeys on industrial farms and the species identification. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 274–281. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-274-281>

© Chalysheva E. I., Safullin R. T., 2022

Введение

Опыт работы успешных птицефабрик за последние годы показывает, что разведение индеек в хозяйствах промышленного типа позволяет резко поднять эффективность производства. Индейки превосходят птицу других видов по живой массе, выходу съедобных частей тушек (свыше 70%), и массе мышечной ткани (свыше 60%).

Мясо индейки содержит много белка и мало жира; оно пригодно для приготовления блюд по кулинарным рецептам всех стран мира. По содержанию необходимых ингредиентов мясо индейки практически может полностью удовлетворить потребности человека в животном белке и является важнейшим источником полноценного белка животного происхождения [2].

В условиях промышленного индейководства, когда на ограниченной территории содержится большое число птицы и используется напольное содержание, существует большой риск возникновения паразитарных заболеваний – эймериоза, криптоспоридиоза, гистомоноза и др. [1, 3–5, 7–14].

Цель наших исследований - провести сравнительную оценку эффективности существующих копроскопических методов диагностики эймериоза у индеек и идентифицировать виды эймерий, встречающихся у индеек в хозяйствах промышленного типа.

Материалы и методы

Эймериоз (кокцидиоз) индеек – широко распространенная, остро, подостро и хронически протекающая протозойная болезнь преимущественно молодняка птиц, характеризующаяся поражением эпителиальных клеток слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника. Возбудителями инвазии являются одноклеточные паразиты класса Sporozoa, отряда Coccidiida, семейства Eimeriidae, рода Eimeria.

Болезнь проявляется вялостью, отказом от корма, диареей, истощением, анемией, потерей массы и снижением продуктивности. Болеет молодняк в возрасте от 10 до 90 сут и старше.

Ооцисты эймерий из организма птиц выделяются не инвазионными. Во внешней среде при наличии необходимой влажности, тепла (16–28 °С) и кислорода они становятся инвазионными через 24–96 ч. Инвазионные ооцисты попадают в пищеварительный тракт птиц с кормом или водой; под действием пищеварительных соков оболочка их разрушается; освободившиеся спорозоиты внедряются в эпителиальные клетки кишечника и начинают интенсивно размножаться.

Источником заражения выступают больные индюшата и взрослая птица – носители инвазии. Резервуар возбудителя – это загрязненные ооцистами корма, кормушки, поилки, предметы ухода, помещения со значительным скоплением помета.

Следует отметить, что в условиях современного промышленного индейководства, когда имеются определенные технологические особенности, необходимо проводить постоянный мониторинг ситуации в хозяйствах для достоверной диагностики эймериоза, а также профилактические мероприятия.

Мониторинг включает следующие диагностические технологии: учет патологоанатомических изменений, подсчет числа ооцист в помете и подстилке стандартизированными методами. Постоянное отслеживание отмеченных моментов обеспечивает ветработников необходимой информацией об изменениях в экстенсивности и интенсивности эймериозной инвазии, позволяет идентифицировать возбудителя и контролировать развитие резистентности паразитов к эймериостатикам.

Диагноз на эймериоз устанавливают комплексно с учетом эпизоотологических, клинических данных и патологоанатомических изменений. Их подтверждают лабораторными исследованиями, обнаружением ооцист эймерий в фекалиях и содержимом кишечника или стадий их развития – шизонтов и мерозоитов. Для этого делают мазки из соскобов кишечника и исследуют фекалии по методу Дарлингга, Фюллеборна и др.

Для диагностики эймериозов индюшат за последние годы применяют полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Это экспериментальный метод молекулярной биологии, который обеспечивает увеличение в большом количестве малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале.

Диагноз можно поставить лишь при внимательном анализе всех данных по этой болезни. Особенно следует учитывать возраст заболевших птиц. При холере, чуме и спирохетозе, помимо молодняка, болеют и в большом количестве погибают взрослые птицы, чего не бывает при кокцидиозе. Решающее значение для диагностики эймериоза имеют результаты копроскопических исследований и патологоанатомические данные.

При патологоанатомическом вскрытии отмечают истощение, анемию, дряблую мускулатуру. У индюшат слепые кишки увеличены в размере, утолщены, серозная оболочка синюшно-красного цвета, содержимое окрашено в красный цвет. При заражении индюшат эймериями, паразитирующими в тонком отделе кишечника, изменения аналогичные, просвет заполнен кровянистой творожистой массой. Слизистая оболочка гиперемирована, с кровоизлияниями, на ее поверхности можно увидеть серовато-белые узелки размером с булавочную головку (рис. 1).

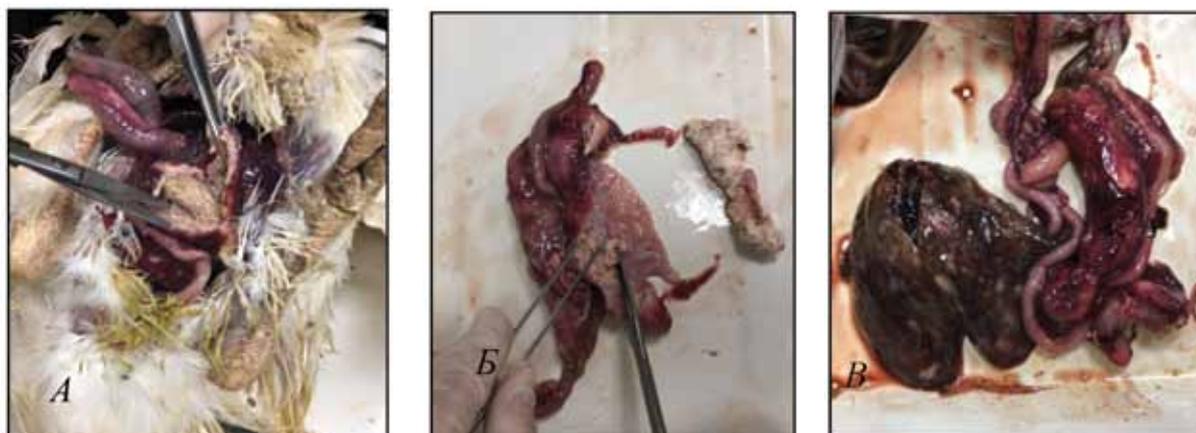


Рис. 1. Патологоанатомические изменения при эймериозе индеек:
 А – патологоанатомическое вскрытие индейки; Б – увеличение кишечника в размере, заполнение кровянистой творожистой массой; В – поражение и кровоизлияния внутренних органов

[Fig. 1. Pathological changes in turkey at eimeriosis:
 A – pathoanatomical autopsy of a turkey; Б – an increase in the size of the intestine, filling with a bloody curdled mass;
 В – damage and hemorrhage of internal organs]

В условиях промышленной технологии ремонтный молодняк индеек выращивают в помещениях без окон с регулируемым освещением и микроклиматом с суточного до 17-недельного возраста, затем их размещают в птичниках для взрослого стада.

Наличие эймериоза у индюшат изучали прижизненными методами диагностики. Отобранные пробы помета и соскобы с пола птичников исследовали в условиях лаборатории института с использованием ранее указанных методов копроскопии.

Интенсивность эймериозной инвазии определяли путем подсчета числа ооцист в 1 г помета индюшат с использованием камеры Мак Мастера под микроскопом МБИ (окуляр 10, объектив 10 (40)) в 20 полях зрения с последующим вычислением средних показателей.

Сравнительную оценку эффективности прижизненных методов диагностики эймериоза у индюшат проводили с использованием копроскопических исследований: флотационного метода Фюллеборна; комбинированных методов: Дарлинга и Мак Мастера. Исследования по методу Дарлинга проводили с одним хлоридом натрия; с хлоридом натрия и глицерином, по Мак Мастеру – с хлоридом натрия и глюкозой, по Фюллеборну – с одним хлоридом натрия.

На первом этапе готовили необходимые рабочие растворы, проверяли их удельный вес.

Пробы помета от индюшат, инвазированных эймериями и свободных от инвазии, были доставлены из хозяйств Пензенской и Московской областей. Ооцист эймерий собирали паразитологической петлей путем снятия поверхностной пленки с использованием флотационного метода. В собранном материале подсчитывали число ооцист эймерий и хранили в холодильнике.

Перед использованием делали разведение культуры и закладывали в стандартные пробы помета массой 2 г, свободные от ооцист, по 1000 ооцист эймерий. Проб с закладкой ооцист эймерий было 30 в трех повторностях; всего было обследовано 90 проб. Для оценки эффективности разных методов использовали 1 г помета.

Культивирование ооцист эймерий проводили в чашках Петри. В них помещали помет индюшат с заранее известным наличием эймерий. Затем чашки Петри ставили в термостат при температуре 26 ± 1 °С. С целью определения сроков споруляции часть ооцист ежедневно подвергали исследованию под микроскопом.

Морфологические исследования и определение признаков видовой принадлежности эймерий индюшат проводили в лаборатории

ВНИИП им. К. И. Скрябинна после завершения споруляции.

Для идентификации вида ооцист эймерий собирали из помета зараженного молодняка, содержимого кишечника и соскобов с кишечной стенки от павших птиц. Для споруляции ооцист помещали в термостат с добавлением 2,5%-ного раствора бихромата калия. При установлении вида эймерий учитывали форму ооцист, цвет, характер оболочки, наличие или отсутствие микропиле, полярной гранулы, длину и ширину ооцисты.

Полученные результаты подвергали статистическому анализу по методике Н. А. Плехинского [6].

Результаты и обсуждение

Молодняк индеек в хозяйствах Пензенской, Тульской и Московской областей был в наибольшей степени заражен эймериями в возрасте 35, 49 и 63 сут при экстенсивности инвазии (ЭИ), равной 30–45%.

Исследования проб подстилки после убоя предыдущей партии индюшат на контаминацию ооцистами эймерий показали сильное ее загрязнение. ЭИ колебалась в пределах 70–80% при обнаружении в 1 г подстилки 10,7–11,8 тыс. ооцист.

Определение удельного веса приготовленных флотационных растворов проводили с помощью денсиметра при комнатной температуре 22 °С. Удельный вес насыщенного раствора хлорида натрия, который используется

по методам Фюллеборна и Дарлинга1, составил 1,18–1,19. Смесь равных частей насыщенного раствора хлорида натрия и глицерина, применяемая по методу Дарлинга2, имела удельный вес 1,20–1,21, смесь насыщенного раствора хлорида натрия и глюкозы, используемая по методу Мак Мастера, – 1,28–1,29.

Результаты проведенных исследований с искусственной закладкой ооцист эймерий в заведомо свободные от паразитических простейших пробы помета индеек показали разную их выявляемость. По флотационному методу Фюллеборна из 500 заложенных ооцист *Eimeria* spp. при исследовании с использованием камеры Мак Мастера было выявлено 312 ооцист. Диагностическая эффективность метода Фюллеборна при эймериозе индеек составила 62,4%. По комбинированному методу Дарлинга1 – с одним хлоридом натрия, из 500 заложенных ооцист эймерий при исследовании были выявлены 396 ооцист, что составило 79,2%. По комбинированному методу Дарлинга2 – с хлоридом натрия и глицерином, из 500 заложенных ооцист эймерий при исследовании пробы находили 428 ооцист.

Диагностическая эффективность метода Дарлинга2 при эймериозе индеек равнялась 85,6% (табл. 1). По комбинированному методу Мак Мастера – с хлоридом натрия и глюкозой, из 500 заложенных ооцист эймерий при исследовании пробы были обнаружены 452 ооцисты. Диагностическая эффективность метода Мак Мастера при эймериозе индеек составила 90,4% (рис. 2).

Таблица 1 [Table 1]

Сравнительная эффективность методов диагностики эймериоза индеек
[Comparative effectiveness of methods for diagnosing eimeriosis of turkeys]

Метод исследований [Research method]	Использованный реактив [Used reagent]	Удельный вес раствора [Specific gravity of the solution]	Число заложенных ооцист в 1 г пробы [The number of embedded oocysts in 1 g of the sample]	Число обнаруженных ооцист в 1 г пробы [The number of detected oocysts in 1 g of the sample]	Процент выявления ооцист [Percentage of oocyst detection]
Фюллеборна	NaCl	1,18	500	312	62,4±6,12
Дарлинга1	NaCl	1,18	500	396	79,2±3,84
Дарлинга2	NaCl + глицерин	1,20	500	428	85,6±3,64
Мак Мастера	NaCl + C ₆ H ₁₂ O ₆	1,28	500	452	90,4±3,41

Проведенные нами сравнительные испытания диагностической эффективности разных методов показали наилучшую эффективность комбинированных методов Дарлинга

и Мак Мастера. Эффективность флотационного метода Фюллеборна была заметно ниже (62,4%), но данный метод диагностики может быть использован в полевых условиях или хо-

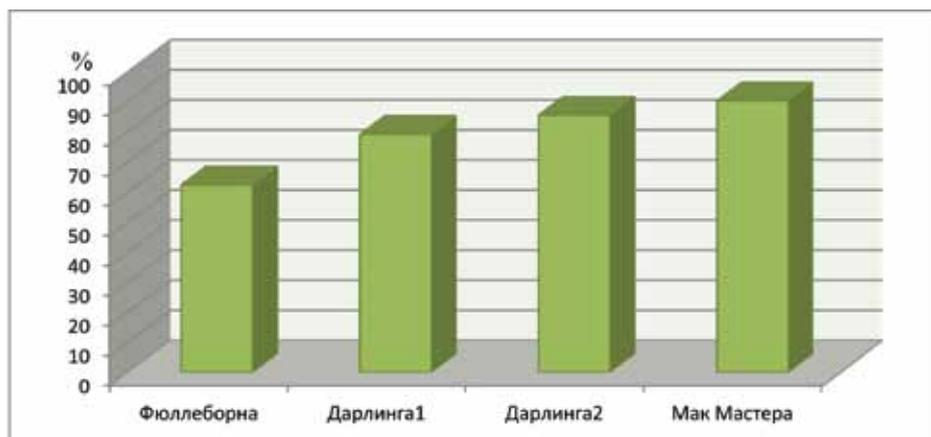


Рис. 2. Эффективность разных методов диагностики эймериоза у индеек
 [Fig. 2. The effectiveness of different methods for diagnosing eimeriosis in turkeys]

зьяствах, где нет соответствующей центрифуги. Кроме того, данный метод с успехом можно использовать для сбора ооцист эймерий из поверхностной пленки стаканчиков для последующего культивирования.

Использованные нами комбинированные методы Дарлинга и Мак Мастера по технологии их выполнения предусматривают двойное центрифугирование: осаждение водой и флотацию с солевым раствором, благодаря чему исследуемая под микроскопом проба содержит не так много остатков корма и других частиц, что отражается на диагностической эффективности метода.

У индеек из хозяйства Пензенской области в пробах помета обнаружены следующие виды эймерий: *E. meleagrimitis* (80%), *E. meleagridis* (15%), *E. adenoides* (5%).

У молодняка индеек, содержащихся в условиях индейководческого хозяйства Москов-

ской области, в пробах помета обнаружены *E. meleagridis* (16%), *E. meleagrimitis* (62%), *E. adenoides* (13%), *E. gallopavonis* (9%) (рис. 3).

Результаты наших исследований по изучению видового состава эймерий молодняка индеек согласуются с данными Г. Р. Насибовой [4].

Далее приведена краткая информация о выявленных видах эймерий у молодняка индеек.

Eimeria meleagridis – распространение повсеместное. Ооцисты эллипсоидные или овоидные, промеры 24,4 × 18,1 мкм; стенка ооцист гладкая, состоит из двух слоев. Эндогенные стадии развиваются в средней и задней частях тонкой кишки, слепых и прямой кишке.

Eimeria meleagrimitis – распространение повсеместное. Ооцисты широкоовальные или сферические, промеры 19,3 × 16,3 мкм; стенка ооцисты гладкая, бесцветная, состоит из двух слоев. Эндогенные стадии развиваются в передней половине тонкой кишки, редко в слепых и прямой кишке.

Eimeria adenoides – распространение повсеместное. Ооцисты эллипсоидно-продолговатые, промеры 26 × 16 мкм; стенка ооцист гладкая, тонкая, состоит из двух слоев. Эндогенные стадии развиваются в задней части тонкой кишки, слепых и прямой кишке.

Eimeria gallopavonis – распространение повсеместное. Ооцисты эллипсоидные или овоидные, промеры 27,1 × 17,2 мкм; стенка ооцисты гладкая, из двух слоев. Эндогенные стадии развиваются в

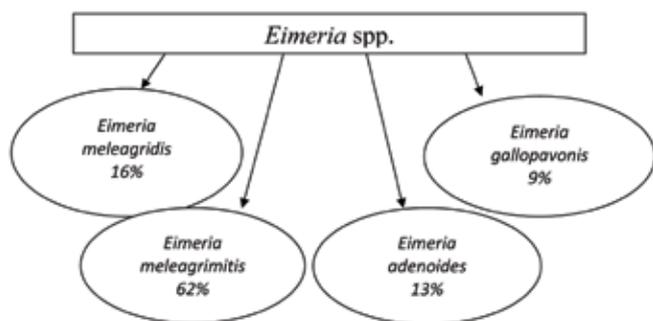


Рис. 3. Видовой состав эймерий в помете молодняка индеек, отобранного в хозяйстве Московской области
 [Fig. 3. Species composition of *Eimeria* spp. in the litter of young turkeys selected in the farm of the Moscow region]

задней части тонкой кишки, слепых и прямой кишки.

Проведенные исследования по установлению видового состава эймерий у молодняка индеек из хозяйств Пензенской и Московской областей показали наличие следующих видов: *E. meleagridis* – 62–80%, *E. meleagridis* – 15–16%, *E. adenoides* – 5–13%, *E. galloravonis* – 9%. В индейководческих хозяйствах отмеченных регионов основными видами эймерий были *E. meleagridis* и *E. meleagridis*. Значительно меньше встречались *E. adenoides* и *E. galloravonis*.

Заключение

Диагностическая эффективность флотационного метода Фюллеборна при эймериозе индеек составила 62,4%, комбинированных методов Дарлингa1 – 79,2, Дарлингa2 – 85,6, Мак Мастера – 90,4%.

У молодняка индеек из хозяйств Пензенской и Московской областей установлены следующие виды эймерий: *E. meleagridis* – 62–80%, *E. meleagridis* – 15–16%, *E. adenoides* – 5–13% и *E. galloravonis* – 9%.

Список источников

1. Акбаев М. Ш., Василевич Ф. И., Акбаев Р. М., Водянов А. А., Косминков Н. Е., Пашкин П. И., Ятусевич А. И. Паразитология и инвазионные болезни животных; под ред. М. Ш. Акбаева. М.: Колос, 2008. 776 с.
2. Давлеев А. Д. Ключевые факторы и тенденции российского рынка индейки в 2014–2020 гг. (часть 2) // Птица и птицепродукты. 2018. № 10. С. 13–18.
3. Крылов М. В. Определитель паразитических простейших. С-Петербург, 1996. 602 с.
4. Насибова Г. Р. Гельминтозы индеек и их сезонная динамика // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. № 11. С.147-153.
5. Орлов С. А. Профилактика кокцидиоза // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. 2013. № 4. С. 38–41.
6. Плохинский Н. А. Математические методы в биологии. М.: Издательство МГУ, 1978. 286 с.
7. Сафиуллин Р. Т. Паразитарные болезни птиц, средства и методы борьбы. М., 2019. 260 с.
8. Сафиуллин Р. Т., Качанова Е. О. Распространение кишечных паразитических простейших бройлеров, ремонтного молодняка кур яичной породы и индеек разного возраста // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы докладов международной научной конференции. 2017. Вып. 18. С. 419-422.
9. Сафиуллин Р. Т. Сравнительная эффективность копроскопических методов диагностики гельминтозов свиней и их усовершенствование на основе стандартизации // Труды Всероссийского института гельминтологии. М., 2001. Т. 37. С. 149-159.
10. Чалышева Э. И., Сафиуллин Р. Т. Эпизоотическая ситуация по кишечным паразитическим простейшим молодняка индеек на птицефабриках Центральной России // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы докладов международной научной конференции. 2019. Вып. 20. С. 690-694.
11. Chadwick E., Beckstead R. Two Blackhead Disease Outbreaks in Commercial Turkey Flocks Were Potentially Exacerbated by Poor Poultry Quality and Coccidiosis. Avian diseases. 2020; 64 (4): 522-524.
12. Chapman H. D. Coccidiosis in the turkey. Avian pathology. 2008; 37 (3): 205-223.
13. Gadde U. D., Rathinam T., Finklin M. N., Chapman H. D. Pathology caused by three species of Eimeria that infect the turkey with a description of a scoring system for intestinal lesions. Avian pathology. 2020; 49 (1): 80-86.
14. Imai R. K., Barta J. R. Distribution and abundance of Eimeria species in commercial turkey flocks across Canada. The Canadian veterinary journal. 2019. 60 (2): 153-159.

Статья поступила в редакцию 23.03.2022; принята к публикации 15.06.2022

Об авторах:

Чалышева Эльвира Ивановна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, аспирант, elviraivanovna00@mail.ru

Сафиуллин Ринат Туктарович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор, ORCID ID: 0000-0003-0450-5527, safiullin_rt@mail.ru

Вклад соавторов:

Чалышева Эльвира Ивановна – доставка проб, выделение ооцист, их культивирование, участие в исследованиях по установлению эффективности и идентификации эймерий, оформление статьи.

Сафиуллин Ринат Туктарович – научное руководство, участие в исследованиях по установлению диагностической эффективности методов, анализ материала и составление статьи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Akbayev M. Sh., Vasilevich F. I., Akbayev R. M., Vodyanov A. A., Kosminkov N. E., Pashkin P. I., Yatushevich A. I. Parasitology and invasive diseases of animals; edited by M. Sh. Akbayev. Moscow: Kolos, 2008; 776. (In Russ.)
2. Davleyev A. D. Key factors and trends in the Russian turkey market in 2014–2020 (part 2). *Ptitsa i ptitseprodukty = Poultry and poultry products*. 2018; 10: 13–18. (In Russ.)
3. Krylov M. V. Identification guide of parasitic protozoa. St. Peter., 1996; 602. (In Russ.)
4. Nasibova G. R. Helminth infections of turkeys and their seasonal dynamics. *Byulleten' nauki i praktiki = Bulletin of Science and Practice*. 2020; 6 (11): 147-153. (In Russ.)
5. Orlov S. A. Prevention of coccidiosis. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Sel'skokhozyaystvennyye zhivotnyye = Russian Veterinary Journal. Live-stock animals*. 2013; 4: 38–41. (In Russ.)
6. Plokhinsky N. A. Mathematical methods in biology. Moscow: MGU Publishing House, 1978; 286. (In Russ.)
7. Safullin R. T. Parasitic diseases of birds, control means and methods. Moscow, 2019; 260. (In Russ.)
8. Safullin R. T., Kachanova E. O. Spread of intestinal protozoan parasites of broilers, replacement young egg-laying chickens and turkeys of different age. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*»: *sbornik nauchnykh statey po materialam Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": collection of Scientific Articles adapted from the International Scientific Conference*. Moscow, 2017; 18: 419-422. (In Russ.)
9. Safullin R. T. Comparative effectiveness of coproscopic methods to diagnose helminth infections in pigs and their standardization-based improvements. *Trudy Vserossiyskogo instituta gel'mintologii = Proceedings of the All-Russian Institute of Helminthology*. Moscow, 2001; 37: 149-159. (In Russ.)
10. Chalysheva E. I., Safullin R. T. Epizootic situation on intestinal protozoan parasites of young turkeys on poultry farms in Central Russia. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*»: *sbornik nauchnykh statey po materialam Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": collection of Scientific Articles adapted from the International Scientific Conference*. Moscow, 2019; 20: 690-694. (In Russ.)
11. Chadwick E., Beckstead R. Two Blackhead Disease Outbreaks in Commercial Turkey Flocks Were Potentially Exacerbated by Poor Poult Quality and Coccidiosis. *Avian diseases*. 2020; 64 (4): 522-524.
12. Chapman H. D. Coccidiosis in the turkey. *Avian pathology*. 2008; 37 (3): 205-223.
13. Gadde U. D., Rathinam T., Finklin M. N., Chapman H. D. Pathology caused by three species of Eimeria that infect the turkey with a description of a scoring system for intestinal lesions. *Avian pathology*. 2020; 49 (1): 80-86.
14. Imai R. K., Barta J. R. Distribution and abundance of Eimeria species in commercial turkey flocks across Canada. *The Canadian veterinary journal*. 2019; 60 (2): 153-159.

The article was submitted 23.03.2022; accepted for publication 15.06.2022

About the authors:

Chalysheva Elvira I., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Postgraduate Student, elviraivanovna00@mail.ru

Safullin Rinat T., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Dr. Sc. Vet., Professor, ORCID ID: 0000-0003-0450-5527, safullin_r@mail.ru

Contribution of co-authors:

Chalysheva Elvira I., sample delivery, oocyst isolation and cultivation, participation in studies to establish the effectiveness and Eimeria identification, article design.

Safullin Rinat T., academic supervision, participation in studies to establish the diagnostic strength of methods, material analysis and article preparation.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:616.98:578.828.11

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-282-295>

Генетический анализ изолятов ВЛКРС у перинатально инфицированного крупного рогатого скота в молодом возрасте

Наталья Геннадиевна Козырева¹, Илья Юрьевич Абашин²,
Людмила Александровна Иванова³

¹⁻³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), Москва, Россия

¹ nk07-73@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4318-8173>

² nk07-73@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3623-1623>

³ nk07-73@mail.ru

Аннотация

Цель исследований – в динамике выявления случаев перинатального заражения оценить количество, генетический статус провирусов лейкоза крупного рогатого скота, выделенных от молодых животных, и корреляционные связи между некоторыми показателями проявления инфекционного процесса на основе методов генодиагностики.

Материалы и методы. Использовали материал от крупного рогатого скота различных возрастных групп: 1 – телята (30–40 минут после рождения до приема молозива и от 15 до 45 сут); 2 – нетели (не старше двух лет). Применяли методы радиальной иммунодиффузии (РИД), полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), филогенетический анализ.

Результаты и обсуждение. Приведена оценка случаев перинатального заражения молодняка крупного рогатого скота. Частота выявления случаев инфицирования составила у телят 4,15% (ПЦР-РВ) и 1,09% (РИД); у нетелей – 1,1% (ПЦР-РВ) и 0,88% (РИД). В положительной динамике (2013–2022 гг.) обнаружено снижение в 36 раз случаев инфицирования с 14,5 до 0,4%, при этом, проходя через 0% (2020 г.) и находясь на уровне 0% (2022 г.). Диапазон провирусной нагрузки в крови обследованных животных составил $2,02 \times 10^4$ – $8,38 \times 10^6$ ГЭ/мл. Показана принадлежность выделенных изолятов ВЛКРС к двум генотипам *GIV* и *GVII* (env) и кладу 1 (pol). Оценено завышение числа провирусов в три раза у особей до двух лет ($3,83 \times 10^6$ ГЭ/мл) относительно таковой у месячных телят ($1,3 \times 10^6$ ГЭ/мл) и в 9 раз для *GIV* относительно *GVII*. Проработка генодиагностических алгоритмов важна для повышения эффективности профилактических инструментов по предотвращению распространения данной ретровирусной инфекции на ранних сроках у молодых животных, что подтверждено снижением до 0% случаев выявления ретровирусной инфекции у молодых животных в динамике. Число провируса было выше у нетелей, чем у телят; у повторнородящих молочных коров уровень провирусной нагрузки выше, чем у не рожавших особей и количественные показатели в крови животных с генотипом *GIV* были выше относительно таковых с *GVII* генетическим вариантом ВЛКРС.

Ключевые слова: лейкоз, ВЛКРС, крупный рогатый скот, перинатальное инфицирование, филогенетический анализ, генетический полиморфизм, противолейкозные оздоровительные мероприятия

Благодарность. Работа выполнена в рамках государственного задания в соответствии с утвержденным планом НИР ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН на 2022 год.

Прозрачность финансовой деятельности: в представленных материалах или методах авторы не имеют финансовой заинтересованности.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Козырева Н. Г., Абашин И. Ю., Иванова Л. А. Генетический анализ изолятов ВЛКРС у перинатально инфицированного крупного рогатого скота в молодом возрасте // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 282–295.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-282-295>

© Козырева Н. Г., Абашин И. Ю., Иванова Л. А., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Bovine Leukemia Virus (BLV) isolates genetic analysis in perinatally infected cattle at young age

Natalia G. Kozyreva¹, Iliya Yu. Abashin², Lyudmila A. Ivanova³

¹⁻³Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia

¹nk07-73@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4318-8173>

²nk07-73@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3623-1623>

³nk07-73@mail.ru

Abstract

The purpose of the research is to identify perinatal infection in the dynamics, and assess the number and genetic status of bovine leukemia proviruses isolated from young animals, and correlations between some indicators of the infectious process based on gene diagnostics methods.

Materials and methods. We used the material from cattle of different age groups: 1, calves (30–40 minutes after birth before colostrum and 15 to 45 days); and 2, heifers (not older than two years). Radial immunodiffusion (RID), real-time polymerase chain reaction (PCR), and phylogenetic analysis were used.

Results and discussion. An assessment is given for perinatal infection of the young cattle. The detection rate of the infection in the calves was 4.15% (PCR) and 1.09% (RID); and 1.1% (PCR) and 0.88% (RID) in the heifers. A 36-fold decrease of the infection was found in positive dynamics (2013–2022) from 14.5 to 0.4% with passing through 0% (2020) and being at the level of 0% (2022). The proviral load ranged from 2.02×10^4 to 8.38×10^6 GE/mL in the blood of the examined animals. The BLV isolates obtained were shown to belong to two genotypes, *GIV* and *GVII* (env), and clade 1 (pol). We assessed an overestimation of the number of the proviruses by a factor of three in the animals under two years of age (3.83×10^6 GE/mL) relative to that in the 1-month-old calves (1.3×10^6 GE/mL), and by a factor of nine for *GIV* relative to *GVII*. It is important to develop gene diagnostics algorithms to increase the effectiveness of routine tools to prevent the spread of this retrovirus infection in young animals at an early stage, which is confirmed by a decrease to 0% of detected retrovirus infection in young animals over time. The provirus number was higher in the heifers than the calves; the proviral load level was higher in the multiparous dairy cows than the nulliparous animals, and quantitative indicators were higher in the animals' blood with the *GIV* genotype relative to those with the *GVII* genetic variant of the BLV.

Keywords: leukemia, BLV, cattle, perinatal infection, phylogenetic analysis, genetic polymorphism, anti-leukemic health precautions

Acknowledgements. The study was conducted within the State Task as provided by the approved Research Work Plan of the FSC VIEV for 2022.

Financial transparency: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Kozyreva N. G., Abashin I. Yu., Ivanova L. A. Bovine Leukemia Virus (BLV) isolates genetic analysis in perinatally infected cattle at young age. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022;16(3):282–295. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-282-295>

© Kozyreva N. G., Abashin I. Yu., Ivanova L. A., 2022

Введение

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) является представителем дельтаретровирусов семейства Retroviridae и индуцирует злокачественное лимфопролиферативное заболевание – энзоотический лейкоз [19]. Лейкоз крупного рогатого скота, как латентная ретровирусная инфекция сельскохозяй-

ственных животных, наносит экономический ущерб животноводческой отрасли, и является одной из наиболее важных проблем ветеринарной медицины.

В хозяйствах с высоким уровнем инфицированности выращивание свободного от вируса молодняка с заменой им в дальнейшем маточного поголовья – основное направление

работы по формированию здорового поголовья в рамках осуществления оздоровительных мероприятий, где ведущее место принадлежит диагностике. Применение серологических методов диагностики усложняет задачу своевременной постановки диагноза из-за присутствия в организме телят колостральных антител, приобретенных от матерей. Таким образом, на данном этапе онтогенеза крупного рогатого скота (телята в возрасте 0–6 мес.) прямая диагностика инфекции становится наиболее эффективной и приводит к сокращению сроков противолейкозных мероприятий.

Кровь, все секреты и экскреты с наличием в них лимфоцитов, зараженных ВЛКРС, представляют собой факторы передачи патогена восприимчивому крупному рогатому скоту [1].

При вертикальной передаче инфицирование ВЛ осуществляется в перинатальном периоде, в котором передача лейкозной инфекции от матери к новорожденному происходит следующими путями: а) гематогенным – трансплацентарно при преодолении ретровирусом плацентарного барьера, б) контактным – при родах, посредством заглатывания инфицированной крови или амниотической жидкости, в) алиментарным – после родов через материнское молоко.

По литературным данным, внутриутробное заражение в естественных условиях у новорожденных телят до приема молозива составляет от 4 до 18% [8, 25, 28]. Показана независимость естественного внутриутробного инфицирования ВЛКРС от породы [28], возраста матерей, паритета самок (числа родов) и времени наличия этой инфекции у матерей [9], но выявлена связь с материнским лимфоцитозом [8, 25], злокачественной лимфомой [25] и материнской вирусной нагрузкой [28]. Экспериментальное заражение коров во время беременности подтверждено выявлением серопозитивных телят при рождении, что указывает на их внутриутробное инфицирование [39]. Предположительно плацентарная и пуповинная кровь могут быть путями вертикальной передачи ВЛКРС при наличии провируса в плацентарной и пуповинной крови, но не в амниотической жидкости [34]. При исследовании частоты перинатальной инфекции ВЛКРС в полевых условиях в Японии обнаружено 7,7% телят, рожденных от инфицированных коров с инфицированием в родовых путях, а 10,8% – в утробе [28, 32].

Как для ВЛКРС, так и для представляющих значительную опасность Т-лимфотропных вирусов приматов, существует проблема передачи ретровирусов потомству с молоком от инфицированных матерей [10]. Принимая во внимание сходство биологических свойств этих вирусов, можно ожидать, что способ и механизмы их передачи имеют много общего [2].

Выпаивание материнским молоком увеличивает риск инфицирования новорожденного. При анализе данных о роли молока как фактора передачи ВЛКРС показано, что в естественных условиях заражение телят вирусом лейкоза при этом происходит весьма редко [1]. Однако, при наличии ретровирусной инфекции у коров-матерей вероятность инфицирования через молоко значительно повышается посредством контаминирования кровью, например, в случае заболевания коровы-вирусоносителя маститом [11].

Как по литературным данным, так и по результатам собственных исследований, описано наличие провируса/инфекционного вируса и в молоке, и в молозиве от большинства инфицированных коров [2, 18], которые являются источниками инфекции для новорожденных телят. С другой стороны, и молоко, и молозиво также могут содержать специфические антитела к ВЛКРС [18].

Потенциальные защитная или инфекционная роли/функции молозива и молока при естественной передаче ВЛКРС пока еще до конца не выяснены и в настоящее время являются предметом многочисленных исследований, которые предполагают полярные выводы/гипотезы [13, 15, 24, 39]. При изучении количественных показателей установлено, с одной стороны, что присутствие провируса в молозиве достоверно коррелирует с провирусной нагрузкой (ПН) в крови [17]; с другой стороны, в образцах молозива ПН ниже, чем в образцах периферической крови [2, 4, 32].

По статистике, в среднем, у инфицированных коров рождается 3–5% (собственные наблюдения), около 10% [32] инфицированного потомства. Увеличение частоты перинатальной передачи может достигать практически до 30% в случаях присутствия отягчающих условий (например, факторов патогенности микроорганизмов, нарушающих плацентарный барьер или контаминации кормов плесневыми грибами).

Известно, что путь передачи ретровируса во время родов является основным в вертикальной трансмиссии. Например, для ВИЧ-инфекции это составляет 60–75% случаев. В связи с этим, предполагается, что передача вируса произошла на интранатальном этапе (во время родов) при условии выявления на 7–90-е сутки жизни инфекции и отсутствии грудного вскармливания [6].

Так, в случае лентивирусов (ВИЧ) трансплацентарный путь внутриутробного заражения является ключевым механизмом передачи инфекции и вторым по эффективности заражения относительно гемотрансфузии. Проанализированы патологические изменения в ворсинчатом хорионе, нарушающие защитную функцию плаценты как плацентарного барьера, препятствующего инфицированию плода. При дефектах плаценты (в частности, синцитиотрофобласта), способствующих проникновению вируса в кровотоки плода, частота передачи ВИЧ плоду увеличивается на последнем месяце беременности. В процессах регуляции межклеточного слияния элементов цитотрофобласта и формирования синцитиотрофобласта в плаценте человека на клеточном уровне участвуют гены эндогенных ретровирусов (в частности, лентивирусов) человека (human endogenous retroviruses – HERVs) как рудимент возбудителей ретровирусных инфекций, закрепившихся в зародышевой ДНК. Например, синцитин-1 (ERVWE1 – endogenous retroviral family W, Env(C7), member1) в случае обладания феноменом рецепторной интерференции обеспечивает защиту клеток хозяина от экзогенных ретровирусов и может регулировать тропизм ВИЧ-1 к CD4 негативным клеткам через взаимодействие с рецепторами hASCT1/hASCT2 [6].

Также известно, род дельтаретровирусов представлен, помимо Т-лимфотропных вирусов приматов (PTLV) (в том числе, человека (HTLV) и ВЛКРС (BLV)), эндогенными ретровирусами (endogenous retroviruses, ERVs) [19].

При изучении вертикальной трансмиссии в эксперименте частота выявления (скорость распространения) случаев ретровирусной инфекции у последующего поколения мышей, чьи матери были заражены мышинным ретровирусом ts1 (возраст матерей, в котором они получили инокуляцию/инъекцию вирусом 5 сут или 48 ч), составила 2,9 и 25% соответственно [12].

У беременных женщин с условием профилактики лечения и также при кесаревом сечении частота заражения ВИЧ-инфекцией при перинатальной передаче снижается до 5–8% [6]. Однако, риск ее все же остается высоким, что диктует необходимость дальнейшего совершенствования организации системы медико-социальной помощи для данной категории населения с разработкой дополнительных мер по снижению трансмиссии ВИЧ-инфекции, смертности и предупреждению мертворождаемости в перинатальном периоде [7].

В связи с этим, проработка эффективных диагностических алгоритмов профилактики ретровирусной инфекции с применением новых технологий геномного анализа у молодняка крупного рогатого скота на ранних стадиях данного заболевания положено в основу наших исследований.

Цель работы – оценить количество (прототипическую нагрузку), генетический статус прототипов лейкоза крупного рогатого скота, выделенных от молодых животных в динамике выявления случаев перинатального заражения, и также корреляционные связи между некоторыми показателями/переменными (ПН, генетический статус, возрастная группа) на основе методов генодиагностики.

Материалы и методы

Нами использован материал от крупного рогатого скота из обследуемого хозяйства в возрасте: 0,5 ч (в течение 30–40 мин. после рождения до приема молозива); от 15 до 45 сут (телята) – группа 1; не старше двух лет (нетели) – группа 2.

Методом радиальной иммунодиффузии (РИД) проанализированы пробы сыворотки крови, полученные от новорожденных телят до приема молозива. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) исследованы пробы крови от тех же телят в возрасте до двух месяцев. Данная группа животных после рождения находилась на вскармливании молоком от здоровых коров. Материал от тех же животных в возрасте до двух лет исследовали методами РИД и ПЦР. Испытывали пробы крови и сыворотки, полученные от телок в возрасте до двух лет из группы здоровых животных, сформированной по результатам исследований тех же животных в возрасте 1–2 мес. Таким образом,

максимальный интервал между обследованиями методом ПЦР достигал 2 года, т. е. работу проводили в отрицательном поле при наличии у данных животных отрицательного серологического статуса.

Всего методом ПЦР обследовано 2833 телат и 1597 нетелей.

Все этапы подготовки растворов и реагентов для проведения анализа, а также непосредственно процедуру проведения анализа выполняли в соответствии с инструкциями к соответствующим комплектам реагентов.

Экстракцию геномной ДНК проводили любым методом, позволяющим получить нуклеиновую кислоту (НК), пригодную для амплификации в ПЦР. С этой целью использовали коммерческие наборы реагентов для выделения нуклеиновых кислот: «Рибо-преп» (метод преципитации НК спиртом), «ДНК-сорб-В» (метод сорбции НК на носитель), (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва). ДНК экстрагировали из 100 мкл цельной крови, на конечном этапе элюировали ДНК в 50 мкл буфера для элюции. Процедура выделения НК, при этом, сопровождалась отрицательным контролем экстракции (ОКО) при использовании в качестве пробы бидистиллированной воды или физиологического раствора в объеме 100 мкл.

Метод мультиплексной ПЦР-РВ с использованием разработки ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН – тест-системы «ВЛКРС мультиплекс» применяли для выявления ДНК провируса вируса лейкоза крупного рогатого скота [3, 5]. Количественный вариант ПЦР (кПЦР) – с использованием генно-инженерной конструкции – плазмиды *pBLVpol* с известной концентрацией (разработка ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН).

В качестве референсного использовали набор для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота – выявления антител против гликопротеидного антигена ВЛКРС в РИД в геле агара («БИОК», ФГУП Курская биофабрика, Россия) как «золотого стандарта» диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Серологическим методом исследовали пробы сывороток от новорожденных животных до приема молозива и молодых телок (нетелей).

Идентификацию целевых фрагментов для последующего определения первичной нукле-

отидной последовательности проводили методом ПЦР с электрофоретической детекцией в следующих вариантах: классической одно-раундовой ПЦР с получением ампликонов размером 438 п.о. (*pol*); «гнездовой» ("nested") ПЦР с получением ампликонов размером 341 п.о. (*env*).

Непосредственно секвенирование проводили на автоматическом анализаторе Beckman Coulter в соответствии с рекомендациями производителя. Первичные нуклеотидные последовательности, полученные в результате секвенирования, идентифицировали в банке данных GenBank с помощью сервиса BLAST ресурса NCBI. Для сравнения использовали референсные нуклеотидные последовательности локусов генов *pol*, *env* международных и российских изолятов ВЛКРС, представленные в базах данных (БД) GenBank, ВИЭВ.

Эволюционный анализ локусов генов (*pol* – приблизительно 400 нуклеотидов; *env* – приблизительно 300 нуклеотидов) выполняли с помощью программы Mega v.6. Дендрограммы построены дистанционными методами минимума эволюции (ME) [33], присоединения соседей (NJ) [35] с определением *r*-дистанций. Статистическую достоверность топологии деревьев оценивали с помощью метода бутстрэп-анализа при 1000 итерациях. Эволюционные дистанции рассчитывали с использованием моделей Кимуры [22], Таджима и Неи [38].

Результаты и обсуждение

За 2013–2022 гг. обследован молодняк методом ПЦР по выявлению ДНК ВЛКРС у молодых животных (телок) в динамике. Частота случаев обнаружения ДНК ВЛКРС составила от 14,5 (2013 г.) до 0,4% (2021 г.); при этом показатели инфицированности были снижены в 36 раз, проходя через 0% (2020 г.) и находясь на уровне 0% в текущем периоде, что свидетельствует о положительной динамике развития ситуации (рис. 1).

При проведении эксперимента в хозяйстве отлучали новорожденных телок от инфицированных матерей сразу же после рождения (не допускали контакта с ними) и выпаивали молоком от здоровых особей. Ранее нами была показана опасность нативного молока, обладающего инфекционными свойствами [2].

При сравнении чувствительности методов ПЦР-РВ и РИД в 1373 случаях для телок 1-й

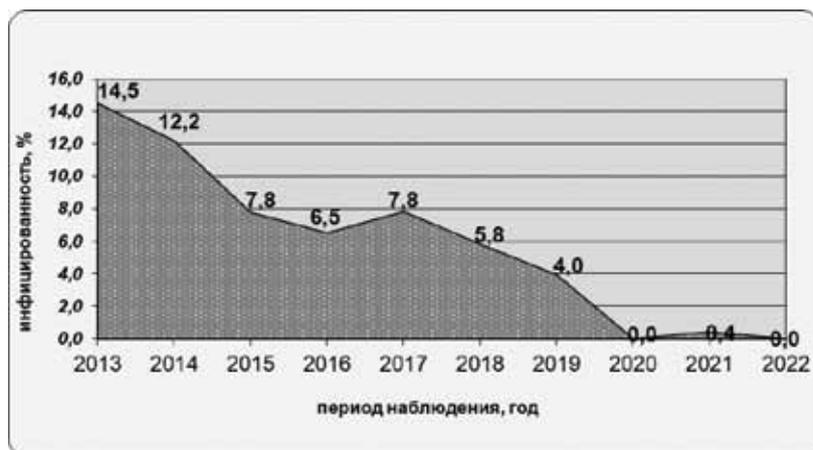


Рис. 1. Динамика выявления случаев ВЛКРС у телок
 [Fig. 1. Dynamics of detection of cases of BLV infection in heifers]

группы животные распределились следующим образом: ПЦР⁺/РИД⁺ – 1,09% (15/1373), ПЦР⁺/РИД⁻ – 3,06% (42/1373), ПЦР⁻/РИД⁺ – не выявлено, ПЦР⁻/РИД⁻ – 95,85% (1316/1373). Во 2-й группе нетелей в 1364 случаях распределение животных представлено следующими вариантами: ПЦР⁺/РИД⁺ – 0,88% (12/1364), ПЦР⁺/РИД⁻ – 0,22% (3/1364), ПЦР⁻/РИД⁺ – не выявлено (0/1364), ПЦР⁻/РИД⁻ – 98,90% (1349/1364). При этом уровень вирусоносительства у телят составил 4,15% (ПЦР-РВ) и 1,09% (РИД); у нетелей – 1,1% (ПЦР-РВ) и 0,88% (РИД). В результате испытания диагностической чувствительности вышеуказанных методик обнаружено завышение таковой в пользу ПЦР-РВ – в 3,8 (1-я группа) и 1,25 (2-я группа) раз относительно РИД.

На данном этапе определены первичная нуклеотидная последовательность, количества провируса; проведен филогенетический анализ 22 образцов провирусной ДНК изолятов ВЛКРС; установлен их генетический статус. Среди данных исследуемых изолятов 14 образцов ДНК анализировали по локусу *pol* и 19 – по локусу *env* ВЛКРС (рис. 2, 3).

На основе анализа локуса гена *pol* выявлено, что общая тенденция по БД сохраняется – анализируемые российские изоляты (14/14, 100%) сгруппировались с изолятом M16017 (USA) – клад 1 (рис. 2, Б). Относительно международного штамма – M16017_(USA) – эволюционные расстояния составляли, в среднем, 0,012. Диапазон эволюционных расстояний представлен следующим образом: минимальная дистанция

составила 0,007 (5/14, 35,7% изолятов), максимальная – 0,037 (2/14, 14,3% изолятов). Определены внутригрупповые средние эволюционные дистанции среди исследуемых изолятов и референс-последовательностей для клада 1 – проанализированная степень внутригрупповой дивергенции, в среднем, составила 0,018±0,002 (1,8±0,2%).

Филогенетический анализ на основе гена *env* позволил оценить гетерогенность исследуемой группы, включающей 19 изолятов ВЛКРС (рис. 3).

Для положительного контрольного образца К+ (штамм *FLK BLV*) подтверждено его отношение к GI.

У большинства анализируемых изолятов (13/19, 68,4%) обнаружена принадлежность к IV генетическому варианту ВЛКРС (рис. 3, А). Степень дивергенции внутри *GIV* между исследуемыми изолятами и международными референс штаммами, в среднем, составляет 1,8±0,5% (0,018±0,005) в диапазоне средних значений эволюционных расстояний от 0,008 до 0,038.

Часть изолятов (6/19, 31,6%) сгруппировалась с VII генотипом изучаемого патогена (рис. 3, Б). Данные исследуемые представители ВЛКРС идентичны между собой (0,000; 100%); находятся на минимальном расстоянии (0,006) от международных AY515274 *Chile*, AY515276 *Chile*, AY515280 *Chile* и российского HM563749 штаммов; максимально удалены от польского изолята EU262555 *Poland*. Степень дивергенции внутри *GVII*, в среднем, составила

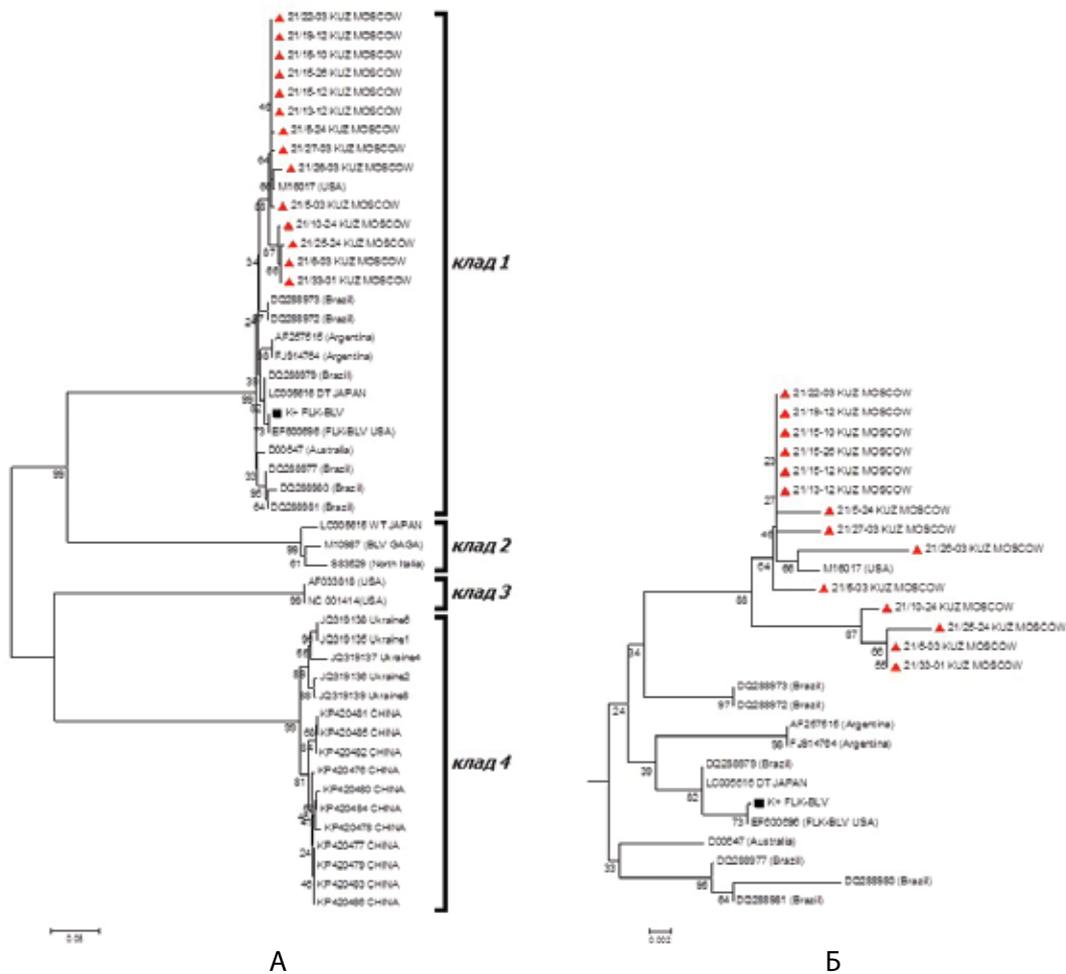


Рис. 2. Филогенетическое сравнение участков гена *pol* провирусов ВЛКРС (дистанционный метод максимума правдоподобия, двухпараметрическая модель Кимуры, бутстреп-анализ при 1000 случайных выборках, массив данных – 48 последовательностей):

А – собственно древо с представителями провирусов ВЛКРС;

Б – ветвь (фрагмент) древа с представителями клада 1.

Красным символом Δ обозначены исследуемые изоляты, черным \blacksquare – изолят K + FLK-BLV

[Fig. 2. Phylogenetic comparison of the *pol* gene regions of BLV proviruses.

The tree was constructed using the remote maximum likelihood method, using two-parameter Kimura model, bootstrap analysis with 1000 random samples, and the data array consists of 48 subsequences:

A – the tree itself with representatives of BLV proviruses;

B – branch (fragment) of the tree with representatives of clade 1.

The red symbol Δ denotes the studied isolates, the black symbol \blacksquare denotes the K + FLK-BLV isolate]

$1,1 \pm 0,5\%$ ($0,011 \pm 0,005$) в диапазоне значений эволюционных расстояний от 0,006 до 0,022.

У 13 из обследованных животных проведена оценка ПН, диапазон которой составил $2,02 \times 10^4$ – $8,38 \times 10^6$ ГЭ/мл. По возрастным группам количество провируса распределилось следующим образом: у месячных телят (6/13, 46%) эти значения, в среднем, составили $1,3 \times 10^6$ ГЭ/мл, у животных до 2-х лет (7/13, 54%) – $3,83 \times 10^6$ ГЭ/мл.

При этом, в процессе анализа генетического статуса (всего исследовано 11 из 13 животных) у 6 телят выявлено наличие двух генотипов вируса *GVII* (3/11, 27,3% изолятов) и *GIV* (3/11, 27,3% изолятов) – гетерогенная популяция патогена; у 5 нетелей обнаружена гомогенная популяция вируса с наличием IV-го генетического варианта (5/11, 45,4% изолятов). Уровень ПН для животных с тем или иным генотипом ВЛКРС отличается приблизительно в 9 раз (88%) между собой и, в среднем,

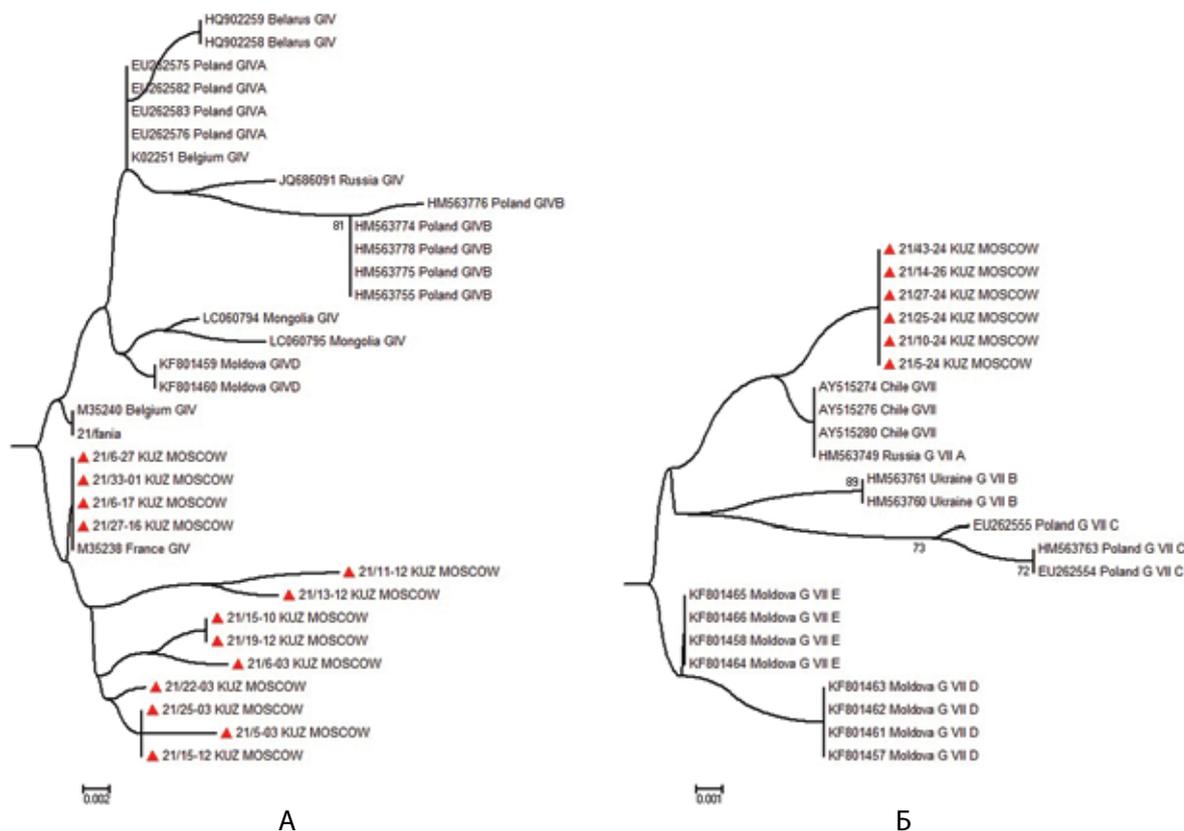


Рис. 3. Филогенетическое сравнение участков гена *env* провирусов ВЛКРС: А – ветвь (фрагмент) дерева с представителями IV генотипа; Б – ветвь (фрагмент) дерева с представителями VII генотипа (дистанционный метод присоединения соседей, р-дистанций, бутстреп-анализ при 1000 случайных выборках). Красным символом обозначены исследуемые изоляты

[Fig. 3. Phylogenetic comparison of *env* gene regions in BLV Provirus: A – branch (fragment) of the tree with representatives of genotype IV; B – branch (fragment) of the tree with representatives of genotype VII. The tree itself (data not provided) was constructed using remote method of joining neighbors, p-distances, bootstrap analysis with 1000 random samples. Investigated isolates are marked with a red symbol]

количество патогена составляет $3,09 \times 10^6$ ГЭ/мл для *GIV* (8/11, 72,3% изолятов), что превышает таковое $3,58 \times 10^5$ ГЭ/мл для *GVII* (3/11, 27,3% изолятов).

На сегодняшний день отмечается прогрессивная тенденция в обеспечении здоровья молочного поголовья крупного рогатого скота, которая заключается в переходе к профилактике инфекции на ранних ее стадиях до начала применения лечебных мероприятий. Несмотря на то, что данная ретровирусная инфекция – лейкоз КРС – не считается таким инфекционным заболеванием, которое вызывает аборт или неонатальную смертность, следует уделять особое внимание новорожденным телятам в течение первой недели жизни в молочных стадах как фактору раннего

распространения возбудителя среди восприимчивых животных [32].

В связи с этим, оценка частоты встречаемости ВЛКРС у инфицированных перинатально телят представляет собой актуальный вектор стратегии управления биологическими рисками в качестве превентивной/предупредительной меры. При проведении оздоровительных мероприятий сложность серологической диагностики инфекции у телят в период от рождения до 6 мес. заключается, во-первых, в наличии колостральных антител против ВЛКРС, которые теленок получает от матери в первые часы жизни, во-вторых, в слабо выраженном гуморальном иммунном ответе на инфицирование в перинатальный период или его полном отсутствии. Отсутствие иммуно-

глобулинов сыворотки крови телят приводит к быстрой контаминации биоматериала и образованию колоний микроорганизмов в геле агара, что препятствует правильному учету результатов реакции и снижает чувствительность метода РИД. Помимо этого, необходимость взятия материала у новорожденных телят до приема молозива создает дополнительные трудности в работе зооветеринарного персонала. Поэтому, применение прямого высокочувствительного молекулярно-биологического метода выявления генетического материала патогена, не зависящего от присутствия антител, по нашему мнению, позволяет эффективно решать проблему диагностики ВЛКРС-инфекции у телят в раннем возрасте.

Нативное молозиво и молоко, которые обладают инфекционными свойствами [2, 4], представляют потенциальную опасность и, соответственно, являются фактором передачи возбудителя от матери своему потомству. С другой стороны, такая же ситуация продемонстрирована в случае близкородственных Т-лимфотропного вируса человека и вируса иммунодефицита человека, где риск перинатальной трансмиссии повышается при наличии фактора передачи – молока, вместе с такими показателями как ПН и продолжительность лактации [23, 27]. Таким образом, в своей работе выпаивание обследуемых телят проводили молоком от здоровых матерей. В данной ситуации при исключении алиментарного пути передачи возбудителя случаи заражения молодых животных происходили гематогенным (с нарушением плацентарного барьера) и контактным (посредством инфицированных амниотической жидкости или крови) путями.

Наша работа была сосредоточена на следующих аспектах молекулярного анализа: обнаружение провирусной ДНК ВЛКРС и ее ассоциации с различными факторами в полевых условиях; оценка провирусной нагрузки в образцах ДНК; филогенетический анализ выявленных изолятов ВЛКРС.

Выявляемая с помощью геномного анализа частота перинатального заражения молодняка трансплацентарным/контактным путями в животноводческом хозяйстве снизилась до минимального уровня 0,4% в 2021 г. и отсутствует (0%) на сегодняшний день.

Также (как и ранее [4]), нами подтверждена относительная диагностическая чувстви-

тельность молекулярно-генетической диагностики с использованием мультиплексной ПЦР-РВ. Частота встречаемости ВЛКРС у молодняка находится на уровне не ниже по сравнению с таковой серологического метода и отличается в 3,8 (1-я группа) и 1,25 (2-я группа) раз в сторону завышения. Это свидетельствует в пользу эффективности методики ПЦР и подтверждается снижением случаев выявления ретровирусной инфекции у молодых животных в динамике.

Известно, что оценка количества провирусной ДНК ВЛКРС, интегрированной в геномной ДНК клеток-хозяев, имеет прогностическое значение для развития лейкоза крупного рогатого скота [26, 36]; потенциально удаление крупного рогатого скота с высокой ПН успешно снижает распространенность и заболеваемость ВЛКРС [31]. Напротив, животные с низкой ПН, по-видимому, имеют, соответственно, меньшую заражающую дозу для передачи ВЛКРС [21, 29]. Следует отметить, что ПН в индивидуальном организме животного не является стабильной и носит колебательный характер при патогенезе [20, 37].

Нами была начата серия экспериментов по выявлению возможной корреляции между некоторыми показателями/характеристиками изучаемого инфекционного процесса. ПН является прогностическим маркером, что показывает, как может снизиться иммунный статус у животного во времени. Так, при сравнении количеств провируса у различных возрастных категорий крупного рогатого скота отмечали трехкратное завышение ПН у нетелей в возрасте до двух лет (2-я группа) относительно таковой у месячных телят (1-я группа). Телята со слабым гуморальным иммунным ответом на инфицирование продолжают быть защищенными на фоне колострального/приобретенного иммунитета (период элиминации материнских антител приблизительно до 6–8 мес.), т. е. незрелая иммунная система не в состоянии справиться с относительно высокими концентрациями вируса. У молодых особей чаще встречаются дефициты гуморального иммунитета в результате недостаточной зрелости иммунной системы в период новорожденности и до 2–3 недели жизни. Другое возможное объяснение относительно высокой концентрации ВЛКРС при вертикальном пути заражения – это передача штаммов вируса, которые мутировали,

чтобы ускользнуть от действия иммунной системы матери. Вирус, адаптировавшийся к иммунной системе матери, несет меньше антигенных детерминант, которые способны образовывать комплексы с молекулами главного комплекса гистосовместимости и распознаваться его иммунной системой [14, 16].

Система естественной резистентности, в том числе нормализация механизмов иммунной реактивности, изменяется в соответствии с общим физиологическим состоянием организма животных и с возрастом.

С другой стороны, ПН у коров в возрасте от 2 до 6 лет, у которых количественные значения были условно высокими (порядок ПН более 10^5 ГЭ/мл) и, в среднем, составляли $1,5 \times 10^8$ ГЭ/мл (не опубликованные данные), превышали таковые у телят приблизительно в 10^2 раз, нетелей до двух лет – приблизительно в 40 раз. Это согласуется с литературными данными о том, что у повторнородящего молочного скота уровень ПН более высокий, чем у не телившихся особей [30]. Высокие показатели ПН, как правило, приходится на период, когда телки размножаются, телятся и входят в дойное стадо – это время интенсивного человеческого вмешательства, присутствие стрессовых ситуаций, более тесного физического контакта между взрослыми особями, что возможно оказывает влияние на иммунный профиль животных. У взрослых и старых животных снижение иммунологической реактивности может происходить и за счет аутоиммунных процессов.

Филогенетический анализ показал наличие двух генотипов среди анализируемых животных: *GVII* и *GIV*. При этом, количество провируса варьировало между ними с разницей в 9 раз (88%) с завышением в сторону *GIV* варианта ВЛКРС. Интересно, что в 1-й группе, где выявлена гетерогенная популяция ВЛКРС, ситуация повторилась. Среди телят разница с завышением ПН в сторону *GIV* варианта составила 6,3 (84%) раза. Учитывая малочисленную выборку животных, планируется продолжать исследования в данном направлении с целью проработки эффективных алгоритмов с помощью соответствующих диагностических инструментов в рамках программ по контролю лейкозной инфекции у крупного рогатого скота.

Заключение

Обнаружена положительная динамика выявления случаев перинатальной инфекции у молодняка за обозначенный период наблюдения в сторону снижения в 36 раз с отсутствием диагностических признаков трансмиссии ВЛКРС у молодых животных на данном этапе наблюдения.

Обоснована необходимость применения метода ПЦР-РВ как эффективного инструмента профилактических мероприятий при ретровирусной инфекции, начиная с самого раннего возраста телят от 0 до 20 сут (оптимально при первой вакцинации с целью наименьшего травмирования животного), что позволяет своевременно удалять инфицированных телят и формировать группу здоровых животных с последующей заменой ими маточного поголовья.

Проведено совершенствование молекулярной диагностики на основе геномного анализа в схеме комплексных противоэпизоотических/оздоровительных мероприятий с целью предотвращения распространения данной ретровирусной инфекции на ранних сроках.

Показано, что на основе филогенетического анализа локусов провирусных генов *pol*, *env* сохраняется общая тенденция по собственной БД ВИЭВ нуклеотидных последовательностей ВЛКРС: по локусу *pol* анализируемые российские изоляты сгруппировались с кладом 1 (14/14, 100% изолятов); по локусу *env* при выявлении двух генотипов вируса – *GVII* (6/19, 31,6% изолятов) и *GIV* (13/19, 68,4% изолятов) – доминирует *GIV* генетический вариант.

Начаты исследования по выявлению корреляционных связей между некоторыми характеристиками инфекционного процесса: количеством и генетическим вариантом ВЛКРС, а также возрастом крупного рогатого скота.

Установлено, что уровень инфицирования выше у нетелей, чем у телят; у повторнородящих молочных коров уровень ПН выше, чем у не рожавших особей; количество провируса завышено в крови животных с генотипом *GIV* относительно таковых с генетическим вариантом *GVII* ВЛКРС.

Список источников

1. Валихов А. Ф., Бурба Л. Г., Шишков В. П. Иммунологическое и вирусологическое исследование мо-

- лока, крови и спермы крупного рогатого скота, инфицированного онкорнавирусом // Труды ВИЭВ. 1983. № 59. С. 71-72.
2. Гулюкин М. И., Козырева Н. Г., Иванова Л. А., Степанова Т. В., Клименко А. И., Коваленко А. В., Дробин Ю. Д., Василенко В. Н. Межвидовая передача вируса лейкоза крупного рогатого скота в эксперименте // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 5, № 60. С. 32-37.
 3. Козырева Н. Г. Применение методики мультиплексной ПЦР-РВ в молекулярной диагностике ВЛКРС при перинатальном инфицировании // Международный вестник ветеринарии. 2018. № 4. С. 28-32.
 4. Козырева Н. Г., Абашии И. Ю., Иванова Л. А. Эффективность применения генодиагностического теста в оценке перинатального заражения у молодняка при профилактике лейкоза крупного рогатого скота с целью повышения качества молочной продукции // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2020. Т. 4, № 36. С. 450-455. https://doi.org/10.36871/vet_san.hyg.ecol.202004007.
 5. Козырева Н. Г., Иванова Л. А., Степанова Т. В., Гулюкин М. И. Способ диагностики лейкоза крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции. Патент РФ 2694617, 2018.
 6. Колобов А. В. Место ретровирусов в перинатальной патологии (обзор литературы) // Журнал инфектологии. 2012. Т. 4, № 4. С. 13-19.
 7. Садовникова В. Н. Особенности заболеваемости ВИЧ-инфекцией у детей и меры по профилактике перинатальной трансмиссии ВИЧ-инфекции // Педиатрия. 2010. Т. 89. № 1. С. 14-20.
 8. Agresti A., Ponti W., Rocchi M., Meneveri R., Marozzi A., Cavalleri D., Peri E., Poli G., Ginelli E. Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth. *Amer. J. Vet. Res.* 1993; 54: 373-378.
 9. Brym P., Ruśc A., Kamiński S. Evaluation of reference genes for qRT-PCR gene expression studies in whole blood samples from healthy and leukemia-virus infected cattle. *Vet. Immunol. Immunop.* 2013; 153: 302-307. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.03.004>.
 10. Buehring G. C., Choi K. Y., Jensen H. M. Bovine leukemia virus in human breast tissues. *Breast Cancer Res.* 2001; 3: A14. <https://doi.org/10.1186/bcr338>.
 11. Buehring G. C., Kramme P. M., Schultz R. D. Evidence for bovine leukemia virus in mammary epithelial cells of infected cows. *Lab. Invest.* 1994; 71: 359-365.
 12. Chakraborty J., Clark S., Okonta H., Duggan J. A small animal model for mother-to-fetus transmission of ts1, a murine retrovirus. *Viral Immunol.* 2003; 16 (2): 191-201. <https://doi.org/10.1089/088282403322017929>.
 13. Dimmock C. K., Chung Y. S., MacKenzie A. R. Factors affecting the natural transmission of bovine leukaemia virus infection in Queensland dairy herds. *Austr. Vet. J.* 1991; 68: 230-233. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1991.tb03213.x>
 14. Essajee S. M., Pollack H., Rochford G., Oransky I., Krasinski K., Borkowsky W. Early changes in quasispecies repertoire in HIV-infected infants: correlation with disease progression. *AIDS Res. Human Retroviruses.* 2000; 16 (18): 1949-1957. <https://doi.org/10.1089/088922200750054675>.
 15. Ferrer J. F., Piper C. E. Role colostrum and milk in the natural transmission of the bovine leukemia virus. *Cancer Res.* 1981; 41: 4906-4909.
 16. Goulder P. J., Brander C., Tang Y. et al. Evolution and transmission of stable CTL escape mutations in HIV infection. *Nature.* 2001; 412: 334-338. <https://doi.org/10.1038/35085576>.
 17. Gutiérrez G., Alvarez I., Merlini R., Rondelli F., Trono K. Dynamics of perinatal bovine leukemia virus infection. *BMC Vet. Res.* 2014; 10: 82. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-82>.
 18. Gutiérrez G., Lomonaco M., Alvarez I., Fernandez F., Trono K. Characterization of colostrum from dams of BLV endemic dairy herds. *Vet Microbiol.* 2015; 177 (3-4): 366-369. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.03.001>.
 19. Hron T., Elleder D., Gifford R. J. Deltaretroviruses have circulated since at least the Paleogene and infected a broad range of mammalian species. *Retrovirology.* 2019; 16: 33. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0495-9>.
 20. Hutchinson H. C. Transmission and Progression of Bovine Leukemia Virus. Michigan State University, 2020.
 21. Juliarena A. M., Barrios C. N., Ceriani M., Esteban E. Hot topic: Bovine leukemia virus (BLV)-infected cows with low proviral load are not a source of infection for BLV-free cattle. *J. Dairy Sci.* 2016; 99 (6): 4586-4589. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10480>.
 22. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. of Molecular Evolution.* 1980; 16: 111-120.
 23. Kinoshita K., Hino S., Amagaski T. et al. Demonstration of adult T-cell leukemia virus antigen in milk from three sero-positive mothers. *Gann.* 1984; 75 (2): 103-105.
 24. Lassauzet M. L., Johnson W. O., Thurmond M. C., Stevens F. Protection of colostrum antibodies against bovine leukemia virus infection in calves on a California dairy. *Can. J. Vet. Res.* 1989; 53: 424-430.
 25. Lassauzet M. L., Thurmond M. C., Johnson W. O., Holmberg C. A. Factors associated with in utero or periparturient transmission of bovine leukemia virus

- in calves on a California dairy. *Can. J. Vet. Res.* 1991; 55 (3): 264-268.
26. Lo C.-W., Borjigin L., Saito S., Fukunaga K., Saitou E., Okazaki K., Mizutani T., Wada S., Takeshima S.-N., Aida Y. BoLADRB3 Polymorphism is Associated with Differential Susceptibility to Bovine Leukemia Virus-Induced Lymphoma and Proviral Load. *Viruses.* 2020; 12 (3): 352. <https://doi.org/10.3390/v12030352>.
 27. Martin-Latil S., Gnadig N. F., Mallet A. et al. Transcytosis of HTLV-1 across a tight human epithelial barrier and infection of subepithelial dendritic cells. *Blood.* 2012; 120 (3): 572-580. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-374637>.
 28. Mekata H., Sekiguchi S., Konnai S., Kirino Y., Honkawa K., Nonaka N., Horii Y., Norimine J. Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. *Vet. Rec.* 2014; 176 (10): 254. <https://doi.org/10.1136/vr.102464>.
 29. Mekata H., Yamamoto M., Kirino Y., Sekiguchi S., Konnai S., Horii Y., Norimine J. New hematological key for bovine leukemia virus-infected Japanese Black cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 2018; 80 (2): 316-319. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0455>.
 30. Ohno A., Takeshima Sh.-N., Matsumoto Y., Aida Y. Risk factors associated with increased bovine leukemia virus proviral load in infected cattle in Japan from 2012 to 2014. *Virus Res.* 2015; 210: 283-90. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.08.020>.
 31. Ruggiero V., Norby B., Benitez O. et al. Controlling bovine leukemia virus in dairy herds by identifying and removing cows with the highest proviral load and lymphocyte counts. *J. Dairy Sci.* 2019; 102: 9165-9175. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16186>.
 32. Ruiz V., Porta N. G., Lomónaco M., Trono K., Alvarez I. Bovine Leukemia Virus Infection in Neonatal Calves. Risk Factors and Control Measures. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5: 267. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00267>.
 33. Rzhetsky A., Nei M. Theoretical foundation of the minimum-evolution method of phylogenetic inference. *Mol. Biol. Evol.* 1993; 10 (5): 1073-1095.
 34. Sajiki Y., Konnai S., Nishimori A. et al. Intrauterine infection with bovine leukemia virus in pregnant dam with high viral load. *J. Vet. Med. Sci.* 2017; 79: 2036-2039. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0391>.
 35. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction of phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 1987; 4 (4): 406-425.
 36. Somura Y., Sugiyama E., Fujikawa H., Murakami K. Comparison of the copy numbers of bovine leukemia virus in the lymph nodes of cattle with enzootic bovine leukosis and cattle with latent infection. *Arch. Virol.* 2014; 159: 2693-2697.
 37. Sultanov A., Rola-Luszczak M., Mamanova S. et al. Molecular Characterization of Bovine Leukemia Virus with the Evidence of a New Genotype Circulating in Cattle from Kazakhstan. *Pathogens.* 2022; 11: 180. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020180>.
 38. Tajima F., Nei M. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Mol. Biol. and Evol.* 1984; 1 (3): 269-285.
 39. Van der Maaten M. J., Miller J. M., Schmerr M. J. F. Effect of colostral antibody on of bovine leukemia virus infection of neonatal calves. *Amer. J. Vet. Res.* 1981; 42 (6): 1498-1500.

Статья поступила в редакцию 29.04.2022; принята к публикации 15.06.2022

Об авторах:

Козырева Наталия Геннадиевна, ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0003-4318-8173, nk07-73@mail.ru

Абашин Илья Юрьевич, ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1), Москва, Россия, аспирант, ORCID ID: 0000-0002-3623-1623

Иванова Людмила Александровна, ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1), Москва, Россия, кандидат биологических наук

Вклад соавторов:

Козырева Наталия Геннадиевна – получение данных для анализа, анализ полученных данных, обзор исследований по проблеме, написание текста рукописи.

Абашин Илья Юрьевич – работа с литературными источниками по теме статьи.

Иванова Людмила Александровна – разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Valikhov A. F., Burba L. G., Shishkov V. P. Immunology research and virology testing of milk, blood and semen of cattle infected with oncornavirus. *Trudy Vsesoyuznogo instituta eksperimental'noy veterinarii = Proceedings of the All-Union Institute of Experimental Veterinary Medicine*. 1983; 59: 71-72. (In Russ.)
2. Gulyukin M. I., Kozyreva N. G., Ivanova L. A., Stepanova T. V., Klimenko A. I., Kovalenko A. V., Drobin Yu. D., Vasilenko V. N. Cross-species bovine leukemia virus transmission in experiment. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2015; 5 (60): 32-37. (In Russ.)
3. Kozyreva N. G. Application of a multiplex RT-PCR technique in molecular diagnostics of the BLV during perinatal infection. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2018; 4: 28-32. (In Russ.)
4. Kozyreva N. G., Abashin I. Yu., Ivanova L. A. Effectiveness of the gene diagnostics test in evaluating perinatal infection in young animals in the prevention of bovine leukemia to improve the quality of dairy products. *Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2020; 4 (36): 450-455. (In Russ.) <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202004007>.
5. Kozyreva N. G., Ivanova L. A., Stepanova T. V., Gulyukin M. I. A polymerase chain reaction method for diagnosing bovine leukemia. RF Patent No. 2694617, 2018.
6. Kolobov A. V. Place of retroviruses in perinatal pathology (literature review). *Journal of Infectiology*. 2012; 4 (4): 13-19. (In Russ.)
7. Sadovnikova V. N. Incidence rate of the HIV infection in children and measures to prevent perinatal HIV transmission. *Pediatriya = Pediatrics*. 2010; 89 (1):14-20.
8. Buehring G.C., Choi K.Y., Jensen H.M. Bovine leukemia virus in human breast tissues. *Breast Cancer Res*. 2001; 3: A14. <https://doi.org/10.1186/bcr338>.
9. Buehring G.C., Kramme P.M., Schultz R.D. Evidence for bovine leukemia virus in mammary epithelial cells of infected cows. *Lab. Invest*. 1994; 71: 359-365.
10. Chakraborty J., Clark S., Okonta H., Duggan J. A small animal model for mother-to-fetus transmission of ts1, a murine retrovirus. *Viral Immunol*. 2003; 16(2): 191-201. <https://doi.org/10.1089/088282403322017929>.
11. Essajee S.M., Pollack H., Rochford G. Oransky I., Krasinski K., Borkowsky W. Early changes in quasispecies repertoire in HIV-infected infants: correlation with disease progression. *AIDS Res. Human Retroviruses*. 2000; 16(18): 1949-1957. <https://doi.org/10.1089/088922200750054675>.
12. Goulder P.J., Brander C., Tang Y., Tremblay C., Colbert R.A., Addo M.M., Rosenberg E.S., Nguyen T., Allen R., Trocha A., Altfeld M., He S., Bunce M., Funkhouser R., Pelton S. I., Burchett S. K., McIntosh K., Korber B. T., Walker B. D. Evolution and transmission of stable CTL escape mutations in HIV infection. *Nature*. 2001; 412: 334-338. <https://doi.org/10.1038/35085576>.
13. Hron T., Elleder D., Gifford R.J. Deltaretroviruses have circulated since at least the Paleogene and infected a broad range of mammalian species. *Retrovirology*. 2019; 16: 33. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0495-9>.
14. Kinoshita K., Hino S., Amagaski T., Ikeda S., Yamada Y., Suzuyama J., Momita S., Toriya K., Kamihira S., Ichimaru M. Demonstration of adult T-cell leukemia virus antigen in milk from three sero-positive mothers. *Gann* 1984; 75(2): 103-105.
15. Li H. C., Biggar R. J., Miley W. J., Maloney E. M., Cranston B., Hanchard B., Hisada M. Provirus load in breast milk and risk of mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type I. *The Journal of Infectious Diseases*. 2004; 190: 1275-1278. <https://doi.org/10.1086/423941>.
16. Martin-Latil S., Gnadig N. F., Mallet A., Desdouits M., Guivel-Benhassine F., Jeannin P. Prevost M.-Ch., Schwartz O., Gessain A., Ozden S., Ceccaldi P.-E. Transcytosis of HTLV-1 across a tight human epithelial barrier and infection of subepithelial dendritic cells. *Blood*. 2012; 120(3): 572-580. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-374637>.
17. Milligan C., Overbaugh J. The role of cell-associated virus in mother-to-child HIV transmission. *The Journal of Infectious Diseases*. 2014; 210(3): 631-640. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu344>.
18. Miotti P. G., Taha T. E., Kumwenda N. I., Broadhead R., Mtimavalye L. A., Hoeven L. V., Chipangwi J. D., Liomba G., Biggar R. J. HIV transmission through breastfeeding: a study in Malawi. *JAMA*. 1999; 282: 744-749. <https://doi.org/10.1001/jama.282.8.744>.
19. Ohno A., Takeshima Sh.-n., Matsumoto Y., Aida Y. Risk factors associated with increased bovine leukemia virus proviral load in infected cattle in Japan from 2012 to 2014. *Virus Res*. 2015; 210:283-90. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.08.020>.
20. Ruiz V., Porta N.G., Lomónaco M., Trono K., Alvarez I. Bovine Leukemia Virus Infection in Neonatal Calves. Risk Factors and Control Measures. *Front. Vet. Sci*. 2018; 5: 267. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00267>.
21. Juliarena A. M., Barrios C. N., Ceriani M., Esteban E. Hot topic: Bovine leukemia virus (BLV)-infected cows with low proviral load are not a source of infection for BLV-free cattle. *J. Dairy Sci*. 2016; 99 (6): 4586-4589. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10480>.
22. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. of Molecular Evolution*. 1980; 16: 111-120.

23. Kinoshita K., Hino S., Amagaski T. et al. Demonstration of adult T-cell leukemia virus antigen in milk from three sero-positive mothers. *Gann.* 1984; 75 (2): 103-105.
24. Lassauzet M. L., Johnson W. O., Thurmond M. C., Stevens F. Protection of colostrum antibodies against bovine leukemia virus infection in calves on a California dairy. *Can. J. Vet. Res.* 1989; 53: 424-430.
25. Lassauzet M. L., Thurmond M. C., Johnson W. O., Holmberg C. A. Factors associated with in utero or periparturient transmission of bovine leukemia virus in calves on a California dairy. *Can. J. Vet. Res.* 1991; 55 (3): 264-268.
26. Lo C.-W., Borjigin L., Saito S., Fukunaga K., Saitou E., Okazaki K., Mizutani T., Wada S., Takeshima S.-N., Aida Y. BoLADRB3 Polymorphism is Associated with Differential Susceptibility to Bovine Leukemia Virus-Induced Lymphoma and Proviral Load. *Viruses.* 2020; 12 (3): 352. <https://doi.org/10.3390/v12030352>.
27. Martin-Latil S., Gnadig N. F., Mallet A. et al. Transcytosis of HTLV-1 across a tight human epithelial barrier and infection of subepithelial dendritic cells. *Blood.* 2012; 120 (3): 572-580. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-374637>.
28. Mekata H., Sekiguchi S., Konnai S., Kirino Y., Honkawa K., Nonaka N., Horii Y., Norimine J. Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. *Vet. Rec.* 2014; 176 (10): 254. <https://doi.org/10.1136/vr.102464>.
29. Mekata H., Yamamoto M., Kirino Y., Sekiguchi S., Konnai S., Horii Y., Norimine J. New hematological key for bovine leukemia virus-infected Japanese Black cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 2018; 80 (2): 316-319. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0455>.
30. Ohno A., Takeshima Sh.-N., Matsumoto Y., Aida Y. Risk factors associated with increased bovine leukemia virus proviral load in infected cattle in Japan from 2012 to 2014. *Virus Res.* 2015; 210: 283-90. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.08.020>.
31. Ruggiero V., Norby B., Benitez O, et al. Controlling bovine leukemia virus in dairy herds by identifying and removing cows with the highest proviral load and lymphocyte counts. *J. Dairy Sci.* 2019; 102: 9165-9175. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16186>.
32. Ruiz V., Porta N. G., Lomónaco M., Trono K., Alvarez I. Bovine Leukemia Virus Infection in Neonatal Calves. Risk Factors and Control Measures. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5: 267. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00267>.
33. Rzhetsky A., Nei M. Theoretical foundation of the minimum-evolution method of phylogenetic inference. *Mol. Biol. Evol.* 1993; 10 (5): 1073-1095.
34. Sajiki Y., Konnai S., Nishimori A. et al. Intrauterine infection with bovine leukemia virus in pregnant dam with high viral load. *J. Vet. Med. Sci.* 2017; 79: 2036-2039. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0391>.
35. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction of phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 1987; 4 (4): 406-425.
36. Somura Y., Sugiyama E., Fujikawa H., Murakami K. Comparison of the copy numbers of bovine leukemia virus in the lymph nodes of cattle with enzootic bovine leukosis and cattle with latent infection. *Arch. Virol.* 2014; 159: 2693-2697.
37. Sultanov A., Rola-Łuszczak M., Mamanova S. et al. Molecular Characterization of Bovine Leukemia Virus with the Evidence of a New Genotype Circulating in Cattle from Kazakhstan. *Pathogens.* 2022; 11: 180. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020180>.
38. Tajima F., Nei M. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Mol. Biol. and Evol.* 1984; 1 (3): 269-285.
39. Van der Maaten M. J., Miller J. M., Scherr M. J. F. Effect of colostrum antibody on of bovine leukemia virus infection of neonatal calves. *Amer. J. Vet. Res.* 1981; 42 (6): 1498-1500.

The article was submitted 29.04.2022; accepted for publication 15.06.2022

About the authors:

Kozyreva Natalia G., FSC VIEV (24 Ryazansky prospect, Bldg. 1, Moscow, 109428), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0003-4318-8173, nk07-73@mail.ru

Abashin Iliya Yu., FSC VIEV (24 Ryazansky prospect, Bldg. 1, Moscow, 109428), Moscow, Russia, Postgraduate Student, ORCID ID: 0000-0002-3623-1623

Ivanova Lyudmila A., FSC VIEV (24 Ryazansky prospect, Bldg. 1, Moscow, 109428), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol.

Contribution of co-authors:

Kozyreva Natalia G. – obtaining data for analysis, analyzing the data obtained, reviewing research on the problem, writing the text of the manuscript.

Abashin Iliya Yu. – work with literary sources on the topic of the article.

Ivanova Lyudmila A. – research design development, data acquisition for analysis, data analysis.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:615.065

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-296-302>

Влияние сифациоза на биохимические и клинические показатели крови лабораторных крыс

Надежда Борисовна Емельянова¹, Ольга Петровна Курносова²

^{1,2}Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹emelyanova13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1920-0363>

²kurnosova@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3248-8931>

Аннотация

Цель исследований – изучение влияния сифациоза на биохимические и клинические показатели крови аутбредных крыс.

Материалы и методы. Аутбредные крысы-самцы массой тела 180–200 г обследованы на наличие яиц гельминтов методами копроовоскопии и скотч-теста с использованием микроскопа «Микромед 1 вар.2-20». Биохимический анализ крови проведен на анализаторе Beckman Coulter DxC 700AU (США), гематологический анализ – на анализаторе PCE 90-Vet (США). Для профилактической дегельминтизации использовали фенбендазол. Статистическую обработку проводили с помощью компьютерной программы Studet200.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований по биохимии и гематологии крови аутбредных крыс, показали достоверное снижение уровня ЛДГ и повышение содержания гематокрита у животных, зараженных *Syphacia spp.*

Ключевые слова: лабораторные крысы, сифациоз, кровь, биохимия, гематология

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Емельянова Н. Б., Курносова О. П. Влияние сифациоза на биохимические и клинические показатели крови лабораторных крыс // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 296–302.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-296-302>

© Емельянова Н. Б., Курносова О. П., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Effect of syphaciosis on biochemical and clinical blood parameters of laboratory rats

Nadezhda B. Emelyanova¹, Olga P. Kurnosova²

^{1,2}All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia

¹emelyanova13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1920-0363>

²kurnosova@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3248-8931>

Abstract

The purpose of the research is to study the effect of syphaciosis on biochemical and clinical blood parameters of outbred rats.

Materials and methods. Outbred male rats weighing 180–200 g were examined for helminth eggs by coproovoscopy and a Scotch tape test using a microscope Micromed 1 ver. 2-20. A biochemical blood assay was conducted on a Beckman Coulter DxC 700AU analyzer (USA), and a haematology test panel was made on a PCE 90-Vet analyzer (USA). Fenbendazole was used for preventive dehelminthization. Statistical processing was performed using the software Studet200.

Results and discussion. The study results on biochemistry and hematology of the outbred rats' blood showed a significant decrease in LDH levels and an increase in hematocrit in the animals infected with *Syphacia* spp.

Keywords: laboratory rats, syphaciosis, blood, biochemistry, hematology

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Emelyanova N. B., Kurnosova O. P. Effect of syphaciosis on biochemical and clinical blood parameters of laboratory rats. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 296–302. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-296-302>

© Emelyanova N. B., Kurnosova O. P., 2022

Введение

Лабораторные грызуны являются универсальной биомоделью для проведения различных медико-биологических исследований [5].

Лабораторные животные, поступающие из специализированных питомников в экспериментально-биологические клиники, зачастую заражены гельминтами из различных классов, включая нематоды. Данная проблема актуальна для питомников и вивариев открытого типа содержания. Зараженность животных обусловлена не только особенностями данного типа содержания и разведения животных в самом питомнике, но и со сложностью подбора препаратов для проведения профилактических обработок маточного поголовья и помещений, где содержатся животные [1–3, 7, 15].

Сифациоз – гельминтоз, возбудителем которого является нематода *Syphacia* spp. В основном, у лабораторных крыс встречаются два вида сифаций *S. obvelata* (Rudolphi, 1802) и *S. muris* (Yamaguti, 1935) [8, 10, 18]. Однако, мы не ставили перед собой цели по определению вида, поскольку вред, причиняемый организму хозяина, одинаков независимо от вида сифаций.

Самки сифаций откладывают яйца на перианальную область и через несколько часов они становятся инвазионными. Попадая в тонкий кишечник, из яиц выходят личинки. Самцы достигают половой зрелости к 120 ч. После оплодотворения самок они погибают. Самки к девятому дню содержат зрелые яйца, задерживаясь в прямой кишке, откладывают яйца на перианальную область хозяина, при-

чем выделять яйца могут и повторно. В матке одной самки насчитывается до 140 яиц [12].

Продукты жизнедеятельности гельминтов, выделяемые в организм хозяина, проявляют токсические свойства, приводят к различным изменениям процессов метаболизма хозяина, нарушению белкового, углеводного и липидного обменов, снижается иммунитет [16, 17].

Целью данной работы стало изучение влияния самого распространенного гельминтоза лабораторных крыс – сифациоза на биохимические и гематологические показатели.

Материалы и методы

Исследования проведены в виварии Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Лабораторные животные поступили в виварий института из специализированного питомника в секцию карантинирования и адаптации, где находились в течение 14 сут.

Животных, находящихся на карантине, обследовали на наличие яиц гельминтов методами копроовоскопии и скотч-теста (рис. 1).



Рис. 1. Яйца *Syphacia* spp. с перианальной области опытной крысы (метод скотч-теста, ув. 10 × 10)

[Fig. 1. Eggs of *Syphacia* spp. from the perianal area of the experimental rat (Scotch test method, 10 × 10)]

В эксперимент было отобрано 5 белых беспородных крыс с подтвержденным диагнозом

– сифациоз, и 5 крыс для контрольной группы, у которых не обнаружили яйца гельминтов. Однако, с профилактической целью крыс контрольной группы обработали дважды фенбендазолом в дозе 20 мг/кг перорально с интервалом 7 сут.

Взятие крови проводили через 21 сут после последней обработки во избежание влияния препарата и его метаболитов на показатели крови.

За сутки до взятия крови все животные были повторно исследованы методом копроовоскопии для исключения других видов гельминтов и методом скотч-теста на наличие яиц *Syphacia* spp., который является наиболее информативным, поскольку самки сифаций откладывают яйца на перианальную область. Кусок прозрачного скотча плотно прикладывали к анальному отверстию и аккуратно приклеивали на предметное стекло (в данном тесте скотч выполняет роль покровного стекла). Полученные образцы просматривали под микроскопом «Микромед 1 вар.2-20» при увеличении 10 × 10. Обнаруженные яйца нематод идентифицировали с помощью гельминтологического атласа [11]. По этому же методу исследовали и крыс контрольной группы, ранее обработанных фенбендазолом для исключения случайного заражения через уходовый инвентарь, используемый обслуживающим персоналом.

Животные во время эксперимента находились на стандартном рационе кормления. Крысы контрольной группы содержались в отдельной клетке, за которой был усиленный уход: подстил меняли ежедневно; клетку и поилку ежедневно дезинфицировали аламинолом 1%-ным и горячим водяным паром, чтобы избежать спонтанного заражения.

Для подготовки животных к взятию крови их содержали на голодной диете в течение 10 ч, оставляя свободный доступ к воде. Утром отбор крови проводили у всех животных опытной и контрольной групп в пробирки с и без антикоагулянта.

Полученные образцы крови исследовали на биохимическом Beckman Coulter DxС 700AU (США) и гематологическом PCE 90-Vet (США) анализаторах, лейкоцитарную формулу оценивали по стандартной методике, с окрашиванием мазков по Романовскому-Гимзе и подсчетом вручную.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерной программы Student200.

Результаты и обсуждение

Ранее полученные данные по биохимии крови белых беспородных мышей, экспериментально зараженных *S. obvelata* (Rudolphi, 1802), свидетельствуют о повышенной активности ферментов АСТ, АЛТ и ЩФ.

На этом основании авторы дают заключение о влиянии сифациоза на функциональность печени и о токсическом эффекте продуктов жизнедеятельности гельминтов [4]. Однако, результаты, полученные нами на крысах, расходятся с данными, полученными на мышах.

Результаты биохимического и клинического анализа крови аутбредных крыс приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 [Table 1]

Биохимическое исследование крови крыс (n = 5)
[Biochemical study of the blood of rats (n = 5)]

Показатель [Indicator]	Значение показателя для крыс [The value of the indicator for rats]	
	контрольной группы (не зараженные) [control group (not infected)]	опытной группы (зараженные сифациями) [experimental group (infected with syphaciosis)]
Глюкоза, ммоль/л [Glucose, mmol/l]	4,88±0,32	4,26±0,77
Белок общий, г/л [Total protein, g/l]	67,94±5,20	70,96±3,82
Альбумин, г/л [Albumin, g/l]	30,40±2,44	32,38±2,06
Билирубин общий, мкмоль/л [Bilirubin total, μmol/l]	3,21±0,34	3,40±0,36
АЛТ, Ед/л [ALT, U/l]	57,76±12,06	56,62±20,43
АСТ, Ед/л [AST, U/l]	187,88±56,72	132,70±40,86
ЩФ, Ед/л [Alkaline phosphatase, U/l]	162,16±29,30	167,74±51,68
ЛДГ, Ед/л [LDG, U/l]	879,20±284,96	456,56±320,28*
Амилаза, Ед/л [Amylase, U/l]	2153,10±351,64	2477,50±472,77
Остаточный азот, ммоль/л [Residual nitrogen, mmol/l]	6,93±0,53	6,74±0,37
Креатинин, мкмоль/л [Creatinine, μmol/l]	48,14±6,90	50,62±5,05

Примечание [Note]. * $P \leq 0,05$

Таблица 2 [Table 2]

Клинический анализ крови аутбредных крыс (n = 5)
[Clinical analysis of blood of outbred rats (n = 5)]

Показатель [Indicator]	Значение показателя для крыс [The value of the indicator for rats]	
	контрольной группы (не зараженные) [control group (not infected)]	опытной группы (зараженные сифациями) [experimental group (infected with syphaciosis)]
1	2	3
Эритроциты, $10^{12}/л$ [Red blood cells, $10^{12}/l$]	7,36±0,57	8,05±0,64
Лейкоциты, $10^9/л$ [White blood cells, $10^9/l$]	12,92±5,16	14,96±3,58
Гемоглобин, г/л [Hemoglobin, g/l]	137,40±11,53	150,00±8,99
Тромбоциты, тыс./мкл [Platelets, th./μl]	560,40±73,16	583,80±81,06
Гематокрит, % [Hematocrit, %]	48,18±6,93	55,64±3,37*
Средний объем эритроцита, мкм ³ (фл) [Average erythrocyte volume, μm ³ (fl)]	65,40±5,43	69,24±2,40
Средняя концентрация Hb в эритроците, % [Average Hb concentration in erythrocyte, %]	28,70±4,00	26,92±0,80
Ширина распределения эритроцитов, % [Distribution width of erythrocytes, %]	11,44±0,73	11,06±0,47

Окончание таблицы 2 [End Table 2]

1	2	3
Среднее содержание Hb в эритроците, Пг [Average content of Hb in erythrocyte, Pg]	18,64±1,13	18,60±0,62
Остаточный азот, ммоль/л [Residual nitrogen, mmol/l]	6,93±0,53	6,74±0,37
Креатинин, мкмоль/л [Creatinine, μmol/l]	48,14±6,90	50,62±5,05
<i>Лейкограмма, %</i>		
Моноциты [Monocytes]	0,80±1,04	2,20±2,39
Лимфоциты [Lymphocytes]	76,00±7,80	70,80±6,93
Эозинофилы [Eosinophils]	1,60±1,67	2,20±1,36
Палочкоядерные нейтрофилы [Rod-shaped neutrophils]	0,40±0,68	0,80±1,04
Сегментоядерные нейтрофилы [Segmented neutrophils]	21,20±5,65	24,00±6,97

Примечание [Note]. * $P \leq 0,05$

Достоверное изменение претерпел единственный биохимический показатель ЛДГ (лактатдегидрогеназа). Содержание этого фермента в опытной группе составило $456,56 \pm 320,28$ Ед/л против контрольных значений $879,20 \pm 284,96$ Ед/л, т. е. у животных, зараженных сифациями, уровень ЛДГ снижен в два раза по сравнению с интактным контролем. Анализируя данные таблицы 1, необходимо отметить, что такие ферменты как АЛТ, АСТ и ЩФ, находились на уровне значений крыс контрольной группы.

В клиническом анализе крови крыс, спонтанно зараженных сифациями, достоверно завышен показатель гематокрита в сравнении с интактным контролем. Кроме того, установлена тенденция к увеличению уровня содержания эритроцитов и гемоглобина. Как правило, параллельно с повышением гематокрита значения этих показателей также будут повышаться.

Заключение

Снижение уровня ЛДГ наблюдается крайне редко и это связывают с присутствием в организме оксалатов. Также, нематоды выделяют в организм хозяина ингибирующие ферменты, которые, в свою очередь, подавляют ферментативные реакции организма хозяина. Снижение каталитической активности биохимических реакций может привести к различным патологическим изменениям и снизить жизнеспособность организма [17].

Увеличение значения уровня гематокрита тесно связано с водно-солевым балансом в организме хозяина, который нарушают нематоды продуктами своей жизнедеятельности.

Таким образом, можно сделать вывод о негативном влиянии сифаций на гематологические и биохимические показатели крови аутбредных крыс. Несмотря на отсутствие угрозы для жизни крыс, спонтанно зараженных сифациями, необходимо учитывать данное обстоятельство в планировании и проведении медико-биологических экспериментов. При поступлении конвенциональных лабораторных животных из питомников в секцию карантинирования необходимо проводить обязательное обследование на наличие яиц гельминтов перед введением их в эксперимент, поскольку паразитирование гельминтов будет искажать результаты исследований.

Периодический ветеринарно-санитарный контроль и мониторинг вновь поступивших лабораторных грызунов в экспериментально-биологические клиники позволит получать наиболее точные и значимые результаты научных экспериментов и контролировать распространение паразитарных болезней [6, 9].

Список источников

1. Абдраштова Э. Х., Зайцев Т. И., Брауде Н. А., Комаровская Т. П., Новикова Р. Ф., Полещук В. Д., Кухдин Е., Кнопке К. и др. Категории качества лабораторных грызунов по состоянию здоровья и их стандартизация // «Лабораторное животноводство для медико-биологических и биотехнологических исследований»: тезисы конференции. М., 1990. С. 58-65.
2. Аксенов В. И. Общие задачи контроля качества здоровья лабораторных животных // «Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований»: тезисы Всесоюзной конференции. М., 1988. Ч. 1. С. 3-5.
3. Болотских Л. А., Бескова Т. Б., Галахова Т. В., Зайцев Т. И. Гнобиотический метод получения и содер-

- жания племенных ядер лабораторных животных СПФ категорий // «Лабораторное животноводство для медико-биологических и биотехнологических исследований»: тезисы конференции. М., 1990. С. 46.
4. Гришина Е. А., Еровиченков А. А. Биохимическое обоснование применения комплексной терапии в острой фазе экспериментальных гельминтозов животных // Журнал инфектологии. Санкт-Петербург, 2017. Т. 9, № 3. С. 32-39.
 5. Душкин В. А. Лабораторное животноводство. М.: Россельхозиздат, 1980. 48 с.
 6. Зайцев Т. И. Контроль качества лабораторных животных // «Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований»: тезисы Всесоюзной конференции. М., 1988. Ч. 1. С. 19-21.
 7. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные: Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища школа, 1974. 304 с.
 8. Климова Е. С., Бабинцева Т. В. Паразитофауна лабораторных грызунов // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. Казнь, 2019. Т. 240, № 4. С. 105-108.
 9. Лаукайтес В. Л., Йонаускаене И. Д., Ефимов В. И., Лугаускаене А. Ю. Ветеринарно-санитарный мониторинг качества лабораторных животных в питомнике Института биохимии АН Литовской ССР // «Актуальные вопросы диагностики инфекционных болезней лабораторных животных, разработка и производство современных диагностических тест-систем»: тезисы Всесоюзного симпозиума. М., 1989. С. 69.
 10. Масленникова О. В., Ерофеева В. В., Пухляк В. П. Сифациоз грызунов и его эколого-эпидемиологическое значение // Фундаментальные исследования. 2014. № 9-7. С. 1542-1544.
 11. Черепанов А. А., Москвин А. С., Котельников Г. А., Хренов В. М. Атлас Дифференциальная диагностика гельминтозов по морфологической структуре яиц и личинок возбудителя. Атлас. М., 2001.
 12. Шемякова С. А., Неклюдова Н. М. Паразитофауна лабораторных мышей в условиях вивария онкологического центра РАМН и совершенствование мер борьбы с сифациозом // «Вопросы ветеринарии и ветеринарной биологии»: сборник научных трудов молодых ученых. Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. 2006. С. 128-133.
 13. Bazzano T., Restel T.I., Pinto R.M., Gomes D.C. Patterns of Infection with the Nematodes Syphacia obvelata and Aspicularis tetraptera in Conventionally Maintained Laboratory Mice. Mem. Inst. Oswaldo Cruz-Rio de Janeiro. 2002; 97 (6): 847-853.
 14. Chan K.F. Chemotherapeutic studies on Syphacia obvelata infection in mice. Amer. J. Hyg. 1952; 56 (1): 22-30.
 15. Harder A. The biochemistry of Haemonchus contortus and other parasitic nematodes. Advances in parasitology. 2016; 93: 69-94.
 16. Pinto R.M., Goncalves L., Noronha D., Gomes D.C. Worm Burdens in Outbred and Inbred Laboratory Rats with Morphometric Data on Syphacia muris (Yamaguti, 1935) Yamaguti, 1941 (Nematoda, Oxyuroidea). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 2001; 96 (1): 133-136.

Статья поступила в редакцию 13.07.2022; принята к публикации 15.08.2022

Об авторах:

Емельянова Надежда Борисовна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0003-1920-0363, emelyanova13@mail.ru

Курносова Ольга Петровна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0002-3248-8931, kurnosova@vniigis.ru

Вклад соавторов:

Емельянова Надежда Борисовна – проведение эксперимента, забор крови, статистическая обработка данных, анализ литературы и полученных результатов, написание статьи.

Курносова Ольга Петровна – закладка проб крови в биохимический и гематологический анализаторы.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Abdrashitova E. Kh., Zaitsev T. I., Braude N. A., Komarovskaya T. P., Novikova R. F., Poleschchuk V. D., Kuchding E., Knopke K. et al. Quality categories of laboratory rodents for health and their standardization. «Laboratornoye zhivotnovodstvo dlya mediko-biologicheskikh i biotekhnologicheskikh issledovaniy»: tezisы konferentsii = "Laboratory animal husbandry for biomedical and biotechnological research": the Conference abstracts. M., 1990; 58-65. (In Russ.)
2. Aksenov V. I. General objectives for quality control of laboratory animals' health. «Aktual'nyye voprosy standartizatsii laboratornykh zhivotnykh dlya mediko-biologicheskikh issledovaniy»: tezisы Vsesoyuznoy konferentsii = "Current standardization issues of laboratory animals for biomedical research": the All-Union Conference abstracts. M., 1988; 1: 3-5. (In Russ.)
3. Bolotskikh L. A., Beskova T. B., Galakhova T. V., Zaitsev T. I. Gnotobiotic method to obtain and keep nuclear stock of Specific Pathogen-Free laboratory animals. «Laboratornoye zhivotnovodstvo dlya mediko-

- biologicheskikh i biotekhnologicheskikh issledovaniy»:* tezis konferentsii = "Laboratory animal husbandry for biomedical and biotechnological research": the Conference abstracts. M., 1990; 46. (In Russ.)
4. Grishina E. A., Eroichenkov A. A. Biochemical rationale for the use of complex therapy in the acute experimental helminthiasis phase in animals. *Journal of Infectiology*. St. Petersburg, 2017; 9 (3): 32-39. (In Russ.)
 5. Dushkin V. A. Laboratory animal husbandry. Moscow: Rosselkhozizdat, 1980; 48. (In Russ.)
 6. Zaitsev T. I. Quality control of laboratory animals. «Aktual'nyye voprosy standartizatsii laboratornykh zhivotnykh dlya mediko-biologicheskikh issledovaniy»: tezis Vsesoyuznoy konferentsii = "Current standardization issues of laboratory animals for biomedical research": the All-Union Conference abstracts. Moscow, 1988; 1: 19-21. (In Russ.)
 7. Zapadnyuk I. P., Zapadnyuk V. I., Zakharia E. A. Laboratory animals: breeding, maintenance, and use in the experiment. Kiev: Vishcha shkola, 1974; 304. (In Russ.)
 8. Klimova E. S., Babintseva T. V. Parasite fauna of laboratory rodents. *Uchenyye zapiski kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N. E. Baumana = Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman*. Kazan, 2019; 240 (4): 105-108. (In Russ.)
 9. Laukaitis V. L., Jonauskienė I. D., Efimov V. I., Lugauskienė A. Yu. Veterinary and sanitary monitoring of the quality of laboratory animals in the nursery of the Institute of Biochemistry of the Lithuanian SSR Academy of Sciences. «Aktual'nyye voprosy diagnostiki infektsionnykh bolezney laboratornykh zhivotnykh, razrabotka i proizvodstvo sovremennykh diagnosticheskikh test-sistem»: tezis Vsesoyuznogo simpoziuma = "Current issues in the diagnosis of infectious diseases of laboratory animals, and the development and manufacturing of modern diagnostic test systems": the All-Union Symposium abstracts. Moscow, 1989; 69. (In Russ.)
 10. Maslennikova O. V., Erofeeva V. V., Pukhlyanko V. P. Syphaciosis of rodents and its ecological and epidemiological significance. *Fundamental Research*. 2014; 9-7: 1542-1544. (In Russ.)
 11. Cherepanov A. A., Moskvina A. S., Kotelnikov G. A., Khrenov V. M. Differential diagnosis of helminth infections by the morphological structure of pathogen eggs and larvae. Atlas. Moscow, 2001. (In Russ.)
 12. Shemyakova S. A., Neklyudova N. M. Parasite fauna of laboratory mice in the vivarium of the Cancer Center of the Russian Academy of Medical Sciences and improvement of measures to control syphaciosis. «Voprosy veterinarii i veterinarnoy biologii»: sbornik nauchnykh trudov molodykh uchenykh. *Moskovskaya gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny i biotekhnologii im. K. I. Skryabina = Veterinary medicine and veterinary biology issues: a collection of scientific papers by young scientists*. Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K. I. Skryabin. 2006; 128-133. (In Russ.)
 13. Bazzano T., Restel T.I., Pinto R.M., Gomes D.C. Patterns of Infection with the Nematodes *Syphacia obvelata* and *Aspicularis tetraptera* in Conventionally Maintained Laboratory Mice. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz-Rio de Janeiro*. 2002; 97 (6): 847-853.
 14. Chan K.F. Chemotherapeutic studies on *Syphacia obvelata* infection in mice. *Amer. J. Hyg.* 1952; 56 (1): 22-30.
 15. Harder A. The biochemistry of *Haemonchus contortus* and other parasitic nematodes. *Advances in parasitology*. 2016; 93: 69-94.
 16. Pinto R.M., Goncalves L., Noronha D., Gomes D. C. Worm Burdens in Outbred and Inbred Laboratory Rats with Morphometric Data on *Syphacia muris* (Yamaguti, 1935) Yamaguti, 1941 (*Nematoda, Oxyuroidea*). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro. 2001; 96 (1): 133-136.

The article was submitted 13.07.2022; accepted for publication 15.08.2022

About the authors:

Emelyanova Nadezhda B., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0003-1920-0363, emelyanova13@mail.ru

Kurnosova Olga P., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0002-3248-8931, kurnosova@vniigis.ru

Contribution of co-authors:

Emelyanova Nadezhda B. – conducting an experiment, blood sampling, statistical data processing, analysis of literature and results, writing an article.

Kurnosova Olga P. – laying blood samples in biochemical and hematological analyzers.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:636.028:57.086;593.192

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-303-308>

Влияние паразитирования *Eimeria stiedae* в печени кроликов на показатели крови и гистоархитектонику органов

Виктория Васильевна Стаффорд¹

¹ Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко РАН, Москва, Россия

¹ stafford.v.v@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8725-2320>

Аннотация

Цель исследований – оценить влияние паразитируемости на клинические показатели лабораторных животных.

Материалы и методы. Исследована венозная кровь 20 кроликов в возрасте 1 года с целью биохимического и общего анализа, для чего использовали гематологические анализаторы. Вскрытие животных выполняли по методу Шора, оценивали топографию органокомплекса, отбирали патологический материал в 10%-ный забуференный формалин. Для патоморфологического исследования отбирали пробы печени, селезенки, лёгких, почек. Для определения гистологической картины использовали парафиновую заливку образцов на полуавтоматическом оборудовании фирмы Thermo Scientific. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гистоархитектонику препаратов оценивали при помощи микроскопа Axio A1.0, фотосъемку вели при помощи программы AxioVision.

Результаты и обсуждение. В статье приведены данные общего и биохимического анализа крови кроликов, ориентированных для использования в эксперименте. Так же, показана патологоанатомическая картина печени при инвазии животных эймериями, и гистологическая картина паренхиматозных органов. Нами было установлено, что основными биохимическими показателями, выходящими за границы референсных значений, были так печёночные показатели: аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза. Также, наблюдали повышение уровня моноцитов и гранулоцитов в крови. Патологоанатомические изменения были выражены лишь в печени, тогда как в других органах изменений макрокартины не наблюдали. Гистологическое исследование паренхиматозных органов показало существенную патологию в печени, обусловленную наличием эндогенных стадий ооцист в её структуре. Кроме этого, отмечали бурную эозинофильную реакцию в селезенке, большое содержание эозинофилов в сосудах лёгких.

Ключевые слова: *Eimeria stiedae*, кролики, кровь, биохимия, гистология, патология

Благодарность. Работа выполнена в рамках Государственного задания № FGUG-2022-0010.

Прозрачность финансовой деятельности: в представленных материалах или методах автор не имеет финансовой заинтересованности.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Стаффорд В. В. Влияние паразитирования *Eimeria stiedae* в печени кроликов на показатели крови и гистоархитектонику органов // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 303–308.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-303-308>

© Стаффорд В. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Effects of *Eimeria stiedae* parasitism in the liver of rabbits on blood parameters and histoarchitecture of organs

Victoria V. Stafford¹

¹ Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, Russia

¹ stafford.v.v@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8725-2320>

Abstract

The purpose of the research is to evaluate the parasitism effects on clinical parameters of laboratory animals.

Materials and methods. The venous blood of 20 rabbits aged 1 year was taken to perform biochemical and general blood tests, for which purpose hematological analyzers were used. The animals were dissected using the Shor's method. The topography of the organ complex was evaluated, and pathological material was collected and placed to 10% buffered formalin. For pathomorphological examination, liver, spleen, lung, and kidney samples were taken. To determine the histological pattern, paraffin-embedded samples on Thermo Scientific semi-automatic equipment were used. Histologic specimens were stained with hematoxylin and eosin. The histoarchitecture of the specimens was evaluated using an Axio A1.0 microscope, and photography was conducted with the AxioVision software.

Results and discussion. The article presents the data of the general and biochemical blood tests of the blood from the rabbits intended to be used in the experiment. Further, the pathoanatomical picture of the liver was shown in animals infected with *Eimeria* spp., and the histological pattern was presented for parenchymal organs. We found that the main biochemical values that exceeded reference values were liver values, namely, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. We also observed an increase in monocytes and granulocytes in the blood. Pathological and anatomical changes were only expressed in the liver, while no changes in the macro pattern were observed in other organs. Histological examination of parenchymal organs showed a significant pathology in the liver due to endogenous stages of oocysts occurred in its structure. Additionally, we observed a strong eosinophil response in the spleen and a high content of eosinophils in the pulmonary veins.

Keywords: *Eimeria stiedae*, rabbits, blood, biochemistry, histology, pathology

Acknowledgements. The study was performed within State Task No. FGUG-2022-0010.

Financial Disclosure: the author has no financial interest in the presented materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Stafford V. V. Effects of *Eimeria stiedae* parasitism in the liver of rabbits on blood parameters and histoarchitecture of organs. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 303–308. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-303-308>

© Stafford V. V., 2022

Введение

У кроликов зарегистрировано три вида эймерий: *Eimeria magna*, *E. perforans* и *E. stiedae*, которые относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Coccidiophora*, отряду *Cicciidiida*, подотряду *Eimeriina*, роду *Eimeria* [1–3].

Цикл развития *E. stiedae* сложный и включает в себя экзогенные и эндогенные стадии развития, бесполое деление и половое размножение, которые длятся, в среднем, 7 сут.

Из организма кролика (экзогенная стадия) во внешнюю среду попадает неспорулированная форма ооцисты. Затем она переходит в стадию спорогонии, в результате чего путём мейоза делится на 4 споробласта, каждый из которых развивается в одну спороцисту. Спорулированные ооцисты алиментарным путём инвазируют организм кролика (эндогенная стадия). Проходя через кислую среду желудка, происходит разрушение стенки ооцисты и из спорулированной формы в тонком отделе

кишечника выходят спорозоиты и внедряются в эпителий кишки, откуда следуют в печень и инвазируют эпителий желчевыводящих протоков и печени. Здесь начинается процесс мерогонии, который заключается в том, что после первичного внедрения спорозоитов в эпителиальные клетки печени из них уже выходят мерозоиты, которые внедряются в новые клетки, где делятся на мужские и женские гаметоциты, в отличие от предыдущих стадий. Мужские и женские гаметоциты, покидая клетку, оплодотворяются и путём гаметического размножения образуются гаметогонии, что приводит к образованию неспорулированных ооцист, которые выделяются во внешнюю среду для экзогенного развития [4].

Заражение животных происходит по орально-фекальному пути, и от матери к потомству. Возбудитель эймериоза может попасть в места обитания животных с предметами ухода и на обуви персонала, работающего с ними. Наиболее опасно заболевание для крольчат с 1 до 4-месячного возраста; у взрослых особей может проявляться в виде носительства.

Выраженные клинические признаки выявляются у крольчат до 16-недельного возраста и характеризуются вялостью, отказом от корма, диареей; у взрослых кроликов может проявляться только спонтанной диареей.

Профилактика включает в себя применение чистой питьевой воды, качественных кормов, витаминно-минеральных подкормок, соблюдение санитарно-эпидемиологических требований в помещении и в местах содержания животных. При лечении кокцидиозов животных используют кокцидиостатики согласно инструкции.

Целью наших исследований было проведение общего и биохимического анализа крови кроликов, оценка патологоанатомической картины, гистологическое исследование.

Материалы и методы

Исследована венозная кровь 20 кроликов в возрасте 1 года с целью биохимического и общего анализа, для чего использовали гематологические анализаторы «Mindray bc-2800 vet full-auto hematology analyzer», «Beckman coulter au480» и «Furuno CA 180».

Вскрытие животных выполняли по методу Шора, оценивали топографию органокомплекса, отбирали патологический материал в

10%-ный забуференный формалин. Для патоморфологического исследования отбирали пробы печени, селезенки, лёгких, почек.

Для определения гистологической картины использовали парафиновую заливку образцов на полуавтоматическом оборудовании фирмы Thermo Scientific. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гистоархитектонику препаратов оценивали при помощи микроскопа Axio A1.0 (Carl Zeiss), фотосъёмку вели при помощи программы AxioVision.

Экспериментальное исследование выполняли в соответствии с нормами гуманного обращения с животными, которые регламентированы: «Guidelines of the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, international»; Приказом № 724 от 1984 г. Министерства высшего образования СССР «Правила проведения работ с экспериментальными животными»; Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000 г.), директивой Европейского сообщества (86/609 EC) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава России № 267 от 19.06.2003 г.).

Результаты и обсуждение

В ходе исследований нами не было выявлено никаких отклонений в поведении животных; они активно поедали корм, стул был сформирован, шерстный покров густой, равномерный; животные были активными. Однако, полученные результаты анализов крови свидетельствовали о развитии патологии у животных.

В результате исследований было установлено, что основными показателями, значительно превышающими референтные значения, оказались АЛТ и АСТ (примерно в 2 раза от нормы), при этом другие показатели оставались в норме (табл. 1). Подобное повышение свидетельствует о развитии патологии в печени и активном выходе АЛТ и АСТ из разрушенных гепатоцитов в окружающие ткани и далее в кровоток. При общем анализе крови (табл. 2) было выявлено незначительное снижение уровня гемоглобина, что коррелировало с уменьшением числа эритроцитов в периферической крови и низким уровнем

Таблица 1 [Table 1]

Обобщённые данные биохимических показателей крови кроликов
[Hematological data of biochemical's tests of rabbit's blood]

Биохимический показатель крови/референсные значения [Blood chemistry/reference value]	Общ. билируб. 3,4-8,5, мкмоль/л	АСТ, 5-31 Ед/л	АЛТ, 25-60 Ед/л	Мочевина, 2,3-6,6 ммоль/л	Креатинин, 44-141 мкмоль/л	Щелоч. фосфатаза, 19-173 Ед/л	Глюкоза, 6,1-15,9 ммоль/л
Результат [Result]	4,2±0,48	131,6±38,7	155,8±54,7	6,3±1,4	109,5±27,8	69,1±27,8	4,7±1,4

Таблица 2 [Table 2]

Обобщённые данные общего анализа крови кроликов
[Hematological data of general blood tests of rabbit's blood]

Показатель общего анализа крови/референсные значения [Complete blood count/reference value]	Гематокрит, 31-46 %	Гемоглобин, 105-170 г/л	Эритроциты, 5,00-7,60 $10^6/uL$	Среднее сод. гемоглобина, 20,1-25,1 пг	Среднек. конц. гемогл., 320-370 г/л	Гранулоциты, 20,0-59,3 %
Результат [Result]	33,8±4,2	103,3±18	4,7±0,7	22±1,6	300,5±18	64,6±15,2
Показатель общего анализа крови/референсные значения [Complete blood count/reference value]	Лейкоциты, 5,2-13,5 $10^3/uL$	Лимфоциты, 35,2-75,6 %	Лимфоциты абсолютное число, 3,2-9,0 $10^3/uL$	Моноциты, 2,5-6,0 %	Моноциты абсолютное число, 0,1-0,6 $10^3/uL$	СОЭ, 0-6 мм/ч
Результат [Result]	8,6±3,1	26,7±16,1	2,6±2	9±4,7	0,8±0,5	1

среднеклеточной концентрации гемоглобина. Кроме этого, выявлено повышение уровня гранулоцитов в крови и снижение уровня лимфоцитов. Число моноцитов было также незначительно выше нормы.

Оценивая полученные данные, можно сказать, что такое колебание показателей анализа крови связано с развитием паразитарной инвазии у животных с вовлечением в патологию печени.

Для выявления причин резкого повышения печёночных показателей и колебаний показателей общего анализа крови проведены дополнительные исследования. Проводили убой и вскрытие животных, чьи показатели были максимальными по сравнению с остальными животными. Органы у вскрытых животных расположены анатомически правильно, лишь на поверхности печени находились белые образования неправильной формы, слегка выпирающие над поверхностью органа и уходящие вглубь (рис. 1). При этом, печень была правильной формы и с острыми краями. Лишь в области образований наблюдали скопление эритроцитов в виде тонкой каймы.

Селезенка при вскрытии была грубой консистенции с закруглёнными краями, однородного тёмно-красного цвета. На поверхности лёгкого визуализировали гиперемия сосудов, в остальном органы были без изменений. При

исследовании желудочно-кишечного тракта нами не было выявлено никаких патологических изменений.



Рис. 1. Макроскопический препарат фрагментов печени кролика с беловатыми образованиями на поверхности

[Fig. 1. Rabbit liver with white area on top]

Опираясь на результаты вскрытия трупов животных и, учитывая клиническую картину при жизни, для гистологического исследования мы взяли селезенку, лёгкое и печень.

На рис. 2 приведена микрокартина селезенки и лёгкого. Так, у селезенки плотная утолщённая капсула, красная пульпа активно инфильтрирована клеточным компонентом,

белая пульпа представлена лимфоидными фолликулами 1 и 2 порядка с чётко выраженными границами их зон (рис. 2, А). При более крупном увеличении заметно большое скопление эозинофилов между спленоцитами

красной пульпы (рис. 2, В). В кровеносном сосуде венозного типа в лёгком выявлена сильная обтурация просвета вены клетками периферической крови, в том числе с множеством эозинофилов (рис. 2, С).

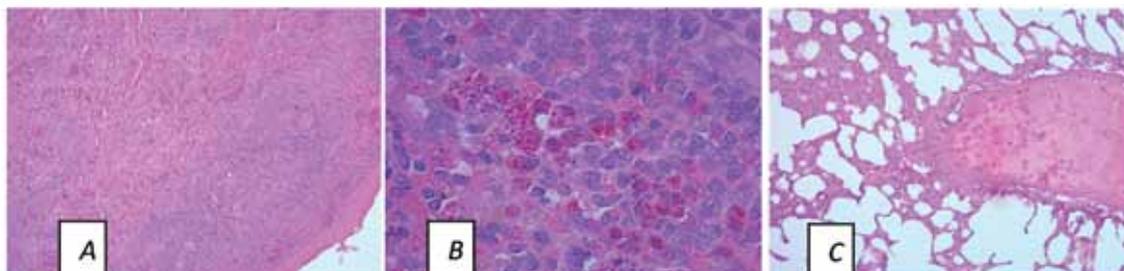


Рис. 2. Гистологический срез паренхиматозных органов кролика:
А – селезёнка (ув. $\times 100$); В – селезёнка (ув. $\times 630$); С – лёгкое (ув. $\times 100$)
(окраска гематоксилином и эозином)

[Fig. 2. Histological slices of parenchymal organs of rabbit:
А – spleen ($\times 100$); В – spleen ($\times 630$); С – lung ($\times 100$)
(stained with hematoxylin and eosin)]

Поскольку нами было выявлено наличие новообразований на печени, то особое гистологическое внимание было уделено исследованиям срезов печени. Так, на рисунке 3 приведены гистопрепараты из мест локализации беловатых участков и из окружающих тканей. В триаде печени было выявлено значительное расширение просвета желчевыводящих протоков (рис. 3), в ложементе хорошо визуализируется масса овальных оксифильно окрашенных включений с чёткой границей, в некоторых из них хорошо заметно округлое скопление зернистости (рис. 3, В, С). Кроме

включений, в просвете расширенного желчевыводящего протока заметна масса эпителиальных клеток на разной стадии распада. При более крупном увеличении (рис. 3, С) визуализируется выход округлого зернистого включения из эпителиальной клетки протока.

В окружающих тканях выражена демаркационная зона, состоящая из лимфоцитов и эозинофилов. Портальные кровеносные сосуды в состоянии отёка, в паренхиме печени множество диффузно расположенных эозинофилов, в гематолимфатических протоках нередко скопление лимфоидных клеток.

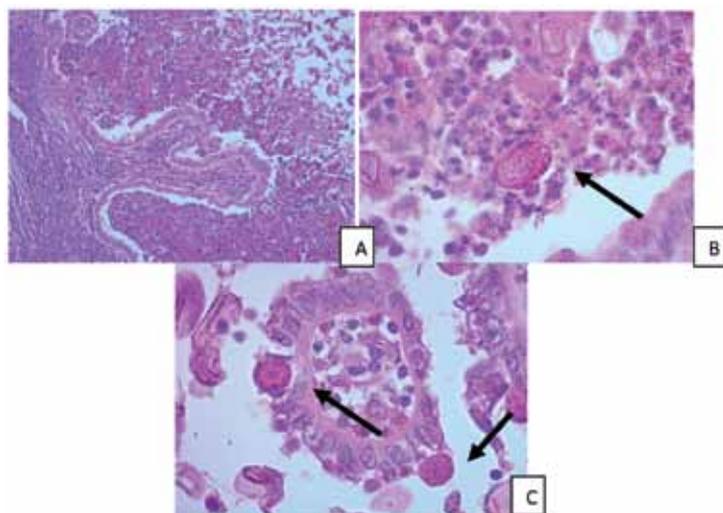


Рис. 3. Микрокартина печени кролика, инвазированного *E. stiedae*:
А – расширенный просвет желчевыводящего протока с ооцистами и эпителиальными клетками на разной стадии гибели (ув. $\times 100$); В – ооциста (ув. $\times 630$);
С – гаметоциты, выходящие из эпителиальных клеток протока (ув. $\times 630$)
(окраска гематоксилином и эозином)

[Fig. 3. Histological slices of liver of a rabbit infected with *E. stiedae*:
А – wide lumen of cholic duct consider a lot of oocysts and dead epithelial cells ($\times 100$);
В – oocyst (arrow) ($\times 630$);
С – gametocytes coming out of the epithelial cells of the cholic duct ($\times 630$)
(stained with hematoxylin and eosin)]

Заклучение

Важным вопросом в выполнении научно-исследовательских работ является всестороннее исследование лабораторных животных в предэкспериментальном периоде, так как определение здоровья животных только по клиническим признакам может привести к ложным результатам в ходе эксперимента, особенно при определении влияния испытуемого препарата на весь организм.

References

1. Качанова С. П. Современные меры и средства борьбы с кокцидиозами птиц. М.: ВНИИТЭИСХ, 1977. С. 36–45.
2. Ятусевич А. И., Забудько В. А. Эймериоз нутрий. Витебск: Монография. УОБГАВМ, 2006. 87 с.
3. Duszynski D. W. Enteric protozoans Cyclospora, Eimeria, Isospora and Cryptosporidium. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2001; 2: 416-459.
4. Xi Y., Xiao J., Zhou X. et al. Global transcriptome landscape of the rabbit protozoan parasite *Eimeria stiedae*. *Parasites Vectors*. 2021; 14: 308. DOI:10.1186/s13071-021-04811-5

Статья поступила в редакцию 24.05.2022; принята к публикации 28.06.2022

Об авторе:

Стаффорд Виктория Васильевна, Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко РАН (109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0001-8725-2320, stafford.v.v@gmail.com

Автор прочитала и одобрила окончательный вариант рукописи.

References

1. Kachanova S. P. Modern control measures and means of avian coccidiosis. Moscow: All-Union Scientific Research Institute of Information and Feasibility Studies in Agriculture, 1977; 36–45. (In Russ.)
2. Yatusевич A. I., Zabudko V. A. Eimeriosis of the nutria. Vitebsk: Monograph. Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2006; 87. (In Russ.)

3. Duszynski D. W. Enteric protozoans Cyclospora, Eimeria, Isospora and Cryptosporidium. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2001; 2: 416-459.
4. Xi Y., Xiao J., Zhou X. et al. Global transcriptome landscape of the rabbit protozoan parasite *Eimeria stiedae*. *Parasites Vectors*. 2021; 14: 308. DOI:10.1186/s13071-021-04811-5

The article was submitted 24.05.2021; accepted for printing 28.06.2022

About the author:

Stafford Victoria V., Federal Scientific Centre VIEV (24 Ryazansky prospect, Bldg. 1, Moscow, 109428), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0001-8725-2320, stafford.v.v@gmail.com

The author has read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:615.015.4

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-309-318>

Сроки выведения остаточных количеств ивермектина из организма цыплят-бройлеров после применения Ивербутана

Евгения Николаевна Индюхова¹, Михаил Владимирович Арисов²

^{1,2}Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹indyuhova@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3294-6119>

²director@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2103-8468>

Аннотация

Цель исследований – изучить сроки выведения остаточных количеств ивермектина в результате трехкратного перорального введения препарата Ивербутан цыплятам-бройлерам.

Материалы и методы. Для эксперимента отобрано 18 голов цыплят-бройлеров в возрасте 28 сут. Птицу содержали в условиях Подольского опытно-производственного отдела ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Ивербутан в качестве действующих веществ содержит 0,4% ивермектина и 10,0% бутафосфана. Препарат задавали перорально групповым методом из расчета 1,0 мл Ивербутана на 1 л питьевой воды. Ивербутан выпаивали трехкратно: двукратно с интервалом 24 ч и один раз через 14 сут. Убой птиц и отбор проб органов и тканей проводили через 9, 14 и 19 сут после трехкратного применения препарата. Отбирали органы и ткани от 6 голов каждого вида: мышцы, печень, почки и кожу с подкожной жировой клетчаткой. Методика основана на определении ивермектина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной модификацией N-метилимидазолом и ангидридом трифторуксусной кислоты с последующим детектированием по флуоресценции. Количественное определение проводили методом внутреннего стандарта.

Результаты и обсуждение. Изучены сроки выведения остаточных количеств ивермектина из организма цыплят после трехкратного применения препарата. Остаточные количества, превышающие максимально допустимые уровни, определены через 9 и 14 сут после окончания применения препарата. Установлено, что через 19 сут органы и ткани цыплят не содержат ивермектина. Таким образом, через 19 сут после трехкратного применения Ивербутана мясо сельскохозяйственных птиц может быть использовано в пищу.

Ключевые слова: ивермектин, Ивербутан, цыплята-бройлеры, высокоэффективная жидкостная хроматография, остаточные количества

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Индюхова Е. Н., Арисов М. В. Сроки выведения остаточных количеств ивермектина из организма цыплят-бройлеров после применения Ивербутана // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 309–318.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-309-318>

© Индюхова Е. Н., Арисов М. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

The elimination period of ivermectin residuals from the body of broiler chickens after Iverbutan

Evgenia N. Indyuhova¹, Mikhail V. Arisov²

^{1,2}All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia

¹indyuhova@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3294-6119>

²director@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2103-8468>

Abstract

The purpose of the research is to study the elimination period of Ivermectin residuals after three oral administrations of Iverbutan to broiler chickens.

Materials and methods. For the experiment, 18 broiler chickens aged 28 days were selected. The birds were kept in the conditions of the Podolsk Experimental Production Department of the VNIIP – FSC VIEV. Iverbutan contains 0.4% of ivermectin and 10.0% of butaphosphan as active substances. The drug was administered orally by the group method at the rate of 1.0 mL of Iverbutan per 1 Liter of drinking water. Iverbutan was given three times: twice with a 24-hour interval and once after 14 days. The birds were killed and samples of their organs and tissues were taken at 9, 14, and 19 days after the drug was administered three times. Organs and tissues of each following type were collected from 6 birds: muscles, liver, kidneys, and skin with subcutaneous adipose tissue. The technique was based on the determination of Ivermectin by high performance liquid chromatography with modified pre-column accomplished with N-methylimidazole and trifluoroacetic anhydride, followed by fluorescence detection. The quantification was performed by the internal standardization.

Results and discussion. The period was studied for elimination of Ivermectin residuals from the chickens' body after the drug was administered three times. The residuals that exceed the maximum allowable levels were determined at 9 and 14 days after the drug was completed. It was found that the chickens' organs and tissues did not contain Ivermectin at 19 days. Thus, poultry meat can be used for food at 19 days after Iverbutan is administered three times.

Keywords: Ivermectin, Iverbutan, broiler chickens, high performance liquid chromatography, residuals

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Indyuhova E. N., Arisov M. V. The elimination period of Ivermectin residuals from the body of broiler chickens after Iverbutan. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 309–318. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-309-318>

© Indyuhova E. N., Arisov M. V., 2022

Введение

В условиях промышленного птицеводства широко распространены аскариды, гетеракисы, капиллярии, гамазовые и аргасовые клещи, пухоеды, пероеды, зоофильные мухи и др. [1, 2, 6]. Функционирование указанных паразитарных систем приводит к снижению у кур яйценоскости, сохранности, потере массы тела, а также массовой гибели. Наряду с этим, в организме птиц наблюдают глубокие нарушения физиолого-биохимических процессов, в частности, развитие оксидативного стресса [16].

Поэтому, разработка, фармако-токсикологическая оценка новых противопаразитарных

препаратов является актуальным направлением для паразитологии, а также для птицеводческой отрасли. Важная составляющая доклинических испытаний лекарственных препаратов для продуктивных животных – это изучение сроков выведения остаточных количеств действующих веществ или метаболитов из их организма.

Данная работа является продолжением серии исследований фармако-токсикологических свойств нового комбинированного препарата Ивербутан [4, 5, 17].

Ивербутан – лекарственный препарат, состоящий из двух действующих веществ –

ивермектина и бутафосфана, а также вспомогательных компонентов. По степени воздействия на организм препарат относится к веществам «умеренно опасным» – 3 класс опасности.

Механизм действия ивермектина заключается в его влиянии на величину тока ионов хлора через мембраны нервных и мышечных клеток паразита. Ивермектин обладает высокой липофильностью. Это приводит к его выраженному депонированию в жировой ткани, что важно учитывать при проведении доклинических исследований [9].

Цель работы – изучить сроки выведения остаточных количеств ивермектина в результате трехкратного перорального введения Ивербутана цыплятам-бройлерам. Для осуществления заявленной цели определены следующие задачи: 1) разработать и валидировать метод определения остаточных количеств ивермектина в мышечной ткани, кожи с подкожной жировой клетчаткой, печени и почках цыплят; 2) определить содержание ивермектина в тканях и органах птиц после трехкратного перорального введения Ивербутана.

Материалы и методы

Для эксперимента отобрано 18 цыплят-бройлеров кросса Кобб 500 в возрасте 28 сут массой тела 1480–1500 г. Все исследуемое поголовье до и во время опыта находилось под наблюдением, отклонений физиологического статуса не выявлено. Птицу содержали в условиях Подольского опытно-производственного отдела ВНИИП – филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН в соответствии с зоотехническими требованиями.

Препарат задавали перорально групповым методом. Суточная доза – 400 мкг ивермектина на 1 кг массы птицы из расчета 1,0 мл препарата на 1 л питьевой воды. Ивербутан выпаивали трехкратно: двукратно с интервалом 24 ч и один раз через 14 сут.

Убой птиц и отбор проб органов и тканей проводили через 9, 14 и 19 сут после трехкратного применения препарата. Отбирали органы и ткани от 6 голов каждого вида: мышцы, печень, почки и кожу с подкожной жировой клетчаткой.

Все отобранные пробы органов и тканей маркировали, замораживали, помещали в термоконтейнер и доставляли в лабораторию

ВНИИП, где пробы гомогенизировали и далее хранили в морозильной камере при температуре -25°C до момента исследования.

Принцип метода определения ивермектина в органах и тканях. Методика основана на определении ивермектина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной модификацией N-метилимидазолом и ангидридом трифторуксусной кислоты с последующим детектированием по флуоресценции [7]. Количественное определение проводили методом внутреннего стандарта.

Осушающую смесь готовили путём смешивания натрия уксуснокислого безводного и просушенного магния сернокислого в соотношении 1 : 2. Для этого в фарфоровой выпарительной чаше навеску 500 г магния сернокислого 7-водного помещали в муфельную печь, нагретую до 550°C на 2,5–3 ч (до полного высушивания), затем перемалывали в фарфоровой ступке, помещали 250 г безводного сульфата магния в фарфоровый стакан, после чего присыпали навеску натрия уксуснокислого безводного массой 125 г и тщательно перемешивали. Смесь хранили в лабораторном эксикаторе, заполненном силикагелем.

Подвижную фазу готовили путем смешивания ацетонитрила и воды в соотношении 99 : 1. Подвижную фазу фильтровали через мембранный фильтр 0,45 мкм и дегазировали.

Работу с хроматографом осуществляли согласно инструкциям. Хроматографическую колонку Kromasil 100-3.5-C18 3.0×150 мм предварительно промывали элюентом в течение 40 мин. подачей элюента со скоростью 0,9 мл/мин.

Смесь для дериватизации готовили путем смешивания одной части трифторуксусного ангидрида и двух частей ацетонитрила (об/об) и далее вортиксировали в течение 30 с. Раствор использовали свежеприготовленным.

Приготовление основного стандартного раствора ивермектина. На аналитических весах взвешивали с точностью до четвертого десятичного знака 0,0100 г стандартного образца ивермектина (с учётом чистоты стандартного образца). Навеску растворяли в 10 мл ацетонитрила, получая при этом основной раствор с концентрацией 1 мг/мл.

Промежуточные стандарты анализа готовили из основного методом последовательных

разбавлений в ацетонитриле. Концентрации промежуточных стандартных образцов составляли 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 и 25,0 мкг/мл.

Приготовление основного стандартного раствора дорамектина (внутренний стандарт). На аналитических весах взвешивали с точностью до четвёртого десятичного знака по 0,0100 г стандартного образца дорамектина (с учётом чистоты стандартного образца). Навеску растворяли в 10 мл ацетонитрила, получая при этом основной раствор с концентрацией 1 мг/мл.

Рабочий раствор дорамектина готовили из основного методом разбавления в 200 раз в ацетонитриле. Для этого в мерную колбу объёмом 10,0 мл вносили 50 мкл основного стандартного раствора, растворяли в небольшом количестве ацетонитрила и доводили ацетонитрилом до метки. Концентрация промежуточного раствора внутреннего стандарта составляла 5 мкг/мл.

Приготовление калибровочных проб органов и тканей. Стандартные пробы ивермектина готовили путём добавления к 1,0 г чистых гомогенизированных органов и тканей 10 мкл соответствующего промежуточного раствора ивермектина (0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 и 25,0 мкг/мл) до достижения концентраций аналита 1, 5, 10, 50, 100 и 250 нг/г. После этого стандартные образцы вортиксовали в течение 10 с и оставляли в покое в течение 30 мин. перед использованием при комнатной температуре. Стандартные пробы использовали свежеприготовленными.

Подготовка проб органов и тканей к анализу. Пробу органов и тканей массой 1,0 г помещали в полипропиленовую пробирку объёмом 15 мл. Затем добавляли 5 мкл рабочего раствора внутреннего стандарта (дорамектина) концентрацией 5 мкг/мл. Далее приливали 5 мл ацетонитрила и насыпали 1,5 г осушающей смеси, вортиксовали и перемешивали на орбитальном шейкере в течение 20 мин. при 600 об/мин. Затем центрифугировали 5 мин. при скорости вращения 3900 об/мин. Ацетонитрильные экстракты (супернатант) отбирали в чистые полипропиленовые пробирки и упаривали при 50 °С в токе азота. Сухой остаток растворяли в 1 мл ацетонитрила, проводя обработку образцов в УЗ-ванне при комнатной температуре. К полученному раствору добавляли 100 мкл N-метилимидазола,

вортиксовали в течение 10 с. Помещали в морозильную камеру на 5 мин. при температуре -26 °С. Затем добавляли 300 мкл смеси трифторуксусного ангидрида и ацетонитрила. Далее пробы вортиксовали в течение 10 с и помещали в холодильник на 30 мин. при температуре 4 °С для протекания реакции дериватизации. Пробы через 30 мин. переносили в виалы, пропуская через мембранный фильтр 0,22 мкм и анализировали методом ВЭЖХ.

Валидация методики количественного определения ивермектина выполнена в соответствии с руководствами [8, 10–13, 15, 20] по показателям: линейность, степень извлечения, специфичность, прецизионность, правильность (точность), пределы количественного и качественного определения.

Для качественного и количественного анализа полученных экстрактов применяли процедуру калибровки хроматографических данных. Процедура калибровки имеет две цели: определение времени удерживания анализируемого компонента для его последующей идентификации (качественный анализ проб) и определение концентрации аналита при помощи калибровочного графика (метод внутреннего стандарта).

При получении калибровочных графиков для ивермектина использовали линейную интерполяцию со свободным коэффициентом, с весами $1/x^2$ ($y = kx + b$) [12] зависимости S_{IVE}/S_{IS} от C_{IVE} (метод внутреннего стандарта).

Для построения калибровочных зависимостей отношений величин площадей ивермектина и дорамектина от концентраций аналита в органах и тканях выбран диапазон от 1 до 250 нг/г.

Полученные результаты калибровки в биоматрицах приведены на рисунках 1–4.

Полученные коэффициенты корреляции свидетельствуют о высокой степени линейности откликов хроматографической системы в данном диапазоне концентраций.

Расчет концентраций ивермектина в органах и тканях. Для вычисления концентраций ивермектина в исследуемых пробах органов и тканей применяли уравнения, полученные для линии тренда калибровочных графиков по экстрактам модельных проб биоматриц:

$$C_{IVE} = \frac{S_{IVE} - b}{k} \cdot S_{IS}$$

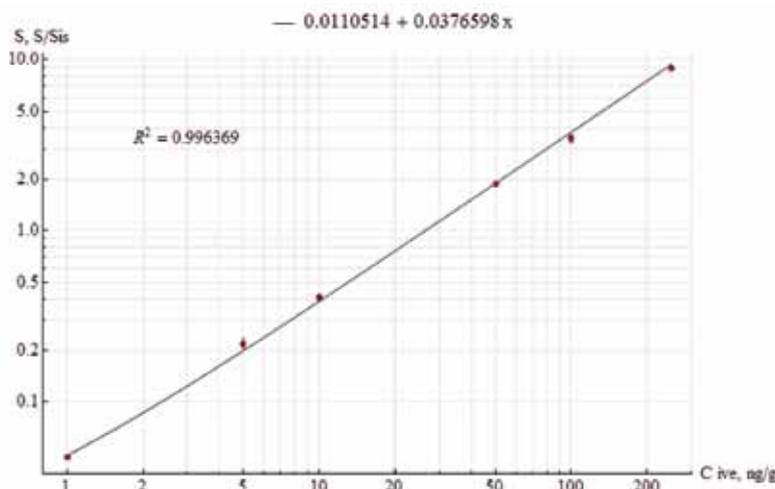


Рис. 1. Калибровка ивермектина в мышечной ткани
 [Fig. 1. Ivermectin calibrated in muscle tissue]

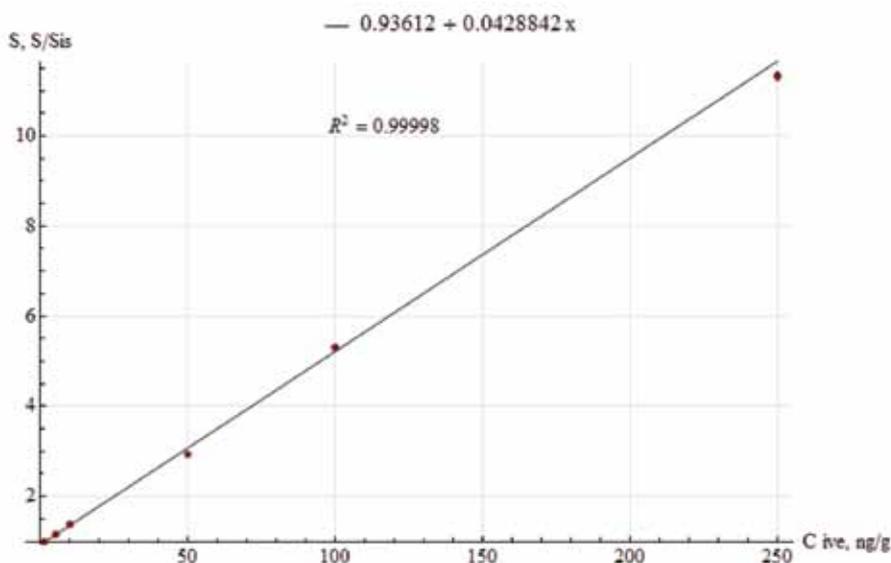


Рис. 2. Калибровка ивермектина в печени
 [Fig. 2. Ivermectin calibrated in liver]

где C_{IVE} – искомая концентрация ивермектина в биоматрицах, нг/г; S_{IS} – площадь пика до-рамектина (внутреннего стандарта), $mV \cdot sec$; S_{IVE} – площадь пика ивермектина в экстракте пробы, $mV \cdot sec$; k и b – коэффициент калибровочной зависимости.

Для оценки потерь аналита в процессе пробоподготовки и оценки влияния матрицы экстракта на отклики, изучены степени извлечения ивермектина на низком (5 нг/г), среднем (50 нг/г) и высоком (250 нг/г) уровнях концентраций.

На основании стандартного отклонения свободного коэффициента b калибровочных графиков установлены пределы обнаружения (LOD) и пределы количественного определения (LOQ) ивермектина в органах и тканях. Определение LOD и LOQ осуществляли по формулам [21]:

$$LOD = 3 \cdot SD_b \cdot k^{-1}$$

$$LOQ = 10 \cdot SD_b \cdot k^{-1},$$

где SD_b – стандартное отклонение коэффициента b калибровочных зависимостей; k –

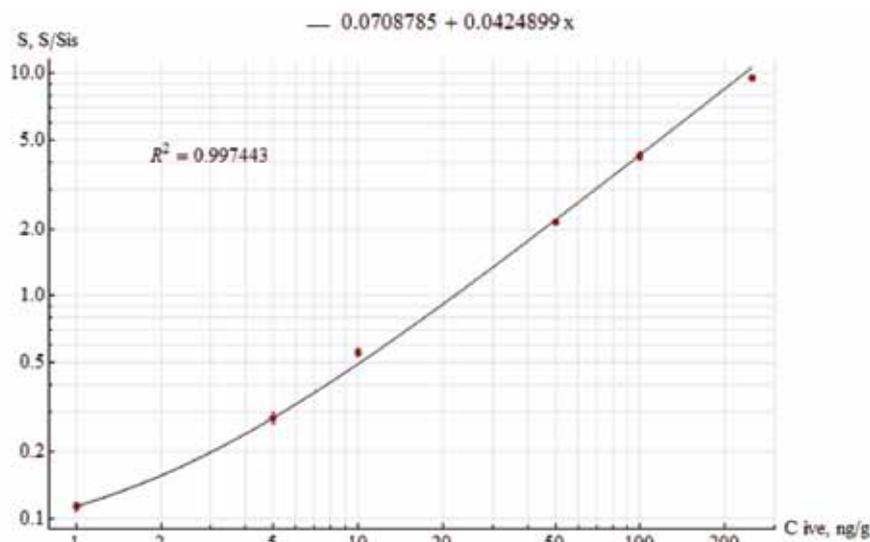


Рис. 3. Калибровка ивермектина в почках

[Fig. 3. Ivermectin calibrated in kidneys]

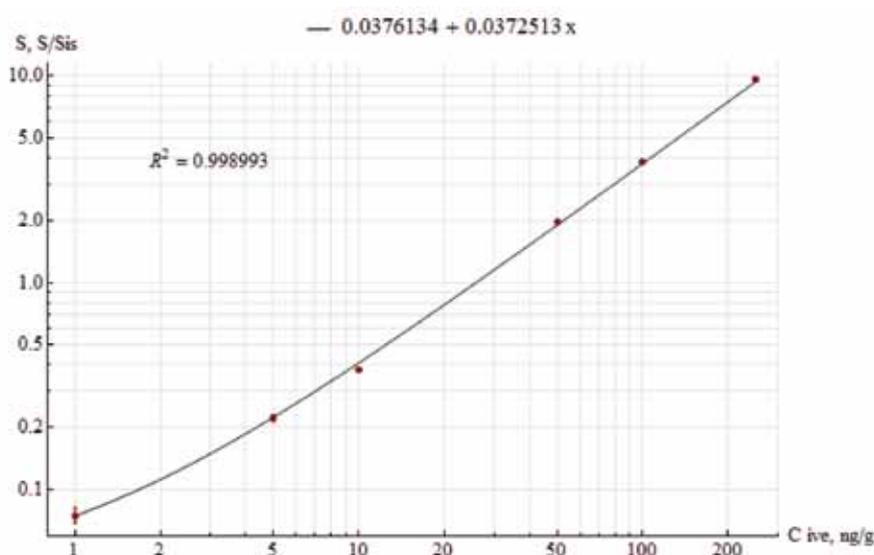


Рис. 4. Калибровка ивермектина в коже с подкожной жировой клетчаткой

[Fig. 4. Ivermectin calibrated in skin and subcutaneous adipose tissue]

коэффициент корреляции (угловой коэффициент).

Вычисленные пределы детектирования и количественного определения ивермектина приведены в таблице 1.

Результаты и обсуждение

Предложенная методика определения ивермектина в органах и тканях имела линейную зависимость ($R > 0,99$) в диапазоне 1–250 нг/г

и показала хорошую воспроизводимость и правильность. Метод позволяет идентифицировать ивермектин в модельных пробах и образцах органов и тканей от сельскохозяйственной птицы.

Результаты исследования остаточных количеств ивермектина в органах и тканях цыплят приведены в таблицах 2–4.

Известно, что за счет своих липофильных свойств, ивермектин может накапливаться в органах и тканях, что и обуславливает про-

Таблица 1 [Table 1]

Определение LOD и LOQ ивермектина в органах и тканях
[Determination of ivermectin LOD and LOQ in organs and tissues]

Биоматрица [Biomatrix]	LOD, нг/г [LOD, ng/g]	LOQ, нг/г [LOQ, ng/g]
Мышечная ткань [Muscle tissue]	0,3	1,0
Печень [Liver]	0,2	0,7
Почки [Kidneys]	0,3	1,0
Кожа с подкожной жировой клетчаткой [Skin with subcutaneous adipose tissue]	0,2	0,7

Таблица 2 [Table 2]

Содержание остаточных количеств ивермектина в организме цыплят на 9-е сутки после применения Ивербутана

[The content of residual amounts of ivermectin in the chicken's body on the 9th day after giving iverbutan]

№ птицы [Bird no.]	Наименование биоматрицы [Biomatrix name]			
	Мышцы [Muscles]	Печень [Liver]	Почки [Kidneys]	Кожа с подкожной жировой клетчаткой [Skin with subcutaneous adipose tissue]
	Концентрация ивермектина, нг/г [Ivermectin concentration, ng/g]			
1	2,5	< LOD	< LOD	19,6
2	6,9	< LOD	< LOD	7,8
3	2,0	< LOD	< LOD	6,6
4	1,8	< LOD	< LOD	24,3
5	1,0	< LOD	< LOD	7,2
6	1,3	< LOD	2,2	4,5

Таблица 3 [Table 3]

Содержание остаточных количеств ивермектина в организме цыплят на 14-е сутки после применения Ивербутана

[The content of residual amounts of ivermectin in the chicken's body on the 14th day after giving iverbutan]

№ птицы [Bird no.]	Наименование биоматрицы [Biomatrix name]			
	Мышцы [Muscles]	Печень [Liver]	Почки [Kidneys]	Кожа с подкожной жировой клетчаткой [Skin with subcutaneous adipose tissue]
	Концентрация ивермектина, нг/г [Ivermectin concentration, ng/g]			
1	< LOD	< LOD	< LOD	4,1
2	< LOD	< LOD	< LOD	1,7
3	< LOD	< LOD	< LOD	3,7
4	< LOD	< LOD	< LOD	2,4
5	< LOD	< LOD	< LOD	3,0
6	< LOD	< LOD	< LOD	2,8

должительность его противопаразитарного эффекта [14, 18]. В работе L. Moreno (2017) отмечено выраженное распределение ивермектина в жировой ткани [19].

Нами ивермектин обнаружен в органах и тканях птиц через 9 и 14 сут после окончания применения препарата. На 9-е сутки ивермектин выявлен у всех цыплят в мышечной ткани на уровне 1,0–6,9 нг/г и в коже с подкожной

жировой клетчаткой в диапазоне от 4,5 до 24,3 нг/г. У одного цыпленка на 9-е сутки ивермектин зафиксирован в почках (2,2 нг/г).

Через 14 сут с окончания применения препарата ивермектин обнаружен только в коже с подкожной жировой клетчаткой у цыплят на уровне 1,7–4,1 нг/г. Через 19 сут после трехкратного перорального введения ивермектин в организме цыплят не обнаружен.

**Содержание остаточных количеств ивермектина в организме цыплят
на 19-е сутки после применения Ивербутана**

[The content of residual amounts of ivermectin in the chicken's body on the 19th day after giving iverbutan]

№ птицы [Bird no.]	Наименование биоматрицы [Biomatrix name]			
	Мышцы [Muscles]	Печень [Liver]	Почки [Kidneys]	Кожа с подкожной жировой клетчаткой [Skin with subcutaneous adipose tissue]
	Концентрация ивермектина, нг/г [Ivermectin concentration, ng/g]			
1	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
2	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
3	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
4	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
5	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
6	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

В соответствии с требованиями нормативов на мясную продукцию [3], максимально допустимый уровень содержания ивермектина составляет 1 нг/г.

Заявленные концентрации ивермектина не превысили нормативные значения. Таким образом, мясо птицы, убитой через 19 сут после трехкратного перорального введения Ивербутана, можно использовать в пищу.

Заключение

Изучены сроки выведения остаточных количеств ивермектина из организма цыплят после трехкратного применения Ивербутана. Остаточные количества, превышающие максимально допустимый уровень, определены через 9 и 14 сут после окончания применения препарата. Через 19 сут в органах и тканях птиц ивермектин не обнаружили, поэтому убой на мясо птиц можно проводить не ранее чем через 19 сут после трехкратного применения Ивербутана.

Список источников

1. Акбаев Р. М. Эктопаразиты птицы на территории птицефабрик промышленного типа Нечерноземной зоны // Ветеринария. 2009. № 10. С. 32-38.
2. Гапонов С. П. Новые данные о фауне пухоедов (Mallorhaga) в Воронежской области // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология. 2021. № 1 (61). С. 53-60. <https://doi.org/10.26456/vtbio185>
3. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Комиссия таможенного союза, 2015.
4. Индюхова Е. Н., Арисова Г. Б., Белых И. П., Поселов Д. С., Степанов А. А. Изучение острой токсичности лекарственного препарата для ветеринарного применения Ивербутан // Российский паразитологический журнал. 2021. Т. 15. № 3. С. 76-82. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-3-76-82>
5. Индюхова Е. Н. Субхроническая токсичность перорального препарата на основе ивермектина и бутафосфана на крысах // Ветеринарная патология. 2022. Т. 80. № 2. С. 36-44. <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2022.24.70.010>
6. Мовсесян С. О., Петросян Р. А., Никогосян М. А., Варданян М. В., Теренина Н. Б., Воронин М. В. Мониторинг формирования паразитофауны животных при стойловом содержании и на ограниченных пастбищных территориях // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: сборник научных статей по материалам Международной научной конференции. М., 2022. Вып. 23. С. 321-326. <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.321-326>
7. МУК 4.1.1874-04. Определение массовой концентрации ивермектина в органах и тканях, плазме и молоке животных, обработанных препаратом иверсект, методом флуоресцентной высокоэффективной жидкостной хроматографии. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.
8. Сеньюва Х. З., Гилберт Д. Простое руководство для пользователей по разработке и валидации методов. М.: Ториус 77, 2011. 43 с.
9. Суслов В. В., Енгашева Е. С., Кедик С. А., Шняк Е. А., Максимова П. О. Пролонгированные формы антигельминтных препаратов // Российский паразитологический журнал. 2016. Т. 38. № 4. С. 539-546.

10. Энштейн Н. А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2004. Т. 38. № 4. С. 40-56.
11. Boulanger B., Chiap P., Dewe W., Crommen J., Hubert P. An analysis of the SFSTP guide on validation of chromatographic bioanalytical methods: progresses and limitations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2003; 32: 753–765.
12. Carroll R. J., Ruppert D. Transformation and weighting in regression, Chapman and Hall, New York. 1998; 249.
13. Ermer J., Miller J. H. M. B. (ed.). Method validation in pharmaceutical analysis: A guide to best practice. John Wiley & Sons, 2006; 418.
14. Flajs V. C., Grabnar I. Ivermectin pharmacokinetics. *Slov. Vet. Res.* 2002; 39 (3/4): 167-78.
15. Hartmann C., Smeyers-Verbeke J., Massart D. L., McDowall R. D. Validation of bioanalytical chromatographic methods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis.* 1998; 17 (2): 193-218.
16. Indyuhova E. N., Arisov M. V., Maximov V. I., Azarnova T. O. Characteristics of metabolic disorders in laying hens with dermanysiosis. *Veterinarski Arhiv.* 2022; 92(2): 161-169. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.1376>
17. Indyuhova E., Arisov M., Maximov V., Azarnova T. Subchronic toxicity of ivermectin and butaphosphan in layer chickens. *J. World Poult. Res.* 2022; 12 (1): 38-45. <https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2022.5>
18. Moreno L., Dominguez P., Farias C., Canton L., Virkel G., Mate L., Ceballos L., Lanusse C. E., Alvarez L. Ivermectin pharmacokinetics, metabolism, and tissues/egg residue profiles in laying hens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2015; 63 (47): 10327–10332.
19. Moreno L., Lanusse C. Chapter 23 - veterinary drug residues in meat-related edible tissues. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 2017. 581-603. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4.00024-2>
20. Schechtman L. M. Internationally harmonized processes for test method evaluation, validation and regulatory acceptance: The role of OECD guidance document 34. Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments. 2008; 14: 475-782.
21. Shrivastava A., Gupta V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of young scientists.* 2011; 2 (1): 21-25.

Статья поступила в редакцию 01.08.2022; принята к публикации 10.08.2022

Об авторах:

Индюхова Евгения Николаевна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0003-3294-6119, indyuhova@vniigis.ru

Арисов Михаил Владимирович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор РАН, ORCID ID: 0000-0002-2103-8468, director@vniigis.ru

Вклад соавторов:

Индюхова Евгения Николаевна – создание дизайна исследования, проведение научно-исследовательской работы, сбор и анализ данных.

Арисов Михаил Владимирович – разработка дизайна исследования, анализ полученных результатов исследования.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Akbayev R. M. Avian ectoparasites on industrial poultry farms in the Non-Black Earth Region. *Veterinariya = Veterinary Medicine.* 2009; 10: 32-38. (In Russ.)
2. Gaponov S. P. New data on the fauna of the biting lice (Mallophaga) in the Voronezh Region. *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya i ekologiya = Bulletin of the Tver State University. Series: Biology and Ecology.* 2021; 1 (61): 53-60. (In Russ.) <https://doi.org/10.26456/vtbio185>
3. Uniform Sanitary Epidemiological and Hygienic Requirements for Products (Goods) Subject to Sanitary and Epidemiological Supervision (Control). Customs Union Commission, 2015.
4. Indyuhova E. N., Arisova G. B., Belykh I. P., Poselov D. S., Stepanov A. A. Study of the acute toxicity of the medicinal product for veterinary use Iverbutan. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology.* 2021; 15 (3): 76–82. (In Russ.). <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2021-15-3-76-82>
5. Indyuhova E. N., Subchronic toxicity of an oral ivermectin- and butaphosphan-based drug in rats. *Veterinarnaya patologiya = Veterinary Pathology.* 2022; 80 (2): 36–44. (In Russ.) <https://doi.org/10.25690/VETPAT.2022.24.70.010>

6. Movsesyan S. O., Petrosyan R. A., Nikogosyan M. A., Vardanyan M. V., Terenina N. B., Voronin M. V. Monitoring of parasitic fauna formed in stabled animals and animals in limited pasture areas. «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»: sbornik nauchnykh statey po materialam Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": collection of Scientific Articles adapted from the International Scientific Conference. M., 2022; 23: 321-326. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.321-326>
7. MG 4.1.1874-04. Determination of the mass concentration of ivermectin in organs and tissues, plasma and milk of animals treated with ivermectin using fluorescence high-performance liquid chromatography. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2009.
8. Senyuva H. Z., Gilbert D. A simple user guide to method development and validation. M.: Torius 77 Publishing House, 2011; 43. (In Russ.)
9. Suslov V. V., Engasheva E. S., Kedik S. A., Shnyak E. A., Maximova P. O. Prolonged forms of anthelmintic drugs. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2016; 38 (4): 539-546. (In Russ.)
10. Epstein N. A. Applicability appraisal (validation) of HPLC methods in pharmaceutical analysis (review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Chemical and Pharmaceutical Journal*. 2004; 38 (4): 40-56. (In Russ.)
11. Boulanger B., Chiap P., Dewe W., Crommen J., Hubert P. An analysis of the SFSTP guide on validation of chromatographic bioanalytical methods: progresses and limitations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2003; 32: 753-765.
12. Carroll R. J., Ruppert D. Transformation and weighting in regression, Chapman and Hall, New York. 1998; 249.
13. Ermer J., Miller J. H. M. B. (ed.). Method validation in pharmaceutical analysis: A guide to best practice. John Wiley & Sons, 2006; 418.
14. Flajs V. C., Grabnar I. Ivermectin pharmacokinetics. *Slov. Vet. Res.* 2002; 39 (3/4): 167-78.
15. Hartmann C., Smeyers-Verbeke J., Massart D. L., McDowall R. D. Validation of bioanalytical chromatographic methods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 1998; 17 (2): 193-218.
16. Indyuhova E. N., Arisov M. V., Maximov V. I., Azarnova T. O. Characteristics of metabolic disorders in laying hens with dermanyssois. *Veterinarski Arhiv*. 2022; 92 (2): 161-169. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.1376>
17. Indyuhova E., Arisov M., Maximov V., Azarnova T. Subchronic toxicity of ivermectin and butaphosphan in layer chickens. *J. World Poult. Res.* 2022; 12 (1): 38-45. <https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2022.5>
18. Moreno L., Dominguez P., Farias C., Canton L., Virkel G., Mate L., Ceballos L., Lanusse C. E., Alvarez L. Ivermectin pharmacokinetics, metabolism, and tissues/egg residue profiles in laying hens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015; 63 (47): 10327-10332.
19. Moreno L., Lanusse C. Chapter 23 – veterinary drug residues in meat-related edible tissues. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 2017. 581-603. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4.00024-2>
20. Schechtman L. M. Internationally harmonized processes for test method evaluation, validation and regulatory acceptance: The role of OECD guidance document 34. Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments. 2008; 14: 475-782.
21. Shrivastava A., Gupta V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of young scientists*. 2011; 2 (1): 21-25.

The article was submitted 01.08.2022; accepted for publication 10.08.2022

About the authors:

Indyuhova Evgenia N., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0003-3294-6119, indyuhova@vniigis.ru

Arisov Mikhail V., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Dr. Sc. Vet., RAS Professor, ORCID ID: 0000-0002-2103-8468, director@vniigis.ru

Contribution of co-authors:

Indyuhova Evgenia N. – study design creation, research work, data collection and analysis.

Arisov Mikhail V. – study design development, study result analysis.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:615.065

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-319-326>

Влияние эквиверма-2,0% в повышенных дозах на клиническое состояние организма лошадей

Маулди Баудинович Мусаев¹, Надежда Борисовна Емельянова²,
Елена Евгеньевна Белова³

¹⁻³Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹vigis-patent@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0523-2308>

²emelyanova13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1920-0363>

³vrach75@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4088-5344>

Аннотация

Цель исследований – изучить влияние нового противопаразитарного препарата эквиверм-2,0% в повышенных дозах на клиническое состояние лошадей.

Материалы и методы. Опыт проводили на 15 спонтанно инвазированных стронгилятами лошадях двухлетнего возраста помесных пород массой тела до 300 кг. Для определения влияния противопаразитарной пасты на организм лошадей были сформированы три группы по пять лошадей в каждой. Первой группе лошадей эквиверм-2,0% вводили в терапевтической, второй – в три раза и третьей – в пять раз увеличенной дозе (0,2; 0,6 и 1,0 мг/кг по ДВ, по препарату 1,0; 3,0 и 5,0 мл на 100 кг массы тела). Исследование клинического состояния лошадей проводили по общепринятым методам. Отбор крови из яремной вены для исследования проводили до введения препарата, на первые, третьи и седьмые сутки. Полученные результаты обработали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2007.

Результаты и обсуждение. Установлено отсутствие отрицательного влияния противопаразитарной пасты эквиверм-2,0% при однократном оральном введении в терапевтической, 3 и 5 раз увеличенной дозе (0,2, 0,6 и 1,0 мг/кг по ДВ, по препарату 1, 3 и 5 мл на 100 кг массы) на клинические, гематологические и биохимические показатели.

Ключевые слова: паста, эквиверм-2,0%, ивермектин, лошади, клиническое состояние, гематологические показатели, биохимические показатели

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Мусаев М. Б., Емельянова Н. Б., Белова Е. Е. Влияние эквиверма-2,0% в повышенных дозах на клиническое состояние организма лошадей // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 319–326.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-319-326>

© Мусаев М. Б., Емельянова Н. Б., Белова Е. Е., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Effects of 2.0% Equiverm in high doses on the clinical state of the horses' organism

Mauldi B. Musaev¹, Nadezhda B. Emelyanova², Elena E. Belova³

¹⁻³All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia

¹vigis-patent@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0523-2308>

²emelyanova13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1920-0363>

³vrach75@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4088-5344>

Abstract

The purpose of the research is to study the effect of the new antiparasitic 2.0% Equiverm in high doses on the clinical state of horses.

Materials and methods. The experiment was conducted on 15 two-year-old crossbred horses weighing up to 300 kg spontaneously infected with *Strongylata*. To determine the effect of the antiparasitic paste on the horses, three groups of five horses each were formed. The first group of the horses was administered 2.0% Equiverm at a therapeutic dose; the second, at a three-fold increased dose, and the third, at a five-fold increased dose (0.2; 0.6 and 1.0 mg/kg for the active substance (AS), and 1.0; 3.0 and 5.0 mL per 100 kg of body weight for the drug). The horses' clinical state was studied using standard methods. Blood samples for the study were taken from the jugular vein before the drug on the first, third and seventh days. The results obtained were statistically processed using the computer tool Microsoft Excel 2007.

Results and discussion. It was found that the antiparasitic paste 2.0% Equiverm had no negative effect on clinical, hematological or biochemical parameters after a single oral administration at a therapeutic, three- and five-fold increased dose (0.2; 0.6 and 1.0 mg/kg for the AS, and 1.0; 3.0 and 5.0 mL per 100 kg of the body weight for the drug).

Keywords: paste, 2.0% Equiverm, Ivermectin, horses, clinical state, hematological parameters, biochemical parameters

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Musaev M. B., Emelyanova N. B., Belova E. E. Effects of 2.0% Equiverm in high doses on the clinical state of the horses' organism. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 319–326. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-319-326>

© Musaev M. B., Emelyanova N. B., Belova E. E., 2022

Введение

За последние годы в России наблюдается тенденция к увеличению поголовья лошадей. Существенным препятствием развития коневодства и повышения их продуктивности являются паразитарные болезни, которые занимают одно из ведущих мест в мире; в отдельных регионах России до 90% лошадей всех возрастов инвазированы гельминтами [1, 4].

К числу основных гельминтов пищеварительного тракта лошадей относятся параскариды (*Parascaris equorum*), большое число нематод сем. Strongylidae и Trichonematidae (в основном, они гематофаги и причиняют боль-

шой вред организму; наиболее патогенными являются *Alfortia edentatus*, *Delafondia vulgaris*, *Strongylus equinus*. Также, патогенным действием обладают личинки различных видов желудочных оводов, локализирующиеся в толстом отделе кишечника, относящиеся к роду *Gastrophilus*, семейству *Gastrophilidae*.

Чаще всего, лошади инвазированы одновременно всеми этими гельминтами, что усугубляет их патогенное воздействие на организм; у взрослых животных снижается работоспособность; заражённые стронгилятами жеребята плохо развиваются; отмечают падёж.

В результате коневодству наносится большой экономический ущерб [6].

Разработка терапевтических средств и мер борьбы с гельминтозами является одним из существенных факторов, способствующих максимальному сохранению и воспроизводству коневодства. Дегельминтизация способствует снижению потерь, наносимых паразитами, и обеспечивает значительный рост производства продукции коневодства, что является актуальной задачей для науки и ветеринарной практики.

Нами в лаборатории экспериментальной терапии (ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) было проведено моделирование рецепта и разработана противопаразитарная паста на основе субстанции ивермектина с пониженным побочным действием для лечения и профилактики породистых и спортивных лошадей при паразитозах [14].

В предыдущих исследованиях были приведены результаты доклинического и клинического изучения пасты эквиверма-2,0%, которая показала высокую противопаразитарную активность. Токсикологические испытания препарата на лабораторных животных указывали на его низкую токсичность. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 паста эквиверма-2,0% относится к 4 классу опасности [7, 8, 12, 13].

Полученные результаты изучения доклинических и клинических исследований явились основанием для дальнейшего изучения пасты эквиверма-2,0%

Целью наших исследований стало изучение влияния нового противопаразитарного препарата эквиверм-2,0% в повышенных дозах на клиническое состояние лошадей.

Материалы и методы

Эксперименты по изучению влияния пасты эквиверма-2,0% на организм лошадей в повышенных дозах проводили в соответствии с международными протоколами ИСН, ОЕСД, ЕАЭС, а также по отечественным ГОСТ и Рекомендациям «ФГБУ НЦЭСМП» по доклиническому изучению инновационного противопаразитарного препарата, а также руководствовались методами ветеринарной клинической лабораторной диагностики и данными по проведению доклинических исследований лекарственных средств [1, 3, 5, 9, 10].

Паста эквиверм-2,0% для орального применения представляет собой межмолекулярный комплекс в виде гелеобразной пасты светло-коричневого цвета с лёгким хвойным запахом и сладковатым вкусом. В качестве действующего вещества в 1 грамме пасты содержится 20 мг ивермектина в растворённом виде, а также вспомогательные компоненты [14].

Опыт проводили летом в совхозе «Терек» Наурского района Чеченской Республики на 15 спонтанно инвазированных стронгилятами пищеварительного тракта (174,0-274,0 экз. яиц/г фекалий) лошадях двухлетнего возраста помесных пород массой тела до 300 кг.

Для определения влияния противопаразитарной пасты на организм лошадей были сформированы три группы по пять лошадей в каждой. Первой группе лошадей эквиверм-2,0% вводили в терапевтической, второй – в три раза и третьей – в пять раз увеличенной дозе (0,2; 0,6 и 1,0 мг/кг по ДВ, по препарату 1,0; 3,0 и 5,0 мл на 100 кг массы тела), однократно орально, выдавливая пасту на корень языка из шприца-дозатора. Лошадям третьей группы из-за большого объёма пасту задавали в два приёма.

В течение опыта все животные находились в денниках с одинаковыми условиями содержания и кормления.

Исследования проводили по общепринятым методам; определяли температуру тела, частоту пульса и дыхания. Отбор крови из яремной вены на гематологические и биохимические исследования проводили до введения препарата, на первые, третьи и седьмые сутки.

Для получения сыворотки кровь дефибрировали встряхиванием сосуда. Определяли 10 наиболее информативных показателей в сыворотке крови на автоматическом анализаторе крови в ветеринарной лаборатории «Айболит Лаб.» (Москва). Определяли уровень аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, креатинина, билирубина, мочевины, общего белка, кальция, фосфора.

Полученные результаты обработали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2007.

Результаты и обсуждение

После дачи пасты эквиверм-2,0% в терапевтической, 3 и 5 раз увеличенной дозе темпера-

тура, пульс и дыхание находились в пределах нормы и не отличались от таковых контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Показатели клинического состояния лошадей до и после введения препарата в терапевтической, 3 и 5 раз увеличенной дозе

[Indicators of the clinical condition of horses before and after administration of the drug in therapeutic, 3- and 5-fold increased dose]

Показатель [Indicator]	Доза, мг/кг [Dose, mg/kg]	Сутки после дачи препарата [A day later give the drug]			
		1	3	7	Контроль [control]
Температура [Temperature], °C	0,2	37,06±7,41	38,04±7,60	38,04±7,60	38,05±7,61
	0,6	38,02±7,60	38,08±7,61	38,08±7,61	37,90±7,58
	1,0	37,04±7,40	38,04±7,60	38,04±7,60	37,92±7,58
Пульс [Pulse], уд./мин	0,2	32,8±6,56	32,4±6,48	32,5±6,50	32,0±6,40
	0,6	34,6±6,92	35,0±7,00	34,9±6,58	34,2±6,84
	1,0	36,1±7,22	36,2±7,24	35,0±7,00	34,8±6,56
Дыхание [Breathing], за 1'	0,2	11,0±2,20	12,7±2,54	12,4±2,48	12,2±2,44
	0,6	11,0±2,20	11,2±2,24	10,4±2,08	10,9±2,18
	1,0	10,0±2,00	12,4±2,48	10,2±2,04	11,2±2,24

Нами установлено, что противопаразитарная паста эквиверм-2,0% в терапевтической, 3 и 5 раза увеличенной дозе не оказывает отри-

цательного влияния на гематологические показатели лошадей (табл. 2). Число эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина и показатели лей-

Таблица 2 [Table 2]

Влияние противопаразитарной пасты эквиверм-2,0% на гематологические показатели лошадей

[Effect of antiparasitic paste equiverm-2.0% on hematological indicators of horses]

Показатель [Indicator]	Доза, мг/кг [Dose, mg/kg]	Сутки после дачи препарата [A day later give the drug]				
		1	3	7	Контроль [control]	
Эритроциты, 10 ¹² /л [Red blood cells, 10 ¹² /l]	0,2	7,0±1,40	6,7±1,34	6,4±1,28	6,4±1,28	
	0,6	6,6±1,32	6,9±1,38	6,2±1,24	6,8±1,36	
	1,0	7,4±1,48	6,7±1,34	6,4±1,28	7,0±1,40	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л [White blood cells, 10 ⁹ /l]	0,2	7,2±1,44	8,9±1,78	11,2±2,24	7,7±1,54	
	0,6	7,7±1,54	8,6±1,72	8,2±1,64	8,0±1,60	
	1,0	7,6±1,52	8,5±1,70	8,5±1,7	8,2±1,64	
Гемоглобин, г/л [Hemoglobin, g/l]	0,2	119,6±23,92	115,4±23,08	110,6±22,12	110,2±22,04	
	0,6	118,0±23,80	118,7±23,74	119,2±23,84	118,3±23,66	
	1,0	117,8±23,56	118,2±23,64	118,8±23,76	118,2±23,64	
Лейкограмма [Leukogram], %	Базофилы [Basophils]	0,2	0,2±0,04	0,2±0,02	0,2±0,02	0,2±0,04
		0,6	0,3±0,06	0,3±0,06	0,2±0,02	0,2±0,04
		1,0	0,4±0,08	0,4±0,08	0,2±0,02	0,3±0,06
	Эозинофилы [Eosinophils]	0,2	3,92±0,78	3,30±0,76	4,00±0,80	4,02±0,80
		0,6	4,40±0,88	4,80±0,96	4,80±0,96	4,70±0,94
		1,0	5,00±1,00	5,50±1,10	5,00±1,00	5,20±1,04
	Юные [Young]	0,2-1,0	-	-	-	-
	Сегментоядерные нейтрофилы [Segmented neutrophils]	0,2	52,50±10,50	52,32±10,46	50,51±10,10	48,60±9,72
		0,6	45,60±10,12	45,40±9,08	44,20±8,84	45,58±9,12
		1,0	44,95±8,99	44,60±8,92	45,90±9,18	44,40±8,88
	Палочкоядерные нейтрофилы [Rod-shaped neutrophils]	0,2	3,22±0,64	3,18±0,64	3,0±0,06	3,29±0,65
		0,6	3,30±0,66	3,20±0,64	3,24±0,65	3,32±0,66
1,0		3,48±0,69	3,30±0,66	3,40±0,68	3,38±0,68	
Лимфоциты [Lymphocytes]	0,2	41,88±8,38	38,6±7,72	42,20±8,44	41,40±8,28	
	0,6	44,20±8,84	44,1±8,82	44,04±8,81	43,60±8,72	
	1,0	43,97±8,79	43,9±8,78	40,2±8,04	43,72±8,74	
Моноциты [Monocytes]	0,2	2,2±0,44	2,4±0,48	2,4±0,48	2,5±0,50	
	0,6	2,2±0,44	2,2±0,44	2,4±0,48	2,6±0,52	
	1,0	2,0±0,44	2,3±0,46	2,6±0,52	3,0±0,60	

кограммы находились в пределах нормы. Фоновые показатели эритроцитов, лейкоцитов, средняя концентрация гемоглобина в начале и конце опыта были в пределах физиологической нормы. При анализе лейкограммы крови не отмечено существенных изменений.

Паста эквиверм-2,0% в терапевтической, 3 и 5 раз увеличенной дозе не оказывала отрица-

тельного влияния на биохимические показатели крови лошадей (табл. 3). Однако, после дачи препарата в 5 раз увеличенной дозе, на 1-е сутки наблюдали незначительное увеличение показателей щелочной фосфатазы и общего белка, которые на 3 и 7-е сутки уже были в пределах нормы. Вероятно, это связано с реакцией организма на введение химического агента.

Таблица 3 [Table 3]

Влияние противопаразитарной пасты на биохимические показатели сыворотки крови лошадей
[Influence of antiparasitic paste on biochemical parameters of blood serum of horses]

Показатель [Indicator]	Доза, мг/кг [Dose, mg/kg]	Сутки после дачи препарата [A day later give the drug]			
		1	3	7	Контроль [control]
АСТ, Ед/л [AST, U/l]	0,2	253,8±31,81	211,2±24,96	235,8±25,18	207±24,31
	0,6	254,2±22,4	282,4±22,0	276,8± 7,0	212,2±27,60
	1,0	290,4±26,4	280,2±25,7	250,0±18,0	222,4±22,0
АЛТ, Ед/л [ALT, U/l]	0,2	10,0±2,50	8,0±1,67	10,1±1,51	12,2±2,20
	0,6	9,80±2,90	9,20±1,80	8,40±2,90	10,4±1,40
	1,0	12,40±2,0	10,80±1,90	9,60±1,72	9,75±1,31
ЩФ, Ед/л [Alkaline phosphatase, U/l]	0,2	228±30,06	215,6±31,35	228,4±32,82	228±30,06
	0,6	290,6±39,1	290,2±34,0	283,1±36,2	230,0±32,2
	1,0	303,0±28,2	290,7±34,4	288,0±38,4	234,2±34,0
Креатинкиназа, Ед/л [Creatine kinase, U/l]	0,2	165,0±6,04	160,1±5,0	166,6±4,32	144,3±4,78
	0,6	177,1±7,72	162,7±6,25	160,8±5,34	150,2±5,20
	1,0	180,4±8,18	179,2±7,75	173,2±6,43	148,8±4,40
Триглицериды, мг/% [Triglycerides, mg/%]	0,2	9,8±0,9	9,8±0,6	9,8±0,6	9,8±0,9
	0,6	9,5±0,9	9,7±0,5	9,8±0,6	
	1,0	9,4±0,8	9,5±0,3	9,7±0,5	
Билирубин общий, мкмоль/л [Total bilirubin, mmol/l]	0,2	15,4±2,56	18,9±1,76	10,3±1,9	18,2±1,38
	0,6	19,0±1,52	18,8±1,20	10,8±1,3	18,6±1,40
	1,0	20,4±2,10	19,0±1,51	10,9±1,3	18,7±1,43
Мочевина, ммоль/л [Urea, mmol/l]	0,2	5,22±0,31	4,80±0,35	3,70±0,33	5,12±0,25
	0,6	5,50±0,33	5,40±0,60	5,40±0,40	5,40±0,30
	1,0	5,62±0,36	5,50±0,60	5,45±0,43	5,52±0,33
Фосфор, ммоль/л [Phosphorus, mmol/l]	0,2	1,96±0,17	2,0±0,20	1,86±0,15	1,95±0,15
	0,6	1,74±0,15	1,74±0,16	1,78±0,16	1,80± 0,14
	1,0	1,72±0,16	1,70±0,15	1,77±0,17	1,84±0,16
Общий белок, г/л [Total protein, g/l]	0,2	66,5±4,4	62,5±4,8	59,4±4,50	69,0±4,3
	0,6	84,0±8,0	76,5±8,2	72,2±7,3	70,8±5,1
	1,0	90,0±8,8	88,6±7,9	73,4±7,1	72,0±5,0
Альбумин, г/л [Albumin, g/l]	0,2	27,10±0,6	27,0±0,6	27,1±0,7	27,2±0,6
	0,6	27,80±0,7	27,4±0,7	27,2±0,6	27,4±0,7
	1,0	28,20±0,7	27,8±0,6	27,4±0,6	27,3±0,6

Заключение

Для обеспечения безопасности применения каждый новый препарат подвергается всестороннему исследованию, одним из этапов которого является выявление влияния этого препарата на клиническое состояние организма лошадей в повышенных дозах. Поэтому эти исследования являются частью общей программы исследований всех новых лекарственных средств.

Доклинические исследования пасты эквиверма-2,0% на лабораторных животных по-

казали, что препарат, в отличие от субстанции ивермектина, менее токсичен, поэтому провели испытание на лошадях [7, 8].

При исследовании клинического состояния лошадей после однократного орального введения пасты эквиверм-2,0% в терапевтической, 3 и 5 раз увеличенной дозе, температура, пульс и дыхание не отличались от таковых у животных контрольной группы.

Противопаразитарная паста эквиверм-2,0% в испытанных дозах не оказала отрицательного

влияния на гематологические и биохимические показатели лошадей. Фоновые показатели эритроцитов, лейкоцитов, средняя концентрация гемоглобина в начале и конце опыта были в пределах физиологической нормы. При анализе лейкограммы крови не отмечено существенных изменений. Однако, после введения пасты эквиверм-2,0% в 5 раз увеличенной дозе на 1-е сутки в сыворотке крови наблюдали незначительное увеличение показателей щелочной фосфатазы и общего белка. Вероятно, это связано с реакцией организма на введение препарата в повышенной дозе. На 3 и 7-е сутки все показатели находились в пределах нормы.

Таким образом, не установлено отрицательного влияния противопаразитарной пасты эквиверм-2,0% при однократном оральном введении в терапевтической, 3 и 5 раз увеличенной дозе (0,2, 0,6 и 1,0 мг/кг по ДВ, по препарату 1, 3 и 5 мл на 100 кг массы животного) на клинические, гематологические и биохимические показатели лошадей.

Список источников

1. Андреева М. В. Аноплосцефалидозы лошадей в условиях республики Саха (Якутия) (биология и меры борьбы): автореф. дис... канд. вет. наук: (Андреева Марина Витальевна, 03.00.19.). М., 1992. 17 с.
2. Архипов И. А. Побочные действия антгельминтиков и эндактоцидов и пути их предотвращения // Ветеринария. 1999. № 12. С. 24-25.
3. Архипов И. А. Антигельминтики: фармакология и применение. М.: Россельхозакадемия, 2009. 405 с.
4. Большакова В. А. Нематодозы пищеварительного канала лошадей Республики Саха (Якутия) и усовершенствование мер борьбы с ними: автореф. дис. ... канд. вет. наук: (Большакова Виктория Афанасьевна, 03.00.19.). М., 1998. 25 с.
5. Веселова Т. П. Современные аспекты изучения токсичности антигельминтиков // Материалы второй Закавказской конференции по паразитологии. Ереван, 1981. С. 64-66.
6. Двойнос Г. М. Стронгилиды (Nematoda: Strongylidae) домашних и диких лошадей: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: (Двойнос Григорий Митрофанович, 03.00.20). Киев, 1993. 39 с.
7. Емельянова Н. Б. Острая пероральная токсичность противопаразитарной пасты с ивермектином // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы докладов научной конференции. М., 2015. Вып. 16. С. 132-133.
8. Емельянова Н. Б. Острая кожная токсичность противопаразитарной пасты с ивермектином и оценка её раздражающего действия на кожу крыс // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы докладов научной конференции. М., 2015. Вып. 16. С. 134-135.
9. Кондрахин И. П., Архипов А. В., Левченко В. И. и др. Методы ветеринарной лабораторной диагностики. Справочник. М.: КолосС, 2004. 520 с.
10. Миронов А. Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
11. Мусаев М. Б., Берсанова Х. И., Вацаев Ш. В., Джамалова А. З., Салгириев И. Р. Комиссионное испытание противопаразитарной пасты на основе ивермектина при основных гельминтозах лошадей. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы докладов международной научной конференции. М., 2017. Вып. 18. С. 289-292.
12. Мусаев М. Б., Вацаев Ш. В., Берсанова Х. И., Джамалова А. З. и др. Испытание противопаразитарной пасты на основе ивермектина при основных гельминтозах лошадей в условиях производства // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы докладов международной научной конференции. М., 2017. Вып. 18. С. 285-288.
13. Мусаев М. Б., Бундина Л. А., Емельянова Н. Б., Абрамов В. Е., Балышев А. В., Абрамов С. В., Кочетков П. П., Абрамова Е. В. Фармакокинетика ивермектина в организме лошадей после применения противопаразитарной пасты эквиверм // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 2. С. 53-61. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-2-53-61>
14. Мусаев М. Б., Шумакович И. Е., Архипов И. А., Абрамов В. Е., Емельянова Н. Б. Способ получения средства для лечения однокопытных при паразитозах. Патент № 2681214, 05.03. 2019 г., Бюл. № 7.

Статья поступила в редакцию 25.03.2022; принята к публикации 25.06.2022

Об авторах:

Мусаев Маулди Баудинович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0002-0523-2308, vigis-patent@yandex.ru

Емельянова Надежда Борисовна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0003-1920-0363, emelyanova13@mail.ru

Белова Елена Евгеньевна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0003-4088-5344, vrach75@inbox.ru

Вклад соавторов:

Мусаев Маулди Баудинович – подбор хозяйства, проведение научно-исследовательской работы, анализ полученных результатов, подготовка статьи.

Емельянова Надежда Борисовна – проведение научно-исследовательской работы, анализ полученных результатов, подготовка статьи.

Белова Елена Евгеньевна – гематологические и биохимические исследования, анализ полученных результатов, подготовка статьи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Andreeva M. V. Anoplocephala infections of horses in the conditions of the Republic of Sakha (Yakutia) (biology and control measures): autoref. dis. ... Cand. Sc. Vet.: (Marina V. Andreeva, 03.00.19.). Moscow, 1992; 17. (In Russ.)
2. Arkhipov I. A. Side effects of anthelmintics and endectocides and preventive methods. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 1999. 12: 24-25. (In Russ.)
3. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. Moscow: Russian Agricultural Academy, 2009; 405. (In Russ.)
4. Bolshakova V. A. Gastrointestinal nematodes of horses in the Republic of Sakha (Yakutia) and improvement of control measures: autoref. dis. ... Cand. Sc. Vet.: (Victoria A. Bolshakova, 03.00.19.). Moscow, 1998; 25. (In Russ.)
5. Veselova T. P. Modern aspects of the study of anthelmintic toxicity. *Materialy vtoroy Zakavkazskoy konferentsii po parazitologii = Proceedings of the Second Transcaucasian Conference on Parasitology*. Yerevan. 1981; 64-66. (In Russ.)
6. Dvoynos G. M. Strongylids (Nematoda: Strongylidae) of domestic and wild horses: autoref. dis. ... Dr. Sc. Biol.: (Grigory M. Dvoynos, 03.00.20). Kiev, 1993; 39. (In Russ.)
7. Emelyanova N. B. Acute oral toxicity of the antiparasitic paste with ivermectin. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*»: *materialy dokladov nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": materials of the reports of the scientific conference*. Moscow, 2015; 16: 132-133. (In Russ.)
8. Emelyanova N. B. Acute skin toxicity of the antiparasitic paste with ivermectin and evaluation of its irritating effect on the skin of rats. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*»: *materialy dokladov nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": materials of the reports of the scientific conference*. Moscow, 2015; 16: 134-135. (In Russ.)
9. Kondrakhin I. P., Arkhipov A. V., Levchenko V. I. et al. Methods of veterinary laboratory diagnostics. Directory. Moscow: KolosS, 2004; 520. (In Russ.)
10. Mironov A. N. et al. Guidelines for preclinical studies of medicinal products. Moscow: Grif & K, 2012; 944. (In Russ.)
11. Musaev M. B., Bersanova Kh. I., Vatsaev Sh. V., Dzhamalova A. Z., Salgiriev I. R., Commission test of the ivermectin-based antiparasitic paste against main helminth infections of horses. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*»: *materialy dokladov mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": materials of reports of the international scientific conference*. Moscow, 2017; 18: 289-292. (In Russ.)
12. Musaev M. B., Vatsaev Sh. V., Bersanova Kh. I., Dzhamalova A. Z. et al. Testing of the ivermectin-

- based antiparasitic paste against main helminth infections of horses under production conditions. «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»: materialy dokladov mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": materials of reports of the international scientific conference. Moscow, 2017; 18: 285-288. (In Russ.)
13. Musaev M. B., Bundina L. A., Yemelyanova N. B., Abramov V. E., Balyshov A. V., Abramov S. V., Kochetkov P. P., Abramova E. V. Ivermectin pharmacokinetics in horses organism after the application of Equiverm antiparasitic paste. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12 (2): 53–61. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-2-53-61>
14. Musaev M. B., Shumakovich I. E., Arkhipov I. A., Abramov V. E., Emelyanova N. B. Method for obtaining a medication to treat one-hoofed animals against parasitosis. Patent No. 2681214, 05 March 2019, Bulletin No. 7.

The article was submitted 25.03.2022; accepted for publication 25.06.2022

About the authors:

Musaev Mauldi B., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia), Moscow, Russia, Dr. Sc. Vet., ORCID ID: 0000-0002-0523-2308, vigis-patent@yandex.ru

Emelyanova Nadezhda B., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0003-1920-0363, emelyanova13@mail.ru

Belova Elena E., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Dr. Sc. Vet., ORCID ID: 0000-0003-4088-5344, vrach75@inbox.ru

Contribution of co-authors:

Musaev Mauldi B. – selection of the farm, research work, analysis of the results obtained, article preparation.

Emelyanova Nadezhda B. – research work, analysis of the results obtained, article preparation.

Belova Elena E. – hematological and biochemical studies, analysis of the results obtained, article preparation.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:615.065

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-327-334>

Изучение острой токсичности и кумулятивных свойств комплексного препарата на основе имидаклоприда, пирипроксифена и моксидектина

Оксана Николаевна Точиева¹, Михаил Владимирович Арисов²

¹ Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»), Москва, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹ tochieva@vgnki.ru

² director@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2103-8468>

Аннотация

Цель исследований – изучение острой пероральной и кожной токсичности, кумулятивных свойств комплексного препарата на основе имидаклоприда, пирипроксифена и моксидектина на мышах и крысах.

Материалы и методы. Исследования проводили в соответствии с Методическими рекомендациями Фармакологического государственного комитета в 2021 г. в виварии ВНИИП - филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Изучены острая пероральная и кожная токсичность, а также кумулятивные свойства комплексного препарата в форме раствора для наружного применения, содержащего в качестве действующих веществ имидаклоприд, пирипроксифен и моксидектин. При изучении токсикологической характеристики препарата использовали белых беспородных мышей-самцов и крыс-самцов. При изучении острой пероральной токсичности на мышах и крысах, острой кожной токсичности на крысах и кумулятивных свойств опытного образца препарата на мышах использовали общепринятые методики.

Результаты и обсуждение. ЛД₅₀ препарата опытного образца препарата при пероральном введении мышам составила 800 мг/кг массы животного, для крыс – 2520±916,7 мг/кг. С учетом установленных значений среднесмертельных доз, согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) препарат отнесли к 3 классу опасности. При изучении острой кожной токсичности на крысах ЛД₅₀ препарата превышает максимально возможную дозу 10000 мг/кг. Согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) препарат отнесли к 4 классу опасности. Коэффициент кумуляции составил 8,25, что позволяет отнести препарат к группе веществ со слабо выраженной кумулятивной активностью.

Ключевые слова: имидаклоприд, пирипроксифен, моксидектин, Инсакар Тотал С, Инсакар Тотал К, острая пероральная токсичность, острая кожная токсичность, кумулятивные свойства, мыши, крысы

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Точиева О. Н., Арисов М. В. Изучение острой токсичности и кумулятивных свойств комплексного препарата на основе имидаклоприда, пирипроксифена и моксидектина // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 327–334.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-327-334>

© Точиева О. Н., Арисов М. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Study of the acute toxicity and cumulative properties of the combined drug based on imidacloprid, pyriproxyfen and moxidectin

Oksana N. Tochieva¹, Mikhail V. Arisov²

¹Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality (FGBU "VGNKI"), Moscow, Russia

²All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia

¹tochieva@vgnki.ru

²director@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2103-8468>

Abstract

The purpose of the research is the study of acute oral and dermal toxicity, and cumulative properties of the combined drug based on imidacloprid, pyriproxyfen and moxidectin on mice and rats.

Materials and methods. The studies were conducted as provided by the Guidelines of the State Pharmacological Committee, in the VNIIP – FSC VIEV vivarium in 2021. We studied the acute oral and dermal toxicity, as well as cumulative properties of the combined drug in the form of a solution for external use that contains imidacloprid, pyriproxyfen and moxidectin as active substances. Outbred male mice and male rats were used in studying toxicological characteristics of the drug. General methods were used in studying the acute oral toxicity in the mice and rats, acute dermal toxicity in the rats and cumulative properties of the prototype product in the mice.

Results and discussion. The LD₅₀ of the prototype product was 800 mg/kg of the animal weight when administered orally to the mice, and 2520±916.7 mg/kg, to the rats. Subject to the established median lethal doses, the drug was classified as the 3rd hazard class according to the general hygienic classification (GOST 12.1.007-76). When studying the acute dermal toxicity in the rats, the LD₅₀ of the drug exceeded the maximum possible dose of 10,000 mg/kg. According to the general hygienic classification (GOST 12.1.007-76), the drug was classified as the 4th hazard class. The accumulation factor was 8.25, in which case the drug can be classified as the group of substances with weak cumulative activity.

Keywords: imidacloprid, pyriproxyfen, moxidectin, Insacar Total S, Insacar Total K, acute oral toxicity, acute dermal toxicity, cumulative properties, mice, rats

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Tochieva O. N., Arisov M. V. Study of the acute toxicity and cumulative properties of the combined drug based on imidacloprid, pyriproxyfen and moxidectin. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 327–334. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-327-334>

© Tochieva O. N., Arisov M. V., 2022

Введение

Разработка комплексных противопаразитарных препаратов с широким спектром действия, без сомнения, является актуальной задачей ветеринарной науки и практики. Использование двух и более действующих веществ с разным механизмом действия при разработке комплексных противопаразитарных лекарственных средств позволяет повысить эффективность и

спектр действия на различные виды возбудителей паразитозов и их стадии развития, но также снизить вероятность развития устойчивости особей паразитов к применяемым препаратам.

Однако, при комбинации нескольких действующих веществ следует учитывать токсикологические свойства комплексного препарата и возможное их токсическое воздействие на животных [1, 2].

На базе Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН были разработаны два препарата в форме раствора для наружного применения на основе имидаклоприда, пирипроксифена и моксидектина для собак и для кошек с рабочим названием Инсакар Тотал С и Инсакар Тотал К. Отличием препаратов является содержание 1% моксидектина в препарате для кошек и 2,5% в препарате для собак.

Имидаклоприд относится к группе хлороникотиновых инсектицидов, механизм действия которых основан на взаимодействии с ацетилхолиновыми рецепторами членистоногих и нарушении передачи нервных импульсов, что приводит к гибели насекомых [5]. Субстанция имидаклоприд малотоксична для крыс при острой накожной токсичности, не обладает раздражающим и аллергизирующим действием на дыхательные пути, на кожу крыс и слизистые оболочки глаз кроликов [3, 4]. Имидаклоприд не обладает тератогенной, мутагенной активностью и канцерогенными свойствами. Эмбриотоксический эффект наблюдают только при введении токсических доз препарата [3].

Пирипроксифен – пестицид, инсектоакарицид кишечного и контактного действия из группы аналогов ювенильного гормона, регулирующего рост и развитие насекомых [7]. Острая оральная токсичность пирипроксифена (LD_{50}) для крыс составляет более 5000 мг/кг. Не обладает репродуктивной и тератогенной токсичностью [8].

Моксидектин – полусинтетическое соединение группы милбемицинов (макроциклические лактоны), оказывая стимулирующее действие на выделение гамма-аминомасляной кислоты и, связываясь с постсинаптическими рецепторами, вызывает нарушение мышечной иннервации, паралич и гибель эктопаразитов и нематод [5, 6]. При введении моксидектина в желудок мышам LD_{50} составляет 106 мг/кг, накожно – более 2000 мг/кг (3 класс опасности) [13]. Имеется наличие слабого сенсibilизирующего действия. Основными признаками отравления моксидектином являются коматозное состояние, рвота, анорексия, атаксия, судороги, понос, лихорадка, гиперсаливация.

Возможен летальный исход [9]. Максимальная безвредная суточная доза моксидектина для животных – 0,3 мг/кг [12]. У крыс в дозе более 2,5 мг/кг он оказывает тератогенное и эмбриотоксическое действие. Вещество не имеет генотоксического потенциала [11].

Основной целью работы стало изучение острой пероральной и накожной токсичности, кумулятивных свойств лекарственного препарата для ветеринарного применения на основе имидаклоприда, пирипроксифена и моксидектина.

Материалы и методы

Для изучения параметров острой пероральной токсичности экспериментального образца были сформированы 4 опытные группы белых беспородных мышей-самцов массой тела 20–25 г и 1 контрольная (по 10 мышей в каждой); 4 опытные группы белых беспородных крыс-самцов массой тела 191–211 г и 1 контрольная (по 10 крыс в каждой). Контрольной группе животных задавали физиологический раствор. Препарат вводили однократно без разведения в виде раствора с помощью желудочного зонда в дозах для мышей: 270; 540; 1080 и 2160 мг/кг (или 2,5; 5; 10 и 20 мкл на 10 г массы тела), для крыс – 540; 1080; 3240 и 4320 мг/кг (или 0,05; 0,1; 0,3 и 0,4 мл на 100 г массы тела). В течение 14 сут вели наблюдение за общим состоянием и поведением животных, проявлением симптомов интоксикации, возможной гибелью.

Для изучения параметров острой накожной токсичности препарата были сформированы две опытные группы белых беспородных крыс-самцов массой тела 223–242 г. Третья группа служила чистым контролем и им препарат не применяли. В каждой группе находилось по 6 особей. Перед применением препарата крысам машинкой для стрижки выстригали шерстный покров площадью 6 х 6 см в области спины. Опытным крысам препарат наносили однократно без разведения в дозах 5000 и 10 000 мг/кг (или 0,5 и 1,0 мл на 100 г массы животного).

После нанесения препарата каждого животного помещали в индивидуальную клетку на 20 минут для полного впитывания препарата и предотвращения его слизывания другими животными. Животным контрольной группы на-

носили физиологический раствор. В течение 14 сут вели наблюдение за клиническим состоянием животных, их массой тела, признаками местной кожной реакции, возможной гибелью, а также проявлением симптомов интоксикации.

Кумулятивные свойства изучали методом Лима и соавт. (1961) (тест субхроническая токсичность). Опыт проводили на 60 белых мышах-самках живой массой 19–20 г, которые по принципу аналогов были разделены на группы по 30 мышей в каждой. Животные первой группы получали испытуемый препарат, животные второй группы служили контролем. Препарат вводили животным ежедневно, индивидуально, алиментарным путем при помощи шприца с оливой. Контрольной группе животных вводили физиологический раствор. Все животные содержались на стандартном корме, одинаковом для обеих групп. В течение первых четырех дней животные опытной группы получали препарат в дозе, равной 0,1 ЛД₅₀ или 0,08 мл/кг. Через каждые четыре дня, на пятый дозу увеличивали в 1,5 раза. В течение опыта вели наблюдение за животными, отмечали их смертность.

Результаты и обсуждение

При изучении пероральной токсичности препарата на мышах клинические признаки интоксикации регистрировали во всех дозах на вторые сутки после введения, а выраженность картины интоксикации находилась в

прямой зависимости от величины вводимой дозы. Кроме того, затяжной падеж в течение 1–5 суток наблюдали во всех дозах, вызывающих гибель.

Доза 270 мг/кг не вызывала гибель мышей. Однако, животные имели неопрятный внешний вид, отказывались от корма и воды в течение двух суток. В дозе 540 мг/кг животные были угнетены, отказывались от корма и воды. В течение 14 сут наблюдения пало 4 особи в группе. В дозах 1080 и 2160 мг/кг мыши также находились в угнетенном состоянии, у них отсутствовал аппетит, у некоторых отмечен тремор, спазмы и вздутие брюшной полости, судороги. В дозе 1080 мг/кг пало 6 особей, а доза 2160 мг/кг вызвала 100%-ный падеж. Результаты перорального введения препарата белым беспородным мышам приведены в таблице 1.

По результатам некропсии, патологоанатомические изменения у животных после дачи препарата во всех дозах были идентичны: кровоизлияния в желудке, вздутие кишечника, воспаление и отек слизистой оболочки тонкого отдела, а также локальные очаги имбибиции и расширенные кровенаполненные сосуды всех отделов кишечника.

С помощью метода Миллера, Тейнтера были рассчитаны параметры острого токсического действия (табл. 2).

ЛД₅₀ препарата при пероральном введении мышам составила 800 мг/кг массы животного. С учетом установленного значения ЛД₅₀, со-

Таблица 1 [Table 1]

Общее число мышей (павших/выживших) после перорального введения препарата
[Total number of mice (dead/survived) after oral administration of the drug]

Доза, мг/кг [Dose, mg/kg]	Доза, мкл/10 г [Dose, µl/10 g]	Общее число животных (павших/выживших) [Total number of animals (dead /survivors)]
270	2,5	0/10
540	5	4/6
1080	10	6/4
2160	20	10/0
Контроль [Control]	Интактный [Intact]	0/10

Таблица 2 [Table 2]

Параметры острого токсического действия препарата при внутрижелудочном введении мышам (мг/кг)
[Parameters of the acute toxic effect of the drug when administered intragastrically to mice (mg/kg)]

ЛД ₀	ЛД ₁₆	ЛД ₅₀	ЛД ₈₄	ЛД ₁₀₀
270	400	800 (550÷1050)	1200	2160

гласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76) препарат отнесли к 3 классу опасности.

В результате проведенных исследований на крысах было установлено, что клинические признаки интоксикации регистрировали во всех дозах на вторые сутки после введения, а выраженность картины интоксикации находилась в прямой зависимости от величины вводимой дозы. Кроме того, затяжной падеж наблюдали на 4–5-е сутки во всех дозах, вызывающих гибель.

Доза 540 мг/кг не вызывала гибель крыс, однако животные имели аномальный внешний

вид (поникшая голова, подведенный живот, сгорбленная поза), отказывались от корма и воды в течение 2 сут. В дозе 1080 мг/кг животные были угнетены, отказывались от корма и воды. В течение 14 сут наблюдения пало две крысы в группе. В дозах 3240 и 4320 мг/кг крысы также находились в угнетенном состоянии, у них отсутствовал аппетит, у некоторых отмечены тремор, спазмы и вздутие брюшной полости, судороги. В дозе 3240 мг/кг пало три особи, а доза 4320 мг/кг вызвала 100%-ный падеж по группе. Результаты перорального введения препарата белым беспородным крысам-самцам приведены в таблице 3.

Таблица 3 [Table 3]

Общее число крыс (павших/выживших) в результате перорального введения препарата
 [Total number of rats (dead/survived) after oral administration of the drug]

Доза, мг/кг [Dose, mg/kg]	Доза, мкл/10 г [Dose, µl/10 g]	Общее число животных (павших/выживших) [Total number of animals (dead /survivors)]
540	0,05	0/6
1080	0,1	2/4
3240	0,3	3/3
4320	0,4	6/0
Контроль [Control]	Интактный [Intact]	0/6

Всех павших животных подвергали некропсии. При вскрытии павших животных во всех дозах наблюдали: вздутие кишечника, воспаление и отек слизистой оболочки тонкого отдела, а также кровенаполненные сосуды

всех отделов кишечника. В дозе 4320 мг/кг отмечали некроз стенки желудка.

На основании полученных данных рассчитали ЛД₅₀ методом Кербера (табл. 4).

Таблица 4 [Table 4]

Среднесмертельная доза препарата, рассчитанная по методу Кербера
 [The average lethal dose of the drug, calculated by the Kerber method]

Доза, мг/кг	540	1080	3240	4320
Выжило	6	4	3	0
Пало	0	2	3	6
z	1,0	2,5	4,5	
d	540	2160	1080	
z × d	540	5400	4860	

Среднесмертельная доза препарата при пероральном введении крысам составила 2520 мг/кг массы тела. Согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат отнесли к 3 классу опасности.

При изучении острой накожной токсичности на крысах общее состояние животных было стабильным и удовлетворительным, изменений в поведении не отмечали, аппетит и жажда – в норме, судорог не было; координа-

ция в пространстве была естественной; тонус скелетных мышц и мускулатуры соответствовал норме; реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители была адекватной; частота сердечных сокращений (ЧСС)

и частота дыхательных движений (ЧДД) изменены не были.

Полученные результаты изучения накожного нанесения препарата крысам приведены в таблице 5.

Таблица 5 [Table 5]

Результаты накожного нанесения препарата крысам

[The results of skin application of the drug to rats]

Доза, мг/кг [Dose, mg/kg]	Доза, мкл/10 г [Dose, µl/10 g]	Общее число животных (павших/выживших) [Total number of animals (dead /survivors)]
5000	0,5	0/6
10000	1,0	0/6
Контроль [Control]	Интактный [Intact]	0/6

Во всех дозах падежа животных не регистрировали. Кроме того, признаков интоксикации не наблюдали за весь период опыта (14 сут).

Необходимо отметить, что доза 10000 мг/кг оказалась максимально возможной для аппликации на кожу крысам. С учетом этого ограничивающего фактора ЛД₅₀ препарата будет превышать дозу 10 000 мг/кг. Согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат отнесли к 4 классу опасности.

Для выявления возможности хронических отравлений животных были изучены кумулятивные свойства опытного образца препарата в подостром опыте на мышах.

Суммарная доза (ЛД₅₀ – многократная), вызвавшая 50%-ную гибель мышей (на 24-е сутки), равнялась 6600 мг/кг. Разделив эту величину на ЛД₅₀ при однократном введении (800 мг/кг), получили коэффициент кумуляции, равный 8,25. Согласно классификации Л. И. Медведя с соавт. [4], препарат относится к группе веществ со слабо выраженной кумулятивной активностью.

Заключение

В результате исследования острой токсичности препарата при введении в желудок лабораторным животным ЛД₅₀ составила для мышей 800 мг/кг массы тела, для крыс – 2520 мг/кг. При изучении острой накожной токсичности на крысах ЛД₅₀ препарата превышает максимально возможную дозу 10 000 мг/кг.

Согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат относится к 3 классу опасности при введении в желудок и к 4 классу опасности при нанесении на кожу. Коэффициент кумуляции составил 8,25, т. е. препарат обладает слабо выраженной кумулятивной активностью.

Список источников

1. Арисов М. В., Белых И. П., Артемов В. В. Инспектор Квадро – комплексный препарат для лечения экто- и эндопаразитозов у собак и кошек // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 2. С. 75–84. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-2-75-84>
2. Арисов М. В., Индюхова Е. Н., Кошкарев Е. А., Арисова Г. Б. Оценка безопасности комбинированного препарата для ветеринарного применения в форме капель («spot on») «Неотерика Протекто 4» // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2018. Т. 234 (2). С. 22–30.
3. Бойко Т. В., Герунова Л. К., Герунов В. И., Гонихова М. Н. Токсикологическая характеристика неоникотиноидов // Омский научный вестник. 2015. № 4 (20). С. 49–54.
4. Ермолова Л. В., Проданчук Н. Г., Жминько П. Г. и др. Сравнительная токсикологическая характеристика новых неоникотиноидных инсектицидов // Современные проблемы токсикологии. 2004. № 2. С. 4–7.
5. Медведь Л. И., Каган Ю. С., Спыну Е. И. Пестициды и проблема здравоохранения // Вестник Всесоюзного химического общества им. Менделеева. 1968. Т. 13, № 3. С. 263–271.

6. Пламб Д. К. Фармакологические препараты в ветеринарной медицине: пер. с англ. / под ред. Е. И. Осипова. М.: Аквариум ЛТД, 2002. 856 с.
7. Campbell W. C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012; 13 (6): 853-865.
8. Fiaz M., Martinez L. C., Plata-Rueda A., Goncalves W. G. et al. Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. *PeerJ*. 2019; 4;7:e7489. doi: 10.7717/peerj.7489
9. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO). Pesticide residues in food: 1999 / report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticides Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues, Rome, Italy, 20-29 September 1999; 293.
10. Lee V. K., Tiwary A. K., Sharma-Reddy P., Lieber K. A. et al. Moxidectin toxicity in senescence-accelerated prone and resistant mice. *Comparative medicine*. 2009; 59 (3): 227-233.
11. Proposed Registration Decision (PRD2016-22). Imidacloprid. 2016; 56. Available from: https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/cps-spc/alt_formats/pdf/pest/part/consultations/_prd2016-22/prd2016-22-eng.pdf.
12. Schulze G. E. Chronic toxicity study: study No. HWA 362-200 one-year dietary toxicity study in purebred beagle dogs. Freedom of Information (FOI) NADA 141-051. Hazelton Washington, Inc. Vienna, Virginia 22182, 1997; 17.
13. Vercruyse J., Rew R. S. Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy. CAB International. 2002; 464.
14. Wagner R., Wendlberger U. Field efficacy of moxidectin in dogs and rabbits naturally infested with *Sarcoptes* spp., *Demodex* spp. and *Psoroptes* spp. mites. *Veterinary parasitology*. 2000; 93: 149-58.

Статья поступила в редакцию 14.04.2022; принята к публикации 15.07.2022

Об авторах:

Точиева Оксана Николаевна, Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ») (123022, Москва, Звенигородское шоссе, 5), Москва, Россия, соискатель, tochieva@vgnki.ru

Арисов Михаил Владимирович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор РАН, ORCID ID: 0000-0002-2103-8468, director@vniigis.ru

Вклад соавторов:

Точиева Оксана Николаевна – развитие методологии, критический анализ материалов и формирование выводов.

Арисов Михаил Владимирович – разработка дизайна исследования, анализ полученных результатов исследования.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Arisov M. V., Belykh I. P., Artemov V. V. Inspector Quadro – the complex of preparation for the treatment of ectoand endoparasitoses in cats and dogs. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12 (2):75–84. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-2-75-84>
2. Arisov M. V., Induyhova E. N., Koshkarev E. A., Arisova G. B. Safety assessment of the combined drug for veterinary use Neoterica Protecto 4 in the form of drops ("spot on"). *Uchenyye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N. E. Bauman = Proceedings of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman*. 2018; 234 (2): 22-30. (In Russ.)
3. Boyko T. V., Gerunova L. K., Gerunov V. I., Gonokhova M. N. Toxicological characteristics of neonicotinoids. *Omskiy nauchnyy vestnik = Omsk Scientific Bulletin*. 2015; 4 (20): 49-54. (In Russ.)
4. Ermolova L. V., Prodanchuk N. G., Zhminko P. G. et al. Comparative toxicological characteristics of new neonicotinoid insecticides. *Sovremennyye problemy toksikologii = Current issues of toxicology*. 2004; 2: 4-7. (In Russ.)
5. Medved L. I., Kagan Yu. S., Spynu E. I. Pesticides and the public health issue. *Vestnik Vsesoyuznogo khimicheskogo obshchestva im. Mendeleeva = Bulletin of the All-Union Mendeleev Chemical Society*. 1968; 13 (3): 263-271. (In Russ.)
6. Plumb D. K. Pharmacological preparations in veterinary medicine: translated from English / edited by E. I. Osipov. Moscow: Aquarium LTD, 2002; 856.
7. Campbell W. C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic

- lactone antiparasitic agents. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012; 13 (6): 853-865.
8. Fiaz M., Martinez L. C., Plata-Rueda A., Goncalves W. G. et al. Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. *PeerJ*. 2019; 4:7:e7489. doi: 10.7717/peerj.7489
 9. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO). Pesticide residues in food: 1999 / report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticides Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues, Rome, Italy, 20-29 September 1999; 293.
 10. Lee V. K., Tiwary A. K., Sharma-Reddy P., Lieber K. A. et al. Moxidectin toxicity in senescence-accelerated prone and resistant mice. *Comparative medicine*. 2009; 59 (3): 227-233.
 11. Proposed Registration Decision (PRD2016-22). Imidacloprid. 2016; 56. Available from: https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/cps-spc/alt_formats/pdf/pest/part/consultations/_prd2016-22/prd2016-22-eng.pdf.
 12. Schulze G. E. Chronic toxicity study: study No. HWA 362-200 one-year dietary toxicity study in purebred beagle dogs. Freedom of Information (FOI) NADA 141-051. Hazelton Washington, Inc. Vienna, Virginia 22182, 1997; 17.
 13. Vercruysse J., Rew R. S. Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy. CAB International. 2002; 464.
 14. Wagner R., Wendlberger U. Field efficacy of moxidectin in dogs and rabbits naturally infested with *Sarcoptes* spp., *Demodex* spp. and *Psoroptes* spp. mites. *Veterinary parasitology*. 2000; 93: 149-58.

The article was submitted 14.04.2022; accepted for publication 15.07.2022

About the authors:

Tochieva Oksana N., Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality (FGBU "VGNKI") (5 Zvenigorodskoe shosse, Moscow, 123022), Moscow, Russia, Candidate of the academic degree, tochieva@vgnki.ru

Arisov Mikhail V., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Dr. Sc. Vet., RAS Professor, ORCID ID: 0000-0002-2103-8468, director@vniigis.ru

Contribution of co-authors:

Tochieva Oksana N. – methodology development, critical analysis of materials and conclusion generation.

Arisov Mikhail V. – academic supervision, review of studies on the issue, critical analysis of materials and conclusion generation.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:616.995.1-085

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-335-340>

Оценка эффективности антигельминтиков из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота

Иван Алексеевич Архипов¹, Анастасия Ивановна Варламова²,
Александр Валерьевич Радионов³

¹⁻³Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹arkhipovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

²arsphoeb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8364-5055>

³alexander.radionov@nutreco.com

Аннотация

Цель исследований – изучить эффективность антигельминтиков из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Оценка эффективности препаратов из класса бензимидазолов на ранние стадии развития нематод пищеварительного тракта проводили в хозяйствах Московской области, неблагополучных по нематодозам, на 58 бычках в возрасте 12–18 мес., спонтанно инвазированных стронгилятами пищеварительного тракта. Животных взвешивали, нумеровали и разделили на опытные и контрольные группы по 7–10 голов в каждой. Бычкам разных опытных групп назначали перорально однократно в дозе 7,5 мг/кг по ДВ панакур, фебтал, фенбендазол (субстанцию), альбен, альвет, вальбазен, клозальбен и альбендазол 10%-ный порошок. Животные контрольной группы препарат не получали. Эффективность препаратов учитывали в опытах типа «контрольный тест» по результатам копроовоскопических исследований по методу флотации с использованием счетной камеры ВИГИС, а также по результатам гельминтологических вскрытий пищеварительного тракта животных по 3–5 голов с каждой группы. Эффективность препаратов учитывали согласно «Руководству, одобренному Всемирной Ассоциацией за прогресс ветеринарной паразитологии (1995). Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Установлена 94,4–97,2%-ная эффективность препаратов на основе бензимидазолов – панакура, фебтала, альбена, альвета, вальбазена и клозальбена в терапевтических дозах против имагинальных стронгилят пищеварительного тракта и 44,2–69,2%-ная активность против личинок нематод.

Ключевые слова: антигельминтики, бензимидазолы, эффективность, стронгилята, бычки

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Архипов И. А., Варламова А. И., Радионов А. В. Оценка эффективности антигельминтиков из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 335–340.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-335-340>

© Архипов И. А., Варламова А. И., Радионов А. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Evaluation of the efficacy of benzimidazole anthelmintics against different stages of gastrointestinal nematodes of young cattle

Ivan A. Arkhipov¹, Anastasiya I. Varlamova², Aleksandr V. Radionov³

¹⁻³All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia

¹arkhipovhelm@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5165-0706>

²arsphoeb@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8364-5055>

³alexander.radionov@nutreco.com

Abstract

The purpose of the research is to study the efficacy of benzimidazole anthelmintics against different development stages of gastrointestinal nematodes of young cattle.

Materials and methods. The efficacy of benzimidazole drugs against early development stages of gastrointestinal nematodes was evaluated on 58 male calves aged 12–18 months spontaneously infected with gastrointestinal strongylates on the Moscow Region farms contaminated by nematode parasites. The animals were weighed, numbered and divided into experimental and control groups of 7–10 animals each. The male calves from different experimental groups were orally administered Panacur, Febtal, Fenbendazole (substance), Alben, Alvet, Valbazen, Closalben and Albendazole 10% powder once at a dose of 7.5 mg/kg for the active substance. The control animals did not receive the drug. The drug efficacy was recorded in the experiments of the “control test” type based on the coproscopic examination results by the flotation method using a VIGIS counting chamber, and on the results of helminthological dissections of the digestive tract of 3–5 animals from each group. The drug efficacy was recorded as per the Guidelines Approved by the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (1995). The results were processed statistically using the Microsoft Excel computer tool.

Results and discussion. We established the 94.4–97.2% efficacy of the drugs based on benzimidazoles, namely, Panacur, Febtal, Alben, Alvet, Valbazen and Closalben in therapeutic doses against imaginal gastrointestinal strongylates and 44.2–69.2% activity against nematode larvae.

Keywords: anthelmintics, benzimidazoles, efficacy, Strongylata, male calves

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Arkhipov I. A., Varlamova A. I., Radionov A. V. Evaluation of the efficacy of benzimidazole anthelmintics against different stages of gastrointestinal nematodes of young cattle. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 335–340. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-335-340>

© Arkhipov I. A., Varlamova A. I., Radionov A. V., 2022

Введение

Одним из резервов повышения продуктивности крупного рогатого скота является предотвращение экономического ущерба, причиняемого нематодами вследствие падежа и значительного снижения темпов роста, развития молодняка, а также количества и качества продукции [3, 6, 8, 9].

По нашим данным, в последние годы нематодозы в средней полосе России получили

широкое распространение, что, по-видимому, обусловлено рядом антропогенных факторов, в том числе нежеланием или неспособностью владельцев животных проводить лечебно-профилактические мероприятия из-за скудного финансового положения. Государство не финансирует проведение плановых профилактических дегельминтизаций.

Одним из основных методов борьбы с нематодозами крупного рогатого скота является

химиотерапия с применением высокоэффективных препаратов. Для этого часто используют препараты из класса бензимидазол карбаматов: фенбендазол и альбендазол [2, 12, 16]. Препараты в дозе 7,5 мг/кг по ДВ обладают высокой эффективностью против имагинальных стронгилят пищеварительного тракта [1, 2, 7, 10]. Однако, данные по их эффективности на личиночные стадии нематод весьма ограничены.

В связи с этим, целью наших исследований было изучение эффективности лекарственных форм фенбендазола и альбендазола на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота.

Материалы и методы

Оценку эффективности препаратов из класса бензимидазолов на разные стадии развития нематод пищеварительного тракта проводили в 2009–2010 гг. в разных хозяйствах Московской области, неблагополучных по нематодозам, на 58 головах молодняка крупного рогатого скота. В опыты подбирали спонтанно инвазированных животных по результатам исследований проб фекалий методом флотации с учетом числа яиц нематод в 1 г фекалий. Животных взвешивали, нумеровали и разделяли на подопытные и контрольные группы по 7–10 голов в каждой.

Крупному рогатому скоту подопытных групп назначали перорально однократно препараты на основе фенбендазола в дозе 7,5 мг/кг: панакур производства фирмы «ВИК» в форме 22,2%-ного гранулята, фебтал производства фирмы «Агроветзащита» в форме 22,2%-ного гранулята, а также фенбендазол в форме субстанции 99%-ного порошка производства КНР.

Препараты на основе альбендазола испытывали в дозе 7,5 мг/кг по ДВ однократно перорально при даче с концентрированным кормом: альбен производства фирмы «Агроветзащита» в форме 10%-ного гранулята, альвет («Нита-Фарм») в форме 10%-ного гранулята, вальбазен («Пфайзер», США) в форме 2,5%-ной суспензии, клозальбен («ВИК») в форме 5%-ного порошка, альбендазол («Веттрейд») в форме 10%-ного порошка. Животные контрольной группы препарат не получали.

Эффективность препаратов учитывали в опытах типа «контрольный тест» по результатам копроовоскопических исследований животных по методу флотации до и через 18–20 сут после применения препаратов. При этом использовали счетную камеру ВИГИС для учета числа яиц нематод в 1 г фекалий. Кроме того, эффективность препаратов учитывали по результатам гельминтологических вскрытий пищеварительного тракта крупного рогатого скота по 3–5 голов с каждой группы. Действие препаратов против личинок нематод учитывали по результатам компрессорного исследования соскобов со слизистой оболочки кишечника.

Личинок нематод идентифицировали до рода по критериям, описанным В. Н. Трачом (1982). Эффективность препаратов рассчитывали согласно «Руководству, одобренному Всемирной Ассоциацией за прогресс ветеринарной паразитологии» (1995 г.) [17].

Результаты и обсуждение

Результаты испытания препаратов на основе бензимидазолов на разные стадии нематод пищеварительного тракта приведены в таблице и свидетельствуют о высокой их эффективности против имагинальных нематод и недостаточной активности против личинок стронгилят. Эффективность против взрослых *Ostertagia* spp. составила панакура 97,2%, фебтала 96,9, альбена, альвета 96,3, вальбазена 96,6 и клозальбена 97,2%. Активность этих препаратов против личинок остертагий оказалась равной 59,1–66,7%. Против имагинальных *Trichostrongylus* spp. эффективность была равной панакура 94,8%, фебтала 94,4, альбена и альвета 95,1, вальбазена и клозальбена 95,5%. Активность препаратов против личинок была ниже и составила 73,0–79,4%. Незначительная разница в эффективности препаратов оказалась против взрослых *Nematodirus* spp. (97,4–97,9%), а против личинок активность была почти в 2 раза ниже (44,2–60,5%). Против имагинальных *Haemonchus* sp. эффективность составила панакура 96,3%, фебтала 96,0, альбена 95,3, альвета 94,9, вальбазена 95,3, клозальбена 96,3%, а против личинок гемонхов активность была равной 66,0–69,2%.

Следует отметить, что все препараты в испытанной дозе хорошо переносились животными.

Таблица [Table]

Эффективность препаратов на основе бензимидазолов в дозе 7,5 мг/кг при стронгилятозах пищеварительного тракта молодняка крупного рогатого скота

[The effectiveness of drugs based on benzimidazoles at a dose of 7.5 mg/kg at strongylatoses of the digestive tract of young cattle]

Препарат [Drug]	Число животных в группе [Number of animals in the group]	Обнаружено нематод родов [Nematode genera detected]						ИЭ (%) против [IE against]									
		Ostertagia		Trichostrongylus		Nematodirus		Haemonchus		Ostertagia		Trichostrongylus		Nematodirus		Haemonchus	
		имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]	имаго [stage]	личинки [larvae]
Панакур	10	1,0±0,3	2,3±0,6	1,4±0,5	1,3±0,3	1,3±0,5	2,0±0,7	1,0±0,3	1,7±0,4	97,2	65,2	94,8	79,4	97,9	53,5	96,3	68,0
Фебтал	9	1,1±0,3	2,7±0,7	1,5±0,6	1,3±0,3	1,4±0,5	1,7±0,6	1,1±0,3	1,7±0,4	96,9	59,1	94,4	79,4	97,7	60,5	96,0	68,0
Альбен	8	1,3±0,5	2,2±0,7	1,3±0,5	1,6±0,5	1,5±0,5	2,4±0,7	1,3±0,4	1,6±0,6	96,3	66,7	95,1	74,6	97,6	44,2	95,3	69,2
Альвет	9	1,3±0,4	2,3±0,7	1,3±0,5	1,6±0,6	1,5±0,6	2,2±0,7	1,4±0,5	1,7±0,6	96,3	65,2	95,1	74,6	97,6	48,9	94,9	68,0
Вальбазен	7	1,2±0,4	2,4±0,7	1,2±0,4	1,7±0,6	1,6±0,5	2,0±0,6	1,3±0,4	1,8±0,7	96,6	63,6	95,5	73,0	97,4	53,5	95,3	66,0
Клозальбен	8	1,0±0,3	2,4±0,7	1,2±0,4	1,7±0,6	1,4±0,5	2,1±0,7	1,0±0,3	1,6±0,6	97,2	63,6	95,5	73,0	97,7	51,2	96,3	69,2
Контрольная группа [Control group]	7	35,3±5,4	6,6±1,3	26,7±4,6	6,3±0,9	61,2±4,7	4,3±1,3	27,3±3,3	5,3±1,3	-	-	-	-	-	-	-	-

У животных контрольной группы обнаружили, в среднем, $35,3 \pm 5,4$ взрослых *Ostertagia ostertagi* и $6,6 \pm 1,3$ экз. личинок остертагий, $26,7 \pm 4,6$ взрослых *Trichostrongylus colubriformis* и $6,3 \pm 0,9$ экз. личинок трихостронгилюсов, $61,2 \pm 4,7$ взрослых *Nematodirus spathiger* и $4,3 \pm 1,3$ экз. личинок нематодирусов, $27,3 \pm 3,3$ взрослых *Nematodirus contortus* и $5,3 \pm 1,3$ экз. личинок гемонхусов.

Заключение

Анализ полученных результатов показал, что практически все препараты из класса бензимидазол карбаматов показали высокую эффективность ($94,4-97,9\%$) против имагинальных желудочно-кишечных стронгилят и недостаточную активность против личинок нематод ($44,2-79,4\%$). Все антигельминтики хорошо переносились животными. Полученные нами данные согласуются с результатами предыдущих исследователей и указывают на высокую эффективность фенбендазола и других препаратов [4, 5, 12, 14, 15].

Так, на экспериментально и спонтанно инвазированном нематодами крупном рогатом скоте фенбендазол снижал число личинок 4-й стадии на 96%, кооперий на 100, *Ostertagia ostertagi* на 98, *Trichostrongylus axei* на 90% [11]. Многие авторы при испытании препаратов не оценивали их действие на разные стадии нематод.

Таким образом, при стронгилятозах пищеварительного тракта предложено большое число препаратов, которые обладают высокой эффективностью против имагинальных нематод и активны против личинок.

Список источников

1. *Архипов И. А.* Эффективность валбазена против фасциолеза, диктиокаулеза, мониезиоза и стронгилятозов желудочно-кишечного тракта овец // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. 1996. Вып. 56. С. 8-11.
2. *Архипов И. А.* Антигельминтики: фармакология и применение. М., 2009. 415 с.
3. *Дурдусов С. Д., Архипов И. А.* Эффективность некоторых антгельминтиков при смешанных нематодозах молодняка крупного рогатого скота // Материалы научной конференции Всероссийского общества гельминтологов РАН. 1995. С. 66-67.
4. *Магомедов О. А.* Эффективность фенбендазола при буностамозе и нематодозе овец // Бюллетень всесоюзного института гельминтологии. 1984. Вып. 39. С. 31-33.
5. *Мамаев Н. Х., Шамхалов В. М., Голин Б. Н., Магомедов О. А.* Брикетты при стронгилятозах и анапистоцефалезах // Ветеринария. 1990. 7. С. 44-45.
6. *Огородников А. В.* Нематодозы крупного рогатого скота Среднего Предуралья и обоснование оптимальных схем дегельминтизации: автореф. дис. ... канд. вет. наук. М., 2001. 26 с.
7. *Резяпкин И. Н.* Эффективность препарата альбен форте-суспензия при гельминтозах крупного рогатого скота // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: материалы научной конференции. 2012. Вып. 13. С. 335-338.
8. *Садов К. М.* Ассоциативные паразитарные болезни крупного рогатого скота и разработка рациональной системы борьбы с ними в условиях Среднего Поволжья: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Иваново, 2008. 44 с.
9. *Самобочий А. В.* Эпизоотологическая характеристика гельминтозов крупного рогатого скота и меры борьбы с ним на юге Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. вет. наук. 2001. 23 с.
10. *Anwar A. H., Hayat C. S., Amir M. I.* Prevalence of gastrointestinal helminthiasis and comparative efficacy of anthelmintics in parasitized buffalo calves. Pakistan Vet. J. 1996; 16 (4): 160-163.
11. *Callinan A. P., Cummins L. I.* Efficacy of anthelmintics against cattle nematodes. Austral. Vet. J. 1979; 55 (8): 370-373.
12. *Campbell W. C.* Chemotherapy of parasitic diseases / W. C. Campbell, R. S. Rew. New York and London: Springer, 1986; 655.
13. *Duwell D.* Anthelmintic efficacy of mebendazole and fenbendazole in ruminants. Pest. Sci. 1980; 9 (3): 550-555.
14. *Kutzer E., Prosl H., Frey H.* Anthelmintic wirkung fenbendazole gegen parasiten von rind. Dtsch. tierarztl. Wochenschr. 1974; 81 (1): 112-119.
15. *Mariner S., Armour J.* Nematode infections of domestic animals: gastrointestinal infections / In Chemotherapy of Parasitic Diseases., Edit. W. C. Campbell, P. S. Rew. 1986; 297-300.
16. *Riviere J. E., Papich V. G.* Veterinary pharmacology and therapeutics. Hoboken: 9 th ed.: Willey Blackwell. 2009; 317.
17. *Wood I., Amaral N., Bairden K. et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). J. Vet. Parasitol. 1995; 58 (3): 181-213.

Статья поступила в редакцию 15.05.2022; принята к публикации 18.07.2022

Об авторах:

Архипов Иван Алексеевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор, ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkipovhelm@mail.ru

Варламова Анастасия Ивановна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0001-8364-5055, arspheob@mail.ru

Радионо́в Александр Валерьевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат ветеринарных наук, alexander.radionov@nutreco.com

Вклад соавторов:

Архипов Иван Алексеевич – научное руководство, проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка статьи.

Варламова Анастасия Ивановна – анализ и интерпретация полученных данных, критический анализ материала, подготовка статьи.

Радионо́в Александр Валерьевич – проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Arkhipov I. A. Efficiency of valbazen against fascioliasis, dictyocaulosis, monieziasis and strongylatosis of the sheep gastrointestinal tract. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. 1996; 56: 8-11. (In Russ.)
2. Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and application. M., 2009; 415. (In Russ.)
3. Durdusov S. D., Arkhipov I. A. Some anthelmintic efficacy against mixed nematode infections of young cattle. *Materialy nauchnoy konferentsii Vserossiyskogo obshchestva gel'mintologov RAN = Proceedings of the Scientific Conference of the All-Russian Society of Helminthologists of the Russian Academy of Sciences*. 1995; 66-67. (In Russ.)
4. Magomedov O. A. The efficacy of fenbendazole against bunostomosis and nematodosis of sheep. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. 1984; 39: 31-33. (In Russ.)
5. Mamayev N. Kh., Shamkhalov V. M., Golin B. N., Magomedov O. A. Wafers against strongylatosis and anoplocephalyatosis. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 1990; 7: 44-45. (In Russ.)
6. Ogorodnikov A.V. Nematode infections of cattle in the Middle Cis-Ural region and substantiation of optimal deworming schemes: avtoref. dis. ... Cand. Sc. Vet. M., 2001; 26. (In Russ.)
7. Rezyapkin I. N. Efficacy of Alben forte suspension against helminthosis in cattle. «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: materialy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": scientific conference materials*. M., 2012; 13: 335-338. (In Russ.)
8. Sadov K. M. Associative parasitic diseases of cattle and the development of a rational system to control them in the Middle Volga region: avtoref. dis. ... Dr. Sc. Vet. Ivanovo, 2008; 44. (In Russ.)
9. Samobochiy A.V. Epizootological characteristics of helminth infections in cattle and control measures in the south of Western Siberia: avtoref. dis. ... Cand. Sc. Vet. 2001; 23. (In Russ.)
10. Anwar A. H., Hayat C. S., Amir M. I. Prevalence of gastrointestinal helminthiasis and comparative efficacy of anthelmintics in parasitized buffalo calves. *Pakistan Vet. J.* 1996; 16 (4): 160-163.
11. Callinan A. P., Cummins L. I. Efficacy of anthelmintics against cattle nematodes. *Austral. Vet. J.* 1979; 55 (8): 370-373.
12. Campbell W. C. Chemotherapy of parasitic diseases / W. C. Campbell, R. S. Rew. New York and London: Springer, 1986; 655.
13. Duwell D. Anthelmintic efficacy of mebendazole and fenbendazole in ruminants. *Pest. Sci.* 1980; 9 (3): 550-555.
14. Kutzer E., Prosl H., Frey H. Anthelmintic Wirkung fenbendazole gegen parasiten von rind. *Dtsch. tierarztl. Wochenschr.* 1974; 81 (1): 112-119.
15. Mariner S., Armour J. Nematode infections of domestic animals: gastrointestinal infections / In Chemotherapy of Parasitic Diseases., Edit. W. C. Campbell, P. S. Rew. 1986; 297-300.
16. Riviere J. E., Papich V. G. Veterinary pharmacology and therapeutics. Hoboken: 9 th ed.: Willey Blackwell. 2009; 317.
17. Wood I., Amaral N., Bairden K. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *J. Vet. Parasitol.* 1995; 58 (3): 181-213.

The article was submitted 15.05.2022; accepted for publication 18.07.2022

About the authors:

Arkhipov Ivan A., Dr. Vet. Sc., Professor, VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia), ORCID ID: 0000-0001-5165-0706, arkipovhelm@mail.ru

Varlamova Anastasiya I., PhD in Vet. Sc., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia), ORCID ID: 0000-0001-8364-5055, arsphoeb@mail.ru

Radionov Aleksandr V., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Vet., alexander.radionov@nutreco.com

Contribution of co-authors:

Arkhipov Ivan A. – academic supervision, research, obtained data analysis and interpretation, article preparation.

Varlamova Anastasiya I. – obtained data analysis and interpretation, critical analysis of the material, article preparation.

Radionov Aleksandr V. – research, obtained data analysis and interpretation.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:616.995.122:639

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-341-351>

Испытание микронизированных лекарственных форм празиквантела и альбендазола при ботриоцефалезе карпов

Татьяна Анатольевна Васильева¹, Дмитрий Петрович Скачков²

^{1,2}Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹ershova@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7616-5077>

²dmpstsk2009@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4254-6522>

Аннотация

Цель исследований – разработка и испытание новых лекарственных форм при ботриоцефалезе карпов.

Материалы и методы. Работу проводили в лаборатории экспериментальной терапии ВНИИП – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и в садковом рыбноводческом хозяйстве АО «Черепетский рыбхоз» (г. Суворов Тульской области). Была разработана рецептура двух микронизированных лекарственных форм альбендазола и празиквантела для профилактики и лечения цестодозов рыб: микронизированный альбендазол и микронизированный празиквантел. Для проведения экспериментов по испытанию микронизированных лекарственных форм препаратов при ботриоцефалезе карпов разработаны лечебные корма по специальной технологии с добавлением горячей воды и мелассы свежескловочной. В каждом лечебном корме содержалось по 2% лекарственной формы на основе празиквантела и альбендазола. Для определения степени инвазированности рыб цестодами в АО «Черепетский рыбхоз» исследованы годовики карпа. Клинический осмотр рыбы и патологоанатомическое вскрытие проводили выборочно по общепринятой методике, после чего определяли экстенсивность и интенсивность инвазии рыб ботриоцефалюсами. Лечебный корм задавали из расчета 5% от массы рыбы в лотках в кормушки, установленные на дне лотков. Первая группа рыб получила лечебный корм с микронизированным альбендазолом, вторая – с микронизированным празиквантелом. Дозы по ДВ составили соответственно 25 и 30 мг/кг. Эффективность экспериментальных партий лечебных комбикормов с лекарственными формами празиквантела и альбендазола учитывали по результатам гельминтологического вскрытия всех рыб из подопытных и контрольной групп на 4-е сутки после лечебного кормления.

Результаты и обсуждение. Предварительные испытания микронизированных лекарственных форм альбендазола и празиквантела в составе лечебных кормов при однократном применении в дозе 5% от массы рыб (дозы по ДВ 25 и 30 мг/кг соответственно) показали экстенсивность, равную 58,3% при интенсивности 61,9% и экстенсивность 75,0% при интенсивности 88,1% соответственно.

Ключевые слова: микронизированные лекарственные формы, альбендазол, празиквантел, эффективность, ботриоцефалез, карп

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук, составляющей основу государственного задания № FNSE-2019-0009 без привлечения дополнительных источников финансирования.

Выражаем особую благодарность руководителю АО «Черепетский рыбхоз» В. Т. Орлову и рыбоводу Ю. А. Пуховскому за помощь при проведении исследований.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Для цитирования: Васильева Т. А., Скачков Д. П. Испытание микронизированных лекарственных форм празиквантела и альбендазола при ботриоцефалезе карпов // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 341–351.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-341-351>

© Васильева Т. А., Скачков Д. П., 2022

Original article

Testing of micronized praziquantel and albendazole dosage forms against bothriocephalosis of cyprinids

Tatiana A. Vasilyeva¹, Dmitry P. Skachkov²

¹All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia

¹ershova@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7616-5077>

²dmptsk2009@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4254-6522>

Abstract

The purpose of the research is to develop and test new dosage forms against bothriocephalosis of cyprinids.

Materials and methods. The study was performed in the experimental therapy laboratory of the VNIIP – FSC VIEV, and on a cage fish farm of Cherepetsky Rybkhoz JSC (Suvorov, Tula Region). A formulation was developed for two micronized dosage forms of albendazole and praziquantel to prevent and treat cestodosis in fish, namely, micronized albendazole and micronized praziquantel. For experiments to test micronized dosage forms of the drugs against bothriocephalosis of cyprinids, medicated feeds were developed using a special technology with added hot water and beet molasses. Each medicated feed contained 2% of the praziquantel- and albendazole-based dosage form. To determine the infection of the fish with cestodes, carp yearlings were studied at Cherepetsky Rybkhoz JSC. Clinical examination and pathoanatomical dissection of the fish were conducted selectively using a common method, after which the prevalence and intensity of the *Bothriocephalus* sp. infection were determined in fish. The medicated feed was given at the rate of 5% of fish weight in the trays, and put into the feeders installed at the bottom of the trays. The first group of fish received the medicated food with micronized albendazole, and the second, with micronized praziquantel. The doses were 25 and 30 mg/kg for the active substance, respectively. The effectiveness of experimental batches of the medicated feeds with praziquantel and albendazole dosage forms was recorded by results of the helminthological dissection of all experimental and control fish on day 4 of the therapeutic feeding.

Results and discussion. Preliminary tests of the micronized albendazole and praziquantel dosage forms in the medicated feeds showed a 58.3% extense-effectiveness with a 61.9% intense-effectiveness, and a 75.0% extense-effectiveness with a 88.1% intense-effectiveness when applied once at a dose of 5% of fish weight (doses of 25 and 30 mg/kg for the AS, respectively).

Keywords: micronized dosage forms, albendazole, praziquantel, effectiveness, bothriocephalosis, cyprinid fish

Acknowledgements. This study had financial support from the Russian Federation Ministry of Education and Science within the Program for Fundamental Scientific Research of the State Academies of Sciences which forms the basis of State Task No. FNSE-2019-0009 without attracting additional funding sources.

We express special gratitude to Director of Cherepetsky Rybkhoz JSC V. T. Orlov and Fish Farmer Yu. A. Pukhovskiy for their help in the research.

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Vasilyeva T. A., Skachkov D. P. Testing of micronized praziquantel and albendazole dosage forms against bothriocephalosis of cyprinids. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal* = *Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 341–351. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-341-351>

© Vasilyeva T. A., Skachkov D. P., 2022

Введение

Развитию рыбоводства и повышению рыбопродуктивности водоемов существенно препятствуют гельминтозы, среди которых ведущая роль принадлежит цестодам и, особенно, ботрицефалезу карпов. Это заболевание зарегистрировано во многих рыбохозяйственных хозяйствах России и наносит значительный экономический ущерб.

Ботрицефалез – инвазионная болезнь рыб, вызываемая ленточными гельминтами *Bothriocephalus opsariichthydis* и *B. acheilognathi*, которые паразитируют в переднем отделе кишечника рыб. *B. opsariichthydis* имеет сердцевидный сколекс с мускулистым теменным диском и глубокими открытыми ботридиями. *B. acheilognathi* имеет сферический сколекс с глубокими, наполовину закрытыми, ботридиями.

Ботрицефалез рыб распространен в прудовых, садковых хозяйствах водоемов-охладителей ТЭС и АЭС и в естественных водоемах. Ботрицефалюсы обнаружены у 26 видов рыб семейства карповых, лососевых (у гольцов) и у некоторых хищных рыб (сом, судак) [1, 19].

Развитие гельминтов происходит с участием промежуточных хозяев, которыми являются различные виды циклопов. Рыба заражается, поедая циклопов с инвазионными процеркоидами.

Заболеванию ботрицефалезом подвержены, в первую очередь, карпы, сазаны, серебряные и золотые караси, белые амуры. Наиболее восприимчивы к инвазии мальки и сеголетки. Рыбы старших возрастных групп менее подвержены заболеванию.

Пик экстенсивности и интенсивности инвазии приходится на июль-август при обильном развитии зоопланктона и интенсивном питании рыб. Экстенсивность инвазии достигает 80–100%, интенсивность – от нескольких экземпляров до сотни гельминтов на одну рыбу. Осенью, когда подрастающая молодежь переходит на питание комбикормом, а в прудах становится меньше веслоногих рачков, инвазированность рыб снижается.

Нарастание инвазированности рыб ботрицефалюсами зависит от температурных условий. Понижение температуры задерживает развитие инвазии. Гельминт развивается от

яйца до половозрелой стадии при температуре воды 16–19 °С за 33–34 сут, при 20–25 °С – за 19–25 сут. Гельминты, попавшие в организм рыб осенью, созревают к апрелю следующего года, то есть через 200–240 сут [6].

Патологоанатомические изменения при ботрицефалезе зависят от интенсивности инвазии и сроков паразитирования гельминта. Наиболее существенные изменения наблюдаются в переднем и среднем отделах кишечника. В местах контакта стробилы гельминта с кишечником обычно происходит истончение его стенок в результате разрушения слизистой, мышечной и частично серозной оболочек.

Паразитирование гельминтов в кишечнике ведет к ухудшению процессов пищеварения.

У больных сеголетков и годовиков карпа в крови наблюдается снижение содержания гемоглобина на 25–30%, увеличивается число полиморфноядерных лейкоцитов и нейтрофилов [7].

Инвазированные ботрицефалюсами мальки отстают в росте и развитии. У больных годовиков заметно исхудание, анемичность жабр, вялость при движении. Они плохо переносят зимовку и гибнут в середине марта или начале апреля. У инвазированных двухлетков отмечено хроническое воспаление слизистой оболочки кишечника. Они отстают в росте, плохо усваивают корм, анемичны. Закупорку кишечника и снижение темпа роста наблюдают при инвазии свыше 12 экз. гельминтов на одну рыбу. Гибель сеголетков карпа от ботрицефалеза отмечают при паразитировании более 50 гельминтов в одной рыбе [3].

При выращивании карповых рыб в садковых хозяйствах на водоемах-охладителях ТЭС источником распространения инвазии служат сорные рыбы, зараженные ботрицефалезом. Данный факт свидетельствует о природном очаге инвазии [29].

Диагноз на ботрицефалез устанавливают на основании эпизоотологических данных, клинических признаков заболевания и результатов гельминтологического исследования рыб [20].

Ботрицефалез карповых рыб согласно Приказу Минсельхоза России от 29 сентября 2005 года № 173 относится к перечню карантинных и особо опасных болезней рыб.

Фенасал (N-[2-хлор-4-нитрофенил]-амид-5-хлорсалициловой кислоты) при цестодозах прудовых карповых рыб (ботриоцефалезе, кавиозе и кариофиллезе) стали назначать в начале 70-х годов прошлого столетия. В лаборатории болезней рыб Всесоюзного научно-исследовательского института гельминтологии имени К. И. Скрябина (ВИГИС) была разработана технология приготовления лечебно-профилактического гранулированного комбикорма с фенасалом, который в последствии был назван циприноцестин. В 1 тонне циприноцестина содержалось 10 кг чистого фенасала. Лечебный корм готовили на комбикормовых заводах в соответствии с ОСТом на циприноцестин, утвержденным Министерством сельского хозяйства СССР 18 мая 1971 года. Циприноцестин задавали рыбам однократно методом вольного скармливания по общепринятой методике кормления рыбы без предварительной голодной диеты. Доза циприноцестина зависела от температуры воды и массы рыб, находящихся в водоеме.

Применение циприноцестина в прудовых хозяйствах показало, что лечебный корм с фенасалом является высокоэффективным средством борьбы с цестодозами прудовых карповых рыб [10–15]. Однако, очень высокие дозы фенасала по действующему веществу (ДВ) (от 600 до 1400 мг/кг) приводили к созданию токсической концентрации действующего начала, что вызывало гибель рыбы на 3–4-е сутки после его внесения. Это происходило при внесении в пруд свыше 0,03 кг циприноцестина на 1 м³ воды, отсутствии водообмена и в припруженных прудах [9, 16].

Исходя из вышеизложенного, в середине 80-х годов в лаборатории экспериментальной терапии ВИГИС была создана технология получения микронизированного фенасала – микросала [8], который в составе циприноцестина-2 был испытан при цестодозах рыб. Циприноцестин-2 – это лечебно-профилактический гранулированный комбикорм, в 1 тонне которого содержится 20 кг микросала или 800 г чистого действующего вещества. Суточная доза циприноцестина-2 соответствует суточной норме кормления рыбы комбикормом. Лечебное кормление проводят в течение одного дня без предварительной голодной диеты по существующей технологии кормления рыб гранулированными кормами.

Циприноцестин-2 прошел все стадии испытаний от аквариумов до комиссионных опытов в условиях производства, включая и широкие производственные испытания в рыбоводных хозяйствах различных регионов бывшего Советского Союза. Применение циприноцестина-2 при цестодозах прудовых карповых рыб показало, что лечебно-профилактический гранулированный комбикорм с микросалом является высокоэффективным средством борьбы с этими заболеваниями [17, 18, 21, 23, 24, 31].

Циприноцестин-2 выгодно отличается от циприноцестина тем, что доза действующего вещества снижена в десятки раз и тем, что он не обладает вторичной токсичностью и совершенно безвреден для рыб [22].

Применение рыбы в пищу после обработки циприноцестин-2 разрешается через 20 сут после дегельминтизации [28].

Препарат в составе 2%-ной кормолекарственной смеси показал высокую эффективность при цестодозах прудовых карповых рыб. В настоящее время на микросал имеется вся необходимая документация, регламентирующая приготовление и применение препарата.

В 2008 г. на рынке ветеринарных препаратов, применяемых в рыбоводстве, появился препарат феномикс для лечения и профилактики цестодозов карповых рыб [4]. Разработчиком и производителем этого препарата является ООО «НВЦ Агроветзащита С.-П.». Феномикс по своему составу практически ничем не отличается от микросала; разница лишь в том, что в феномиксе действующего вещества содержится 8%, а в микросале 4%. Кроме этого, они отличаются по способу применения.

В результате длительного применения никлозамида (фенасала) и его лекарственных форм (микросала и феномикса) при цестодозах карповых рыб произошло снижение эффективности проводимых мероприятий. Если 10–15 лет назад эффективность применения микронизированного фенасала составляла 90–100%, то в настоящее время она снизилась до 80–90%, а у аналогов микросала – до 60–70% [26, 31].

Исходя из вышеизложенного, нами были разработаны лекарственные формы на основе празиквантела и альбендазола, которые были испытаны при ботриоцефалезе карпов в условиях садкового рыбоводческого хозяйства.

Материалы и методы

Работу проводили в лаборатории экспериментальной терапии ВНИИП – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН и в садковом рыбноводческом хозяйстве АО «Черепетский рыбхоз» (г. Суворов Тульской области) [25, 27].

Для наработки лекарственных форм препаратов в качестве наполнителя использовали экструдированный корм в виде мини-гранул премиум-класса со средним размером частиц 0,8 мм, а для приготовления лечебных кормов – мини-гранулы со средним размером частиц 1,1 мм. Корма фирмы BIOMAR отличаются от кормов российского производства более высоким уровнем белка и более низким уровнем жира.

В лаборатории экспериментальной терапии ВНИИП разработана рецептура двух микронизированных лекарственных форм альбендазола и празиквантела для профилактики и лечения цестодозов рыб:

- микронизированный альбендазол (корм BIOMAR inicio plus m – диметилсульфоксид – альбендазол);
- микронизированный празиквантел (корм BIOMAR inicio plus m – ПЭГ-400 – празиквантел).

Для проведения экспериментов по испытанию микронизированных лекарственных форм препаратов при ботриоцефалезе карпов проведена наработка лечебных кормов по специальной технологии с добавлением горячей воды (90–95 °С) и мелассы свекловичной. Для измельчения экструдированного корма и смешивания увлажненного корма с лекарственными формами празиквантела и альбендазола использовали измельчитель с чашей объемом 500 мл. Сушку кормов проводили в сушильном шкафу при температуре 90 °С в течение 4 ч.

В каждом лечебном корме содержалось по 2% лекарственной формы на основе празиквантела и альбендазола.

Для определения степени инвазированности рыб цестодами в АО «Черепетский

рыбхоз» проведено обследование годовиков карпа. Клинический осмотр рыбы проводили выборочно непосредственно при вылове гидробионтов из садков по общеизвестной методике. Рыб с выраженными клиническими признаками заболевания подвергали патологоанатомическому вскрытию. Исследования проводили согласно «Инструкции о мероприятиях по борьбе с ботриоцефалезом рыб в прудовых хозяйствах и садковых хозяйствах на водоемах-охладителях ТЭС и АЭС» [20].

Патологоанатомическое вскрытие проводили по общепринятой методике [2]. После этого определяли экстенсивность и интенсивность инвазии рыб ботриоцефалюсами.

Испытание экспериментальных партий лечебных гранулированных комбикормов с лекарственными формами празиквантела и альбендазола проведено в начале июля 2021 года.

Для проведения испытаний лечебных кормов с различными лекарственными формами препаратов из садка № 54 на 5-й понтонной линии (рис. 1) было отловлено 15 кг карпа, которые были разделены на 3 группы массой по 5 кг каждая.

В каждой группе средняя навеска рыб составила 24±1 г. Рыбу доставили в нижний инкубационный цех хозяйства (рис. 2) и рассаживали по 3 лоткам размером 5 × 1 × 1 м (уровень воды в лотках 0,6 м). Температура воды в лотках составила 26,5 °С, содержание растворенного кислорода – 4,13 мг/л. На дне лотков были установлены кормушки (кюветы) размером 50 × 35 см (рис. 3).



Рис. 1. Понтонная линия № 5 в АО «Черепетский рыбхоз»
[Fig. 1. Pontoon line No. 5 in the Joint Stock Company "Cherepetsky fish farm"]



Рис. 2. Нижний инкубационный цех АО «Черепетский рыбхоз»
[Fig. 2. Lower incubation shop of the Joint Stock Company "Cherepetsky fish farm"]



Рис. 3. Опытные лотки с кюветами в нижнем инкубационном цеху
[Fig. 3. Experimental trays with cuvettes in the lower hatchery]

После пересадки в лотки рыбу оставили до вечера для акклиматизации от стресса, связанного с отловом, перевозкой и пересадкой.

В 20 ч проведено пробное кормление обычным гранулированным комбикормом, не содержащим препаратов; рыба брала корм охотно, отклонений в физиологическом состоянии не отмечено. Отхода рыбы, связанного со стрессовой ситуацией, не отмечено.

10 июля 2021 г. в 8 ч утра проведен контрольный осмотр рыбы для оценки физиологического состояния; нарушений отмечено не было. После этого было проведено лечебное кормление. Лечебный корм задавали из расчета 5% от массы рыбы в лотках в кормушки, установленные на дне лотков. Первая группа рыб получила лечебный корм с микронизированным альбендазолом; вторая группа – с микронизированным

празиквантелом. Дозы по ДВ составили соответственно 25 и 30 мг/кг. Третья группа служила контролем и получала гранулированный комбикорм без препарата.

Эффективность экспериментальных партий лечебных гранулированных комбикормов с лекарственными формами празиквантела и альбендазола учитывали по результатам гельминтологического вскрытия всех рыб из подопытных и контрольной групп на 4-е сутки после лечебного кормления.

Результаты и обсуждение

9 июля 2021 г. в АО «Черепетский рыбхоз» проведено обследование годовиков карпа на зараженность рыбы ботриоцефалезом. С этой целью из садка № 54 на 5-й понтонной линии было отловлено 20 годовиков карпа общей массой 468 г. Средняя навеска рыб составила 24 ± 1 г. В результате гельминтологического вскрытия было установлено, что экстенсивность инвазии рыб ботриоцефалюсами составила 60% при средней интенсивности инвазии 3,5 гельминтов на одну рыбу (рис. 4).

Дополнительно было вскрыто 10 годовиков карпа из садка № 19 на 5-й понтонной линии для сравнения зараженности возбудителем



Рис. 4. *Bothriocephalus* spp.
(контрольная группа, садок № 54)

[Fig. 4. *Bothriocephalus* spp.
(control group, cage No. 54)]

ботриоцефалеза годовиков карпа в начале и в конце понтонной линии хозяйства. У данных гидробионтов зараженность ботриоцефалезом также составила 60% при средней интенсивности инвазии 3,3 гельминта на одну рыбу.

В подопытных группах 1 и 2 лечебные корма были съедены рыбами в течение 1 ч; рыба брала корм охотно; отмечены частые подходы к месту кормления.

В течение суток при визуальном наблюдении за состоянием карпа признаков интоксикации, гибели, отклонений в поведенческих реакциях и физиологическом состоянии не наблюдали.

На момент проведения лечебного кормления температура воды в лотках составляла 24,1 °С, содержание растворенного кислорода – 3,99 мг/л.

В течение трех суток после лечебного кормления проводили визуальный осмотр

рыбы четыре раза в сутки. Кормление рыбы обычным гранулированным комбикормом, не содержащим препаратов, проводили из расчета 5% от массы рыбы один раз в сутки в утренние часы. Отклонений в поведении и физиологическом состоянии не отмечали. Рыба охотно проедала корм, подолгу стояла на месте кормления.

Температура воды в лотках на первые сутки после лечебного кормления составляла 24,5 °С, на вторые – 25,7, на третьи – 25,2 °С, содержание растворенного кислорода – 4,3 мг/л, 4,3 и 3,99 мг/л соответственно.

На четвертые сутки после лечебного кормления провели гельминтологическое вскрытие всех рыб из двух подопытных и одной контрольной групп рыб для установления эффективности дегельминтизаций. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 [Table 1]

Эффективность лечебных кормов на основе микронизированных лекарственных форм празиквантела и альбендазола при ботриоцефалезе карпов
[Efficiency of therapeutic feeds based on micronized dosage forms of praziquantel and albendazole at bothrycephalosis of carp]

Показатель [Indicator]	Опытные группы [Experienced groups]		Контрольная группа [Control group]
	№ 1	№ 2	
Число рыб в группе, экз. [Number of fish in the group, sp.]	125	121	120
Масса группы рыб, кг [Mass of fish group, kg]	5	5	5
Средняя масса рыбы, г [Average weight of fish, g]	24±1		
Доза лечебного корма, % [Dose of therapeutic feed, %]	5	5	-
Доза лечебного корма, г [Dose of therapeutic feed, g]	250	250	-
Доза по ДВ, мг/кг [Dose according to AS, mg/kg]	25	30	-
<i>Результаты вскрытия рыб [Fish autopsy results]</i>			
Исследовано рыб, экз.: [Fish studied, sp.:]			
до обработки [before processing]	20	20	20
после обработки [after processing]	20	20	20
Инвазировано рыб, экз., (%): [Infected fish, sp., (%):]			
до обработки [before processing]	12 (60)		
после обработки [after processing]	5	3	12 (60)
Обнаружено гельминтов, экз.: [Helminths found, sp.:]			
до обработки [before processing]	42		
после обработки [after processing]	16	5	42
ЭЭ [EE], %	58,3	75,0	-
ИЭ [IE], %	61,9	88,1	-

При патологоанатомическом вскрытии отмечено наличие в задних отделах пищеварительного тракта карпов полупереваренных остатков возбудителя ботриоцефалеза (рис. 5).

На протяжении многих лет в АО «Черепетский рыбхоз» проводятся испытания различных противопаразитарных препаратов при ботриоцефалезе карпов [5, 25–27]. Разработанные и испытанные в условиях хозяйства



Рис. 5. Полупереваренные остатки *Bothriocephalus* spp. из кишечника карпа на 4-е сутки после лечебного кормления (отмечено стрелкой)

[**Fig. 5.** Semi-digested remains of *Bothriocephalus* spp. from the intestines of carp on the 4th day after therapeutic feeding (marked with an arrow)]

микронизированные формы празиквантела и альбендазола показали более низкую эффективность по сравнению с классическим препаратом (микросалом), используемым в настоящее время для терапии ботриоцефалеза карповых рыб.

Заключение

В лаборатории экспериментальной терапии ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН в 2021 году была разработана рецептура двух микронизированных лекарственных форм альбендазола и празиквантела на основе экструдированных мини-гранул премиум класса BIOMAR INICIO PLUS M со средним размером частиц 0,8 мм.

Предварительные испытания микронизированных лекарственных форм альбендазола и празиквантела в составе лечебных кормов при однократном применении в дозе 5% от массы рыб (дозы по ДВ 25 и 30 мг/кг соответственно) показали экстенсэффективность, равную 58,3% при интенсэффективности 61,9% и экстенсэффективность 75,0% при интенсэффективности 88,1% соответственно.

Список источников

1. Бауер О. Н., Мусселиус В. А., Стрелков Ю. А. Болезни прудовых рыб. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1981. 231 с.
2. Быховская-Павловская И. Е. Паразиты рыб: Рыбоводство по изучению. Л.: Наука, 1985. 118 с.
3. Васильков Г. В. Паразитарные болезни рыб и санитарная оценка рыбной продукции. М.: Всерос. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии, 1999. 191 с.

4. Еришова Т. А., Гаврилин К. В., Пуховский Ю. А., Бендрьшиев А. А. Эффективность феномикса при цестодозах карповых рыб и сроки его выведения из организма рыб // Российский паразитологический журнал. 2010. № 1. С. 109-113.
5. Еришова Т. А. Феномикс и альбен гранулы для терапии цестодозов рыб семейства карповых (Cyprinidae) и их фармакотоксикологическая характеристика: автореф. дис... канд. вет. наук. М., 2010. 22 с.
6. Каишкова В. П., Каишковский В. В. Эпизоотология ботриоцефалеза, биология и меры борьбы с ним в тепловодных садковых хозяйствах // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1992. Вып. 311. С. 45-52.
7. Куровская Л. Я. Влияние цестоды *Bothriocephalus acheilognathi* на морфофизиологические показатели карпов, выращиваемых на теплых водах // Паразитология. 2001. Т. 35, Вып. 3. С. 249-256.
8. Музыковский А. М., Скачков Д. П., Демидов Н. В. Авторское свидетельство СССР № 1347208 А 01 К 61/00 приоритет изобретения 28.01.1986, зап. рег. 22.06.1987
9. Музыковский А. М. Изучение токсичности фенасала для карпов // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. М., 1967. Вып. 1. С. 78-79.
10. Музыковский А. М. Испытание фенасала при ботриоцефалезе карпов // Тезисы докладов Всесоюзной конференции молодых специалистов по прудовому рыбоводству. М., 1967. С. 40.
11. Музыковский А. М. Испытание фенасала при ботриоцефалезе карпов // Труды ВНИИ пруд. рыбн. х-ва. 1971. Вып. 18. С. 146-148.
12. Музыковский А. М. Опыт применения фенасала при ботриоцефалезе карпов в прудовых хозяйствах // Бюл. Всес. ин-та гельминтол. 1972. Вып. 8. С. 37-40.
13. Музыковский А. М. Производственный опыт применения фенасала при ботриоцефалезе карпов // Тезисы докладов к годичной конференции ВИГИС по законченным в 1968 г. научно-исследовательским работам 3-7 февраля. М., 1969. С. 33-35.
14. Музыковский А. М. Разработка методов терапии ботриоцефалеза карпов фенасалом // Тезисы докладов научной конференции «Итоги выполнения научных исследований в области гельминтологии в юбилейном 1967 году». М., 1968. С. 25-26.
15. Музыковский А. М., Васильков Г. В. Дегельминтизация карпов при ботриоцефалезе // Ветеринария. 1969. № 5. С. 55-56.

16. *Музыковский А. М., Сафонов Н. Н.* Токсическое действие фенасала и девермина на рыб // Рыбное хозяйство. 1971. № 6. С. 26-27.
17. *Музыковский А. М., Скачков Д. П., Демидов Н. В., Аксенова И. Н.* Эффективность циприноцестина-2 при цестодозах прудовых карповых рыб // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. М., 1987. Вып. 48. С. 55-58.
18. *Музыковский А. М., Скачков Д. П., Жуков Н. И., Парпалак Е. С.* Циприноцестин-2 при цестодозах карпов // Ветеринария. 1987. № 10. С. 34-36.
19. *Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР.* Л.: Наука, 1987. Т. 3. 583 с.
20. *Сборник инструкций по борьбе с болезнями рыб.* М., 1998. 310 с.
21. *Скачков Д. П.* Опыт применения микросала при цестодозах карпов в прудовых хозяйствах // Материалы докладов научной конференции Всероссийского общества гельминтологов РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». М., 2008. Вып. 9. С. 442-444.
22. *Скачков Д. П., Музыковский А. М.* Хроническая токсичность циприноцестина-2 для рыб // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. М., 1987. Вып. 47. С. 86-87.
23. *Скачков Д. П., Музыковский А. М.* Терапевтическая эффективность циприноцестина-2 при кавиозе и ботриоцефалезе карпов // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. М., 1987. Вып. 48. С. 79-80.
24. *Скачков Д. П., Музыковский А. М., Забудский С. А.* Циприноцестин-2: эффект применения // Рыбное хозяйство. 1989. № 3. С. 55-56.
25. *Скачков Д. П., Пуховский Ю. А., Орлов В. Т.* Сезонная динамика зараженности карпов ботриоцефалами в садковом хозяйстве при новых условиях содержания // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 1. С. 45-51. DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-1-45-51
26. *Скачков Д. П., Пуховский Ю. А., Орлов В. Т.* Применение кормолекарственной смеси с микросалом при ботриоцефалезе карпов в садковом рыбоводческом хозяйстве // Российский паразитологический журнал. 2018. № 2. С. 85-90.
27. *Скачков Д. П., Пуховский Ю. А., Орлов В. Т.* Динамика зараженности ботриоцефалюсами мальков и сеголетков карпа в тепловодном садковом хозяйстве при естественной температуре воды // Российский паразитологический журнал. 2019. № 4. С. 67-72.
28. *Шумакович И. Е., Скачков Д. П.* Остаточное содержание фенасала в мышечной ткани карпа после дегельминтизации смесью с микросалом // Ветеринария. 1998. № 3. С. 57-59.
29. *Ярошевич К. О.* Ассоциативное проявление ботриоцефалеза и аэромоноза в индустриальном рыбоводстве (эпизоотология, меры борьбы): автореф. дис. ... канд. вет. наук. Нижний Новгород, 2003. 22 с.
30. *Skachkov D. P., Safiullin R.T.* Botryoccephaly of carp in a warm-water tank farm under natural conditions of fish keeping (dynamics of infection, therapeutic and preventive measures. AGRITECH-IV-2020 IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 677 (2021) 052064 IOP Publishing doi:10.1088/1755-1315/677/5/052064.
31. *Skachkov D., Thakahova A.* Bothrioccephalus. Infection of Cyprinidae: epizootology, clinical features and pathogenesis, diagnostics, therapeutic and prophylactic measures – AGROFOR International Journal. 2018; 3 (2): 91-96.

Статья поступила в редакцию 24.05.2022; принята к публикации 28.07.2022

Об авторах:

Васильева Татьяна Анатольевна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0002-7616-5077, ershova@vniigis.ru

Скачков Дмитрий Петрович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0003-4254-6522, dmptsk2009@yandex.ru

Вклад соавторов:

Васильева Татьяна Анатольевна – обзор и проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка статьи.

Скачков Дмитрий Петрович – научное руководство, разработка рецептуры и наработка лекарственных форм, анализ и интерпретация полученных данных, критический анализ материала, подготовка статьи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Bauer O. N., Musselius V. A., Strelkov Yu. A. Diseases of pond fish. Moscow: Light and food industry, 1981; 231. (In Russ.)
2. Bykhovskaya-Pavlovskaya I. E. Fish Parasites: A Study Guide. Leningrad: Nauka, 1985; 118. (In Russ.)
3. Vasilkov G. V. Parasitic diseases of fish and sanitary evaluation of fish products. Moscow: the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, 1999; 191. (In Russ.)
4. Ershova T. A., Gavrilin K. V., Pukhovskiy Yu. A., Bendryshev A. A. Efficacy of phenomics against cestodosis of cyprinids and the time it is excreted from the fish. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2010.1: 109-113. (In Russ.)
5. Ershova T. A. Phenomics and Alben granules to treat cestodosis in cyprinid fish (Cyprinidae) and their pharmacotoxicological characteristics: autoref. dis.... Cand. Sc. Vet. Moscow, 2010; 22. (In Russ.)
6. Kashkovskaya V. P., Kashkovskiy V. V. Bothriocephalosis epizootology, biology and control measures on warm water cage farms. *Collection of research papers of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography*. 1992; 311: 45-52. (In Russ.)
7. Kurovskaya L. Ya. Influence of the cestode *Bothriocephalus acheilognathi* on morphological and physiological parameters of cyprinids grown in warm waters. *Parazitologiya = Parasitology*. 2001; 35 (3): 249-256. (In Russ.)
8. Muzykovskiy A. M., Skachkov D. P., Demidov N. V. USSR Author's Certificate No. 1347208 A 01 K 61/00 invention priority 28/01/1986, registered 22/06/1987
9. Muzykovskiy A. M. Study of the Fenasal toxicity for cyprinids. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. Moscow, 1967; 1: 78-79. (In Russ.)
10. Muzykovskiy A. M. Testing of Fenasal against bothriocephalosis in cyprinids. *Tezisy dokladov Vsesoyuznoy konferentsii molodykh spetsialistov po prudovomu rybovodstvu = Abstracts of the Reports from the All-Union Conference of Young Specialists in Pond Fish Farming*. Moscow, 1967; 40. (In Russ.)
11. Muzykovskiy A. M. Testing of Fenasal against bothriocephalosis in cyprinids. *Proceedings of the All-Russian Research Institute of Pond Fisheries*. 1971; 18: 146-148. (In Russ.)
12. Muzykovskiy A. M. Experience with the use of Fenasal against bothriocephalosis in cyprinids on pond farms. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. Moscow, 1972; 8: 37-40. (In Russ.)
13. Muzykovskiy A. M. Industrial experience of using Fenasal against bothriocephalosis in cyprinids. *Tezisy dokladov k godichnoy konferentsii VIGIS po zakonchennym v 1968 g. nauchno-issledovatel'skim rabotam 3-7 fevralya = Abstracts of the Reports to the Annual VNIIP Conference on research papers completed on February 3-7, 1968*. Moscow, 1969; 33-35. (In Russ.)
14. Muzykovskiy A. M. Development of methods to treat bothriocephalosis in cyprinids with Fenasal. *Tezisy dokladov nauchnoy konferentsii «Itogi vypolneniya nauchnykh issledovaniy v oblasti gel'mintologii v yubileyom 1967 godu» = Abstracts of the Reports from the Scientific Conference "Results of scientific research in helminthology in the anniversary year 1967"*. Moscow, 1968; 25-26. (In Russ.)
15. Muzykovskiy A. M., Vasilkov G. V. Dehelminthization of cyprinids at bothriocephalosis. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 1969; 5: 55-56. (In Russ.)
16. Muzykovskiy A. M., Safonov N. N. Toxic effect of Fenasal and Devermin on fish. *Rybnoye khozyaystvo = Fisheries*. 1971; 6: 26-27. (In Russ.)
17. Muzykovskiy A. M., Skachkov D. P., Demidov N. V., Aksenova I. N. Efficacy of Cyprinocestin-2 against cestodosis of pond cyprinids. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. Moscow, 1987; 48: 55-58. (In Russ.)
18. Muzykovskiy A. M., Skachkov D. P., Zhukov N. I., Parpalak E. S. Cyprinocestin-2 against cestodosis of cyprinids. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 1987; 10: 34-36. (In Russ.)
19. Identification guide of freshwater fish parasites of the fauna in the USSR. Leningrad: Nauka, 1987; 3: 583. (In Russ.)
20. Collection of instructions to control fish diseases. Moscow, 1998; 310. (In Russ.)
21. Skachkov D. P. Experience in the use of Microsal against cestodosis of cyprinids on pond farms. *Materialy dokladov nauchnoy konferentsii Vserossiyskogo obshchestva gel'mintologov RAN «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami» = Proceedings of the Scientific Conference of the All-Russian Society of Helminthologists of the Russian Academy of Sciences "Theory and practice of parasitic disease control"*. Moscow, 2008; 9: 442-444. (In Russ.)

22. Skachkov D. P., Muzykovsky A. M. Chronic toxicity of Cyprinocestin-2 for fish. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. 1987; 47: 86-87. (In Russ.)
23. Skachkov D. P., Muzykovsky A. M. Therapeutic efficacy of Cyprinocestin-2 against khawiosis and bothriocephalosis in cyprinids. *Byulleten' Vsesoyuznogo instituta gel'mintologii = Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology*. 1987; 48: 79-80. (In Russ.)
24. Skachkov D. P., Muzykovsky A. M., Zabudsky S. A. Cyprinocestin-2: application effect. *Rybnoye khozyaystvo = Fisheries*. 1989; 3: 55-56. (In Russ.)
25. Skachkov D. P., Puhovski Yu. A., Orlov V. T. Seasonal dynamics of carp infection with *Bothriocephalus* sp. in cage farming under the new conditions. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12 (1): 45-51. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-1-45-51>
26. Skachkov D. P., Pukhovskiy Yu. A., Orlov V. T. Administration of medicated feed mixture with microsal in the case of carps bothriocephalosis in cage fish-farm. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12 (2): 85-90. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2018-12-2-85-90>
27. Skachkov D. P., Pukhovskiy Yu. A., Orlov V. T. Dynamics of infection of fry and fingerlings of carp with *Bothriocephalus* sp. in warm-water cage culture fishery at natural water temperature. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (4): 67-71. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2019-13-4-67-71>
28. Shumakovich I. E., Skachkov D. P. Residuals of Fenasal in muscle tissue of the cyprinid fish after dehelminthization with a mixture with Microsal. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 1998; 3: 57-59. (In Russ.)
29. Yaroshevich K. O. Associative manifestations of bothriocephalosis and bacterial hemorrhagic septicemia in industrial fish farming (epizootology, control measures): autoref. dis. ... Cand. Sc. Vet. Nizhny Novgorod, 2003; 22. (In Russ.)
30. Skachkov D. P., Safiullin R. T. Botrycephaly of carp in a warm-water tank farm under natural conditions of fish keeping (dynamics of infection, therapeutic and preventive measures. AGRITECH-IV-2020 IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 677 (2021) 052064 IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/5/052064>.
31. Skachkov D., Thakahova A. Bothriocephalus. Infection of Cyprinidae: epizootology, clinical features and pathogenesis, diagnostics, therapeutic and prophylactic measures – AGROFOR *International Journal*. 2018; 3 (2): 91-96.

The article was submitted 24.05.2022; accepted for publication 28.07.2022

About the authors:

Vasilyeva Tatiana A., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Vet., ORCID ID: 0000-0002-7616-5077, ershova@vniigis.ru

Skachkov Dmitry P., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Cand. Sc. Vet., ORCID ID: 0000-0003-4254-6522, dmptsk2009@yandex.ru

Contribution of co-authors:

Vasilyeva Tatiana A. – review and research, analysis and interpretation of the data obtained, article preparation.

Skachkov Dmitry P. – academic supervision, formulation and dosage form development, analysis and interpretation of the data obtained, critical analysis of the material, article preparation.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 632.952.635

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-352-358>

Действие препарата фармайод на нематод разных трофических групп *in vitro* и *in vivo*

Алена Николаевна Конрат¹, Тамара Самуиловна Новик²,
Александр Александрович Шестеперов³

¹⁻³Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹ Alenakonrat@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1968-517X>

² novik.tamara@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9317-2052>

³ aleks.6perov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9956-6407>

Аннотация

Цель исследований – изучить действие препарата фармайод на нематод разных трофических групп, в том числе на личинок галловых нематод, *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Объектом исследований были личинки галловой нематоды *Meloidogyne incognita* с корней зараженных растений из Владимирской области. Изучение влияния препарата фармайод в трех концентрациях проводили в лабораторных условиях, методом биотеста на растениях тыквы. Влияние жидкого фармайода на жизнеспособность нематод разных трофических групп изучали в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Результаты и обсуждение. Жидкий фармайод в 0,1%-ной концентрации проявил фитотоксичность – ни одно растение не проросло. В форме 0,01%-ного раствора препарат проявил фитотоксичность, но в меньшей степени. Корневая система была менее развита (60%), чем в контроле. Высота растений также была меньше на 15%. Фармайод в концентрации 0,01% не обладал фитотоксичностью и снижал развитие мелойдогиноза по сравнению с контролем. Биологическая эффективность этой дозы была выше 56%, высота растений – больше на 30%. Препарат в концентрации 0,01% из-за своей фитотоксичности и слабо развитой корневой системы растений не оказал влияния на поражение растений мелойдогинозом по сравнению с контролем. Таким образом, в низких концентрациях фармайод действует на растения как необходимый для вегетации растений микроэлемент, что отразилось на размерах растения. С другой стороны, позволяет существенно снизить зараженность корней тыквы галловой нематодой. Поскольку данная концентрация не является токсичной для нематод, можно предположить, что препарат воздействует на нематоду опосредованно через растение.

Ключевые слова: фитонематоды, нематоды, мелойдогиноз, фармайод

Благодарность. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы, составляющей основу государственного задания № FNSE-2019-0009 без привлечения дополнительных источников финансирования.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Конрат А. Н., Новик Т. С., Шестеперов А. А. Эффективность препарата фармайод для обеззараживания почвы от галловых нематод // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 352–358.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-352-358>

© Конрат А. Н., Новик Т. С., Шестеперов А. А., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

The effect of Farmayod on nematodes of different trophic groups *in vitro* and *in vivo*

Alena N. Konrat¹, Tamara S. Novik², Alexander A. Shesteperv³

¹⁻³All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV”, Moscow, Russia

¹ Alenakonrat@vniigis.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1968-517X>

² novik.tamara@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9317-2052>

³ aleks.6perov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9956-6407>

Abstract

The purpose of the research is to study the effect of Farmayod on nematodes of different trophic groups, including root-knot nematode larvae, *in vitro* and *in vivo*.

Materials and methods. The object of the research were larvae of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* obtained from the roots of infected plants from the Vladimir Region. The study of the effect of Farmayod in three concentrations was carried out in laboratory, using the biotest method on pumpkin plants. The effect of liquid Farmayod on the viability of nematodes of different trophic groups was studied *in vitro* and *in vivo*.

Results and discussion. Liquid 0.1% Farmayod showed phytotoxicity, and not a single plant germinated. The drug in the form of a 0.01% solution showed phytotoxicity but to a lesser extent. The root system was less developed (60%) than in the control. The plant height was also 15% less. Farmayod at a concentration of 0.01% did not have phytotoxicity and reduced meloidoginosis versus the control. The biological efficacy of such dose was 56% higher, and the plant height was 30% more. The drug at a concentration of 0.01% had no effect on the plants damaged by meloidoginosis due to its phytotoxicity and poorly developed root system of the plants versus the control. Thus, at low concentrations, Farmayod acts on plants as a trace element necessary for plant vegetation, which affected the size of the plant. On the other hand, it can significantly reduce the infection of pumpkin roots with root-knot nematodes. Since this concentration is not toxic to nematodes, it can be assumed that the drug affects the nematode indirectly through the plant.

Keywords: phytonematodes, nematocides, meloidoginosis, Farmayod

Acknowledgements. The study was conducted within the Program for Fundamental Scientific Research of the State Academies of Sciences for 2013-2020 which forms the basis of State Task No. FNSE-2019-0009 without attracting additional funding sources.

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Konrat A. N., Novik T. S., Shesteperv A. A. The effect of Farmayod on nematodes of different trophic groups *in vitro* and *in vivo*. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 352–358. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-352-358>

© Konrat A. N., Novik T. S., Shesteperv A. A., 2022

Введение

Фитопаразитические нематоды представляют серьёзную проблему мировому сельскохозяйственному производству. Ежегодные потери оцениваются в 125 млрд. долларов США [7, 12].

Снижение ущерба, причиняемого этими фитопаразитами, может быть достигнуто разными методами: агротехническими, селекционными, химическими (нематодициды),

биологическими и др. [5, 7, 11]. Поэтому поиск препаратов с нематодицидными свойствами и отработка технологий их применения, несомненно, актуальны [12]. Для контроля численности фитопаразитических нематод в сельском хозяйстве используют химические нематодициды, которые являются частью интегрированной системы защиты растений.

В настоящее время в «Списке пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению

на территории РФ» включен нематод Видат 5 г (оксамил).

ООО «Фармбиомедсервис» разработал препарат фармайод, который показал высокую эффективность в борьбе с возбудителями бактериальных и грибных болезней, и по данным лабораторных исследований проявил нематодцидные свойства [2, 4, 5, 9].

Его действующее вещество – водорастворимый комплекс йода с неионогенным поверхностно-активным веществом (100 г/л), обладает высокой антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных фитопатогенных бактерий и грибов, а также антивирусной активностью [1, 9].

Раствор йода в йодистом калии (1%, йодистый калий 10%), получаемый при добавлении нескольких капель на 1 л воды, убивает и окрашивает фитопаразитических нематод в корнях растений [6, 8].

Проведенные нами опыты по обеззараживанию почвы от золотистой картофельной нематоды показали, что на 30-е сутки после обработки почвы 0,5%-ным жидким фармайодом живых личинок золотистой картофельной нематоды (ЗКН) не обнаружили. В дозе 0,1% жидкий препарат снизил численность нематод в 15 раз по сравнению с контролем. Обработка почвы 0,01%-ным жидким фармайодом снизила численность личинок ЗКН, но не повлияла на численность нематод других экологических групп [3]. Жидкий фармайод в дозе 0,5 и 0,1% был фитотоксичен: клубни погибли. В дозе 0,01% этот препарат не оказал фитотоксического воздействия на растения картофеля и значительно снизил численность самок ЗКН на корнях (биологическая эффективность – 96%).

Целью исследования было изучение возможности применения фармайода для обеззараживания почвы от личинок нематод.

Материалы и методы

Влияние фармайода на сапробиотических нематод Pelodera sp. и стеблевых нематод D. dipsaci, извлеченных из растений земляника садовая (Fragaria ananassa) in vitro

В луночные планшеты вносили по 1 мл испытуемого раствора и 1 мл суспензии нематод *Pelodera sp.* (в 1 мл 100 экз. (+ - 10)). Через 24 ч подсчитывали число подвижных нематод. По-

сле этого нематод промывали водой, т. е. освобождали от препарата. Еще через 24 ч снова подсчитывали число подвижных нематод.

Варианты опыта: 1. Контроль – вода; 2. Фармайод – 0,001%-ный раствор; 3. Фармайод – 0,01%-ный раствор; 4. Фармайод – 0,1%-ный раствор. Повторность трехкратная.

При изучении влияния фармайода на стеблевых нематод *D. dipsaci in vitro* на предметное стекло в две капли суспензии стеблевых нематод в количестве 20 экз. добавляли 2 капли испытуемого раствора. Через 24 ч подсчитывали число подвижных нематод.

Варианты опыта: 1. Контроль – вода; 2. Фармайод – 0,001%-ный раствор; 3. Фармайод – 0,01%-ный раствор; 4. Фармайод – 0,1%-ный раствор.

Влияние жидкого фармайода на личинок галловых нематод и на развитие мелойдогноза тыквы (Cucurbita pepo) in vivo

В горшки объемом 250 мл вносили 100 мл инвазированной почвы (400 личинок галловых нематод), добавляли 150 мл незараженной почвы и перемешивали. После этого в каждый горшок наливали (вносили) 125 мл испытуемых растворов. На следующий день отбирали почвенные пробы для анализа и сажали семена тыквы. Опыт закладывали в трех повторностях. После двух недель отбирали почвенные пробы для фитогельминтологического анализа.

Варианты опыта: 1. Контроль – вода; 2. Фармайод – 0,001%-ный раствор; 3. Фармайод – 0,01%-ный раствор; 4. Фармайод – 0,1%-ный раствор.

Через 50 сут после посева измеряли высоту растений, развитие корневой системы, поражение мелойдогнозом [5].

Результаты и обсуждение

Влияние жидкого Фармайода на нематод in vitro. Установлено, что жидкий фармайод убивает сапробиотических и паразитических нематод в дозе 0,1%. Нематоды не оживают после промывки водой и окрашиваются в желтый или коричневый цвет. В дозе 0,01% препарат снизил численность живых сапробиотических нематод на 69%, а на стеблевых нематод в этой дозе не оказал влияния (табл. 1).

Сапробиотические нематоды *Pelodera sp.* оказались менее стойкие, чем стеблевые не-

Таблица 1

Влияние жидкого фармайода на жизнеспособность сапробиотических (*Pelodera* sp.) и паразитических (*Ditylenchus dipsaci*) нематод *in vitro*
 [Influence of liquid farmiod on the viability of saprobiotic (*Pelodera* sp.) and parasitic (*Ditylenchus dipsaci*) nematodes *in vitro*]

Вариант опыта [Experience variant]	Число подвижных нематод [Number of mobile nematodes]					
	сапробиотических [saprobiotic]				стеблевых после 24 ч [stem after 24 h]	
	после 24 ч		после промывки			
	экз.	%	экз.	%	экз.	%
Контроль (вода) [Control (water)]	89±9	100	95±10	100	20	100
0,001%-ный фармайод	89±10	100	92±8	97	20	100
0,01%-ный фармайод	28±3	31	32±4	34	20	100
0,1%-ный фармайод	0	0	0	0	0	0

матоды, которые могут размножаться в растительной ткани лука и чеснока [6].

Влияние жидкого фармайода на личинок галловых нематод в почве и развитие мелойдогиноза тыквы. При изучении влияния трех концентраций (0,1; 0,01; 0,001%) жидкого препарата на фауну нематод, на 15-е сутки после обработки инвазированной галловой нематодой почвы установлено, что по сравнению с контролем достоверного влияния на количественный и качественный состав нематод препарат не оказал, в том числе и на личинок галловых нематод. (табл. 2). Об-

работка жидким фармайодом в 0,001%-ной концентрации снизила пораженность корневой системы мелойдогинозом (биологическая эффективность 57%) и стимулировала рост растений. Жидкий фармайод в 0,1%-ной концентрации проявил фитотоксичность – ни одно растение не проросло. В 0,01%-ной концентрации раствора препарат проявил фитотоксичность, но в меньшей степени. Корневая система была менее развита (60%), чем в контроле. Фитотоксичность фармайода также была отмечена при обеззараживании почвы от личинок ЗКН [3].

Таблица 2 [Table 2]

Влияние жидкого фармайода на фауну нематод в почве (25 г) растений тыквы через 1 и 15 сут после обработки
 [Effect of liquid Farmayod on nematode fauna in soil (25 g) of pumpkin plants 1 and 15 days after treatment]

Нематода [Nematode]	Число нематод в вариантах (экз.) через [Number of nematodes in variants (sp.) through]							
	контроль [control]	24 ч			контроль [control]	15 сут		
		фармайод в концентрации [Farmayod in concentration]				фармайод в концентрации [Farmayod in concentration]		
		0,001%	0,01%	0,1%		0,001%	0,01%	0,1%
Meloidogyne (личинки) [larvae]	6	4	3	4	4	3	7	9
Aphelenchoides	2	3	2	1	0	0	0	0
Rhabditis	18	18	17	12	16	15	10	5
Diplogaster	2	0	3	3	10	6	12	40
Всего [Total]	28	25	25	20	30	24	29	54

Высота растения тыквы была меньше на 15%. Фармайод в 0,01%-ной концентрации не обладал фитотоксичностью и снижал развитие мелойдогиноза по сравнению с контролем (табл. 3). Биологическая эффективность этой концентрации была выше 56%, высота растений – больше на 30%. Препарат в 0,01%-ной

концентрации из-за своей фитотоксичности и слабой развитой корневой системы растений не оказал влияния на поражение растений мелойдогинозом по сравнению с контролем. По-видимому, эффективность препарата в этой концентрации может быть объяснена тем, что йод проникал в корневую систему растений

Таблица 3 [Table 3]

Влияние жидкого фармайода на растения тыквы и развитие мелойдогиноза
[The effect of liquid farmiod on pumpkin plants and the development of meloidoginosis]

Вариант опыта [Experience variant]	Высота растений, см [Plant height, cm]	Развитие корневой системы, % [Root system development, %]	Число галлов на 1 см корня [Number of galls per 1 cm of root]	Развитие мелойдогиноза, балл [Development of meloidoginosis, score]	Биологическая эффективность, % [Biological efficiency, %]
Контроль (вода) [Control (water)]	53	4,3	1,7	5,3	-
0,001%-ный фармайод	67	4,5	0,6	2,3	57
0,01%-ный фармайод	44	2,7	1,4	5,4	0
0,1%-ный фармайод	0	0	-	-	-

тыквы, снижал численность галловых нематод и стимулировал рост растений. О стимулирующем эффекте йода на растения другие исследователи [10, 11].

При изучении влияния различных концентраций препарата на фауну нематод через сутки после обработки почвы фармайодом установлено, что достоверного влияния на количественный и качественный состав нематод различных трофических групп препарат не оказал по сравнению с контролем, в том числе и на личинок галловых нематод (см. табл. 2). Через 15 сут численность личинок наиболее патогенного вида галловых нематод практически не изменилась, тогда как микогельминты *Aphelenchoides* sp. не были обнаружены ни в одном варианте обработок; численность бактериофагов *Rhabdites* sp. несколько снизилась, особенно при обработке 0,1%-ным раствором, при этом увеличилась численность хищных нематод *Diplogaster* sp.

В опытах по обеззараживанию почвы от личинок ЗКН фармайод в 0,1%-ной концентрации в почве сохранилось только 7,5% сапробиотических нематод, в других вариантах почвенная фауна нематод сохранилась [3]. Одной из возможных причин может быть разный субстрат для выращивания растений. Обработку против личинок ЗКН проводили на супесчаной почве с содержанием гумуса 2,3%. Растения тыквы выращивали на торфяной почве, которая, возможно, поглотила часть препарата и уменьшила его эффективность.

Заключение

Опыты *in vitro* показали, что жидкий фармайод в концентрации свыше 0,1% убивал сапробиотических и паразитических нематод. В 0,01%-ной концентрации препарат не убивал стеблевых нематод.

Обработка почвы, инвазированной личинками галловой нематоды, жидким фармайодом в 0,001%-ной концентрации снизила пораженность корневой системы мелойдогинозом (биологическая эффективность 57%) и стимулировала рост растений. Концентрации 0,01 и 0,1% жидкого фармайода были фитотоксичны для семян тыквы.

Список источников

1. Келдыш М. А., Чанг Н. Х., Червякова О. Н. Оценка антивирусной активности препарата Фармайод на примере вируса мозаики томата // Гавриш. 2013. № 6. С. 16–18.
2. Келдыш М. А., Червякова О. Н., Борисова И. П. Оценка антивирусной активности препарата Фармайод // Защита и карантин растений. 2019. № 11. С. 30–31.
3. Конрат А. Н., Новик Т. С., Тихомирова О. И., Шестеперов А. А. Эффективность препарата фармайод для обеззараживания почвы от золотистой картофельной нематоды // Российский паразитологический журнал. 2020. Т. 14. № 4. С. 110–116. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-4-110-116>
4. Конрат А. Н., Лычагина С. В., Шестеперов А. А. Методические указания «Методология по

- скринингу *in vitro* штаммов, изолятов бактерий, обладающих паразитарными и нематодными свойствами» // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: Сборник научных статей по материалам международной научной конференции. 2021. Вып. 22. С. 575-590. <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.575-590>
5. Шестеперов А. А., Бутенко К. О., Колесова Е. А. Дитиленхозы сельскохозяйственных культур и декоративных растений и меры борьбы с ними: учебное пособие. М.: Изд-во ФГБОУ ВПО РГА-ЗУ, 2014. 175 с.
 6. Шестеперов А. А., Лычагина С. В., Колесова Е. А., Конрат А. Н. Мелойдогиноз овощных культур защищенного грунта и меры борьбы с ним. Уч. пособие. М.: Изд-во ФГБОУ ВПО РГАЗУ, 2015. 192 с.
 7. Шестеперов А. А. Эпифитотиология нематодных болезней растений. Монография. М.: Наука, 2021. 446 с. <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-6-8.2021.446>
 8. Филиппев И. Н. Нематоды вредные и полезные в сельском хозяйстве. М.; Л., ОГИЗ-Сельхозгиз, 1934. 440 с.
 9. Chitwood D. J. Nematicides. Encyclopedia of Agrochemicals. New York, NY: John Wiley & Sons. 2003; 3:1104-1115.
 10. Kiferle C., Martinelli M., Salzano A. M. et al. Evidences for a Nutritional Role of Iodine in Plants. Front. Plant Sci. 2021; 12: 616868. doi: 10.3389/fpls.2021.616868.
 11. Rajasekharan S.K., Lee JH., Ravichandran V. et al. Nematicidal and insecticidal activities of halogenated indoles. Sci. Rep. 2019; 9 (1): 2010. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38561-3>.
 12. Sasanelli N., Konrat A., Migunova V., Toderas I., Iurcu-Straistaru E., Rusu S., Bivol A., Andoni C., Veronico P. Review on Control Methods against Plant Parasitic Nematodes Applied in Southern Member States (C Zone) of the European Union. Agriculture-Basel 2021, 11 (7): 602. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070602>

Статья поступила в редакцию 04.04.2022; принята к публикации 15.06.2022

Об авторах:

Конрат Алена Николаевна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, ORCID ID: 0000-0003-1968-517X, Alenakonrat@vniigis.ru

Новик Тамара Самуиловна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, ORCID ID: 0000-0001-9317-2052, novik.tamara@mail.ru

Шестеперов Александр Александрович, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, ORCID ID: 0000-0001-9956-6407, aleks.6perov@yandex.ru

Вклад соавторов:

Конрат Алена Николаевна – получение данных для анализа, анализ и интерпретация полученных данных, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи.

Новик Тамара Самуиловна – идея исследования, одобрение варианта статьи для опубликования.

Шестеперов Александр Александрович – получение данных для анализа, анализ и интерпретация полученных данных, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Keldysh M. A., Chang N. H., Chervyakova O. N. Evaluation of the antiviral activity of the drug Pharmaiod on the example of the tomato mosaic virus. *Gavriish*. 2013; 6: 16–18. (In Russ.)
2. Keldysh M. A., Chervyakova O. N., Borisova I. P. Evaluation of the antiviral activity of the drug Farmayod. *Plant Protection and Quarantine*. 2019; 11: 30–31. (In Russ.)
3. Konrat A. N., Novik T. S., Tichomirova O. I., Shesteperv A. A. Pharmaiod efficacy in elimination of golden potato nematodes in soil. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (4): 110–116. (In Russ.). <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-4-110-116>
4. Konrat A. N., Lychagina S. V., Shesteperv A. A. Guidelines "Methodology for in vitro screening of strains and bacterial isolates having parasitic and

- nematicidal properties". «*Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami*»: materialy dokladov mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": materials of reports of the international scientific conference. M., 2021; 22: 575-590. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.575-590>
5. Shesteporov A. A., Butenko K. O., Kolesova E. A. Ditylenchus infections of agricultural crops and ornamental plants, and control measures. Study Guide. M.: Publishing house of the Russian State Agrarian Correspondence University, 2014; 175. (In Russ.)
 6. Shesteporov A. A., Lychagina S. V., Kolesova E. A., Konrat A. N., Meloidogenesis of protected vegetable crops and control measures. Study Guide. M.: Publishing house of the Russian State Agrarian Correspondence University, 2015; 192. (In Russ.)
 7. Shesteporov A. A. Epiphytology of nematode diseases in plants. Monograph. M.: Nauka, 2021; 446. (In Russ.) <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-6-8.2021.446>
 8. Filipiev I. N. Harmful and useful nematodes in agriculture. M.; L., OGIZ-Selkhozgiz, 1934; 440. (In Russ.)
 9. Chitwood D. J. Nematicides. Encyclopedia of Agrochemicals. New York, NY: John Wiley & Sons. 2003; 3: 1104-1115.
 10. Kiferle C., Martinelli M., Salzano A. M. et al. Evidences for a Nutritional Role of Iodine in Plants. *Front. Plant Sci.* 2021; 12: 616868. doi: 10.3389/fpls.2021.616868.
 11. Rajasekharan, S.K., Lee, JH., Ravichandran, V. et al. Nematicidal and insecticidal activities of halogenated indoles. *Sci. Rep.* 2019; 9 (1): 2010. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38561-3>.
 12. Sasanelli N., Konrat A., Migunova V., Toderas I., Iurcu-Straistaru E., Rusu S., Bivol A., Andoni C., Veronico P. Review on Control Methods against Plant Parasitic Nematodes Applied in Southern Member States (C Zone) of the European Union. *Agriculture-Basel* 2021, 11 (7): 602. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070602>

The article was submitted 04.04.2022; accepted for publication 15.06.2022

About the authors:

Konrat Alena N., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, Alenakonrat@vniigis.ru

Novik Tamara S., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, ORCID ID: 0000-0001-9317-2052, novik.tamara@mail.ru

Shesteporov Alexander A., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russia, aleks.6perov@yandex.ru

Contribution of co-authors:

Konrat Alena N. – obtaining data for analysis, analysis and interpretation of the obtained data, writing the text of the manuscript, review of publications on the topic of the article.

Novik Tamara S. – the idea of the research, approval of the version of the article for publication.

Shesteporov Alexander A. – obtaining data for analysis, analysis and interpretation of the obtained data, writing the text of the manuscript, review of publications on the topic of the article.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:616.993.192.6

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-359-366>

Профилактическая эффективность препаратов при пироплазмидозах лошадей в Горном Алтае

Виктор Алексеевич Марченко¹, Вера Александровна Пар²,
Иван Владимирович Бирюков³

^{1,3} Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, Барнаул, Россия

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

¹ oestrus@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0802-064X>

² rarv@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5930-5306>

³ ivan.219@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8934-0778>

Аннотация

Цель исследований – изучить профилактическую эффективность пироплазмозидных препаратов и выяснить влияние профилактических доз имидакарба дипропионата на выживаемость возбудителей заболевания.

Материалы и методы. 150 головам лошадей внутримышечно вводили бабезан 12% из расчета по действующему веществу имидакарба дипропионата 2,5 мг/кг массы тела и 30 головам двукратно вводили неозидин М в дозе по ДВ 2,5 мл на 100 кг живой массы с интервалом 15 сут. Контрольной группе животных препарат не вводили. Клиническое наблюдение за состоянием животных опытной и контрольной групп осуществляли в течение 72 сут. Перед началом опыта и спустя 14 сут после введения препаратов исследовали пробы крови методом двухраундовой ПЦР в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена 18S рРНК на наличие ДНК *Babesia* spp. / *Theileria* spp. Установление видовой принадлежности и генотипирование обнаруженных пироплазм проводили посредством секвенирования фрагментов гена 18S рРНК.

Результаты и обсуждение. Из 12 обследованных лошадей в пробах крови у 8 животных (66,7%) обнаружена ДНК пироплазмид, из них 50,0% идентифицированы как *Theileria equi* и 16,7% как *Babesia caballi*. Высокий уровень встречаемости ДНК *T. equi* (свыше 50,0%) свидетельствует об эндемичном течении тейлериоза лошадей. Применение бабезана 12% при ранней химиотерапии лошадей позволяет профилактировать заболеваемость тейлериозом в течение 48 и 59 сут. Двукратная химиотерапия лошадей неозидином М с интервалом 15 сут предотвращает заболеваемость в течение 52 сут. Бабезан 12% в профилактической дозе не оказывает воздействия на выживаемость персестирующих стадий *T. equi*.

Ключевые слова: лошадь, *Theileria equi*, *Babesia caballi*, пироплазмозиды, эффективность

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Республики Алтай в рамках научного проекта № 20-44-040004, проектов Государственного задания ФБГНУ ФАНЦА (№ 0534-2021-0005) и ИХБФМ СО РАН (№ 0245-2021-0008).

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Марченко В. А., Пар В. А., Бирюков И. В. Профилактическая эффективность препаратов при пироплазмидозах лошадей в Горном Алтае // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 359–366.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-359-366>

© Марченко В. А., Пар В. А., Бирюков И. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Prophylactic efficacy of drugs against equine piroplasmidosis in Gorny Altai

Viktor A. Marchenko¹, Vera A. Rar², Ivan V. Biryukov³

^{1,3}Federal Altai Scientific Center of Agro-Bio Technologies, Barnaul, Russia

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russia

¹oestrus@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0802-064X>

²rarv@niboch.nsc.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5930-5306>

³ivan.219@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8934-0778>

Abstract

The purpose of the research is to study the prophylactic efficacy of piroplasmicides and to elucidate the effect of prophylactic doses of Imidocarb Dipropionate on the pathogen viability.

Materials and methods. Babezan 12% was intramuscularly injected to 150 horses based on the active substance of Imidocarb Dipropionate at 2.5 mg/kg of the body weight and Neosidin M was injected to 30 horses twice at a dose of 2.5 mL per 100 kg of the live weight with a 15-day interval. The control group of animals did not receive the drug. The clinical follow-up of the experimental and control animals' condition was done for 72 days. Before the experiment and 14 days after the drugs, blood samples were examined by the nested PCR in the presence of genus-specific primers from the 18S rRNA gene sequence for the *Babesia* spp. / *Theileria* spp. DNA. Species identification and genotyping of the detected Piroplasma were performed by sequencing 18S rRNA gene fragments.

Results and discussion. Among 12 examined horses, 8 animals (66.7%) had the Piroplasmida DNA found in the blood samples, of which 50.0% were identified as *Theileria equi* and 16.7% as *Babesia caballi*. A high *T. equi* DNA prevalence (over 50.0%) indicates an endemic course of equine theileriosis. Babezan 12% in early chemotherapy of the horses helped to prevent the incidence of theileriosis within 48 and 59 days. Double chemotherapy of the horses with Neosidin M with a 15-day interval prevented the morbidity for 52 days. Babezan 12% at the preventive dose had no effect on the viability of persistent *T. equi* stages.

Keywords: horse, *Theileria equi*, *Babesia caballi*, piroplasmicides, efficacy

Acknowledgements. The study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research and the Republic of Altai within Scientific Project No. 20-44-040004, and the State Task Projects of the Federal Altai Scientific Center of Agro-Bio Technologies (No. 0534-2021-0005) and of the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the RAS (No. 0245-2021-0008).

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Marchenko V. A., Rar V. A., Biryukov I. V. Prophylactic efficacy of drugs against equine piroplasmidosis in Gorny Altai. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 359–366. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-359-366>

© Marchenko V. A., Rar V. A., Biryukov I. V., 2022

Введение

Коневодство – активно развивающаяся отрасль животноводства Горного Алтая. В последние годы значительно выросла численность популяции лошадей, которая превысила отметку 150 тыс. и в пределах Сибири и Дальнего Востока уступает только Якутии [1].

В Горном Алтае практикуется отгонно-пастбищная система ведения коневодства, при этом сохраняется естественная связь паразитов с природной средой, в силу чего паразитокомплекс лошадей характеризуется широким видовым разнообразием; многие из них являются возбудителями опасных инвазионных заболеваний.

До настоящего времени остаются недостаточно изученными как зоопаразитарные (паразитические членистоногие и гельминты), так и кровепаразитарные инвазии, изучению которых посвящены редкие публикации. В практическом отношении для Горного Алтая представляют интерес пироплазмидозы – природно-очаговые инвазии, вызываемые простейшими гемопаразитами из отряда *Piroplasmida* – *Babesia caballi* и *Theileria equi*.

В антропогенной среде (места обитания животных) постоянно функционируют очаги пироплазмидозов и периодически происходят вспышки кровепаразитарных заболеваний у лошадей в Сибири, однако они не привлекают должного внимания исследователей. В научной литературе имеются лишь фрагментарные сведения об этих инвазиях, основанных в основном на клинических признаках заболевания и в немногих исследованиях, проведенных с использованием генетических методов, был идентифицирован только один возбудитель пироплазмидоза – *T. equi* [3, 4], в то же время *B. caballi* ранее широко выявляли во многих неблагополучных по пироплазмозу регионах, в том числе и на Алтае [5].

Заболевания, вызываемые различными видами пироплазмид, имеют сходные клинические признаки и протекают в различных клинических формах; острое течение инвазии часто приводит к гибели лошадей и существенным экономическим потерям [11]. Сложная эпизоотическая обстановка по пироплазмидозам лошадей в хозяйствах Горного Алтая предполагает регулярное проведение химиофилактических обработок животных [2, 3].

Основными противопироплазмидными средствами, применяемыми с целью специфической химиотерапии лошадей в весенний период, являются препараты с действующим веществом имидакарба дипропионата и диминазена диацетурата (бабезан, азидин, верибен и др.). Препараты, в целом, демонстрируют достаточно высокую профилактическую и терапевтическую эффективность; применяются на территории Алтая длительное время, но в то же время эпизоотическая ситуация по пироплазмидозам лошадей существенно не улучшается.

В связи с этим, нами предпринято исследование по оценке профилактической эффек-

тивности применяемых на практике в Горном Алтае пироплазмидозов и выяснение влияния профилактических доз рекомендованных препаратов на выживаемость возбудителей заболевания.

Материалы и методы

На базе Чергинского отделения Опытной станции «АЭХ» ФАНЦА и ООО «Стрелец» Шебалинского района Республики Алтай в период с 3 декады марта по 1 декаду июня 2021 г. были проведены два опыта по оценке профилактической эффективности препаратов бабезан 12% и неозидин М при пироплазмидозах лошадей. Бабезан 12% в качестве действующего вещества (ДВ) содержит 120 мг имидакарба дипропионата в 1 мл препарата, неозидин М – два ДВ: 57,5 мг диминозена диацетурата и 57,5 мг антипиридина (феназон) в 1 мл.

По принципу аналогов были сформированы три опытные и контрольная группа из спонтанно инвазированных животных. 150 лошадям внутримышечно вводили бабезан 12% в дозе по ДВ 2,5 мг/кг массы тела и 30 лошадям – двукратно неозидин М из расчета 2,5 мл на 100 кг массы тела с интервалом 15 сут; контрольной группе животных препарат не вводили. Клиническое наблюдение за состоянием животных опытных и контрольной групп проводили в течение 72 сут. Срок продолжительности профилактического действия рассчитывали относительно последнего случая заболевания в контрольной группе.

Перед началом опыта (инъекции препаратов) и спустя 15 сут после исследования пробы крови от 12 лошадей ООО «Стрелец» на наличие кровепаразитов. Пробы крови исследовали методом двухраундовой ПЦР в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена 18S рРНК на наличие ДНК *Babesia* spp. / *Theileria* spp. Видовую принадлежность и генотипирование обнаруженных пироплазм определяли посредством секвенирования фрагментов гена 18SpРНК. Сравнение определенных нуклеотидных последовательностей с известными последовательностями проведено с использованием программы BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Постановку ПЦР осуществляли в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН по методике, описанной ранее [4].

Результаты

После применения препаратов видимого токсического воздействия на животных не выявлено.

Результаты постановки ПЦР для выявления ДНК пироплазм в образцах крови опытных групп лошадей до и после введения препаратов приведены в таблице 1.

Таблица 1 [Table 1]

Выявление ДНК пироплазм в пробах крови лошадей опытных групп ООО «Стрелец» Шебалинского района [Detection of piroplasm DNA in blood samples from experimental horses LLC "Strelets" Shebalinsky district]

Дата взятия проб [Sample date]	Число проб [Number of samples]	Процент проб, содержащих ДНК [Percentage of samples containing DNA]		
		<i>T. equi</i>	<i>B. caballi</i>	оба вида [both types]
<i>До введения бабезана 12% [Before the introduction of Babesan 12%]</i>				
27.03.2021 г.	12	6 (50,0)	2 (16,7)	8 (66,7)
<i>После введения препарата [After drug administration]</i>				
10.04.2021 г.	10	7 (70,0)	0	7 (70,0)

Из 12 обследованных лошадей опытной группы в пробах крови у 8 животных (66,7%) обнаружена ДНК пироплазмид, из них 50,0% идентифицированы как *T. equi* и 16,7% как *B. caballi*. В выборке из десяти голов лошадей первой опытной группы через 14 сут после введения препарата в пробах крови у 7 животных (70%) обнаружена ДНК пироплазмид и все идентифицированы как *T. equi*. Следует отметить, что в пробах крови после введения препарата ДНК *B. caballi* не обнаружена, но относительно низкий уровень инвазии этим видом не

позволяет судить о паразитоцидной активности препарата. В целом, показатели наличия ДНК пироплазмид до и после применения препарата не имеют существенных различий (66,7 и 70,0%).

Таким образом, бабезан 12% в дозе по ДВ 2,5 мг/кг не оказывает видимого воздействия на показатель встречаемости ДНК *T. equi* в крови обработанных животных.

Результаты опыта по оценке профилактической эффективности бабезана 12% и неозидина М приведены в таблице 2.

Таблица 2 [Table 2]

Профилактическая эффективность препаратов при пироплазмидозах лошадей [Preventive efficacy of drugs against piroplasmidoses of horses]

Группа животных [Group of animals]	Число животных в группе [Number of animals in the group]	Препарат, ДВ, доза [Drug, AS, dose]	Дата введения препарата [Date of drug administration]	Число заболевших животных [Number of sick animals]	Период регистрации заболевших, сут [Case registration period, days]	Заболеваемость, % [Morbidity, %]	Продолж. проф. действия, сут [The duration of the prophylactic action, day]
Опытная [Experienced]	125	Бабезан 12%, 2,5 мг имидокарба на 1 кг массы тела	27.03	0	-	0	59
Опытная [Experienced]	25	Бабезан 12%, 2,5 мг имидокарба на 1 кг массы тела	06.04	0	-	0	48
Опытная [Experienced]	30	Неозидин М, двукратно по 2,5 мл на 100 кг массы тела	03.04	0	-	0	52
Контрольная [Control]	34	-	-	7	19.04–25.05	20,5	-

За период наблюдения в опытных группах по клиническим признакам не зарегистрировано случаев заболевания животных пироплазмидозами. В контрольной группе в период с 19.04 по 25.05.2021 зарегистрировано 7 случаев клинического проявления заболевания, которые обусловили проведение вынужденной химиотерапии животных.

По результатам наблюдений, ранняя химиотерапия лошадей бабезаном 12% в дозе 2,5 мг/кг по ДВ позволила профилактировать заболеваемость в течение 48 и 59 сут соответственно. Обработка лошадей неозидином М двукратно из расчета 2,5 мл на 100 кг массы тела с интервалом 15 сут позволяет предотвратить заболеваемость в течение 52 сут.

Обсуждение

Пироплазмидозы лошадей широко распространены на территории Сибири, Российской Федерации и в мире [4–6, 8, 10]. В тоже время, существуют публикации, указывающие на отсутствие этих инвазий в таких странах, как Австралия, Великобритания, Канада, Ирландия, Новая Зеландия и Япония [7, 12, 14].

В эндемичных районах доля инвазированных лошадей часто бывает высокой и превышает уровень 60–70% [2, 15]. Однако, у большинства животных пироплазмы паразитируют без клинических признаков заболевания. Принято считать, что в большинстве случаев вспышки заболевания происходят тогда, когда неинвазированные лошади попадают в эндемичные районы или если животные с персистирующей инвазией (паразитоносители) попадают в районы, в которых пироплазмидозы лошадей отсутствуют, но имеются специфичные клещи-переносчики [13]. Практика показывает, что во многих случаях вспышки заболеваний возникают в любой из эпизоотологических зон (латентная, угрожаемая, энзоотическая) и обусловлены нападением клещей-переносчиков.

Проведенные исследования свидетельствуют о распространении у лошадей в Шебалинском районе Республики Алтай пироплазмидозов, обусловленных паразитированием *T. equi* и *B. caballi*, вызывающих заболевание тейлериоз и бабезиоз. В данном случае в крови 16,7% животных регистрировали оба вида. Совместное паразитирование обоих видов пироплазмид у

лошадей – достаточно распространенное явление на различных территориях [9, 13].

Применение бабезана 12% в дозе 2,5 мг/кг по ДВ позволило профилактировать заболеваемость тейлериозом и бабезиозом в течение 48 и 59 сут соответственно. Обработка лошадей неозидином М двукратно из расчета 2,5 мл на 100 кг массы тела с интервалом 15 сут предотвращало заболеваемость в течение 52 сут.

Бабезан 12% в дозе 2,5 мг/кг по ДВ не оказал видимого воздействия на выживаемость персестирующих стадий *T. equi*.

Имидокарб – ярко выраженный антипротозойный препарат из группы имидазолина. В крови животных он связывается с ДНК пироплазмид, подавляет синтез нуклеиновых кислот, что также препятствует синтезу полиаминов, блокирует поступление в организм витаминopodobного вещества – иназитола (витамина В8), обеспечивающего жизнедеятельность кровепаразита. Блокировка проникновения инозита в эритроцит с паразитом приводит к его «голоданию», что и объясняет профилактический эффект имидокарба. Присутствие имидокарба на поверхности эритроцита может сделать его непривлекательным для паразита, точнее его расселительным формам, которые попадают в организм через клещей-переносчиков. В то же время, переживающие (персестирующие) стадии паразитов остаются индифферентными к действию препарата. И этот феномен, вероятнее всего, можно объяснить тем, что основной механизм основан не только воздействием на внутриклеточного паразита, но и, в первую очередь, на пропативные формы пироплазмид, временно циркулирующих в плазме крови после инокуляции клещами.

Все это можно рассматривать как гипотезу, требующую дальнейшего исследования. Однако, она достаточно хорошо объясняет и подтверждает тот факт, что размножение пироплазмид в крови животных происходит после нападения клещей и для развития персестирующих кровепаразитов необходимо обязательное прохождение через клещей-переносчиков.

Заключение

Проведенные исследования проб крови методом двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием ДНК пироплазмид от лоша-

дей Шебалинского района Республики Алтай указывают на паразитирование видов *T. equi* и *B. caballi*. Высокий уровень встречаемости ДНК *T. equi* (свыше 50,0%) свидетельствует об эндемичном течении тейлериоза у лошадей.

Применение бабезана 12% в дозе 2,5 мг/кг по ДВ позволило профилактировать заболеваемость тейлериозом и бабезиозом в течение 48 и 59 сут соответственно. Обработка лошадей неозидином М двукратно из расчета 2,5 мл на 100 кг массы тела с интервалом 15 сут предотвратило заболеваемость в течение 52 сут.

Бабезан 12% в дозе 2,5 мг/кг по ДВ не оказал видимого воздействия на выживаемость персистирующих стадий *T. equi*, что подтверждает необходимость регулярной химиотерапии животных в весенний период.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Князев С. П., Тимченко А. М. Динамика поголовья и современное состояние ресурсов лошадей в Сибири // Вестник Новосибирского государственного университета. 2016. № 1(38). С. 139-146.
2. Марченко В. А., Рар В. А., Айбыкова Ч. Т. Профилактика пироплазмидозов лошадей горного Алтая // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: сборник научных статей по материалам Международной научной конференции. М., 2021. Вып. 22. С. 323-329. <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.323-329>.
3. Рар В. А., Ефремова Е. А., Марченко В. А., Тикунов А. Ю., Тикунова Н. В. Молекулярно-генетический анализ возбудителей кровепаразитарных болезней сельскохозяйственных животных на территории Горного Алтая // «Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий»: материалы V международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Горно-Алтайского НИИСХ. Горно-Алтайск, 2015. С. 119-123.
4. Рар В. А., Марченко В. А., Ефремова Е. А., Сунцова О. В., Лисак О. В., Тикунов А. Ю., Мельцов И. В., Тикунова Н. В. Идентификация и генетическая характеристика этиологического агента пироплазмидоза лошадей на территории Западной и Восточной Сибири // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22. № 2. С. 224-229. <https://doi.org/10.18699/VJ18.351>.
5. Семенов П. В. Распространение иксодовых клещей и гемоспоридиозы лошадей в Алтайском крае // Сборник научных работ СибНИВИ. 1954. Вып. V. С. 233-260.
6. Христиановский П. И., Белименко В. В. Пироплазмидозы животных на Южном Урале // Российский паразитологический журнал. 2009. № 2. С. 70-74.
7. Bhoora R., Franssen L., Oosthuizen M. C., Guthrie A. J., Zweggarth E., Penzhorn B. L., Jongejan F., Collins N. E. Sequence heterogeneity in the 18S rRNA gene within *Theileria equi* and *Babesia caballi* from horses in South Africa. *Vet. Parasitol.* 2009; 159 (2): 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.004>.
8. Hong Yin, Jianxun Luo, Guanyuan Liu, Guiquan Guan, Youquan Li, Zhijie Liu, Qingli Liu, Aihong Liu, Junlong Liu, Jifei Yang. Advance on the Piroplasms in China. *Iran J Parasitol.* 2017; 12 (1): 9.
9. Malekifard F., Tavassoli M., Yakhchali M. Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses and donkeys by microscopic and molecular methods in Urmia suburb, West Azerbaijan province, Iran. *Iran J. Parasitol.* 2015; 10 (1): 223.
10. Muhammad Jamal Khan Afridi, Abdul Hafeez Mian, Muhammad Saqib et al. Seroprevalence and Risk Factors for *Theileria equi* Infection in Equines from Khyber Pakhtunkhwa Province, Pakistan. *Iran J. Parasitol.* 2017; 12 (4): 597-605.
11. Rothschild C. M. Equine piroplasmosis. *J. Equine Vet. Sci.* 2013; 33: 497-508. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.189>.
12. Salim B., Bakheit M. A., Kamau J., Nakamura I., Sugimoto C. Nucleotide sequence heterogeneity in the small subunit ribosomal RNA gene within *Theileria equi* from horses in Sudan. *Parasitol. Res.* 2010; 106 (2): 493-498. DOI: 10.1007/s00436-009-1691-7.
13. Scoles G. A., Ueti M. W. Vector ecology of equine piroplasmosis. *Annu. Rev. Entomol.* 2015; 60: 561-580. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento010814-021110>.
14. Wise L. N., Kappmeyer L. S., Mealey R. H., Knowles D. P. Review of equine piroplasmosis. *J. Vet. Intern. Med.* 2013; 27 (6): 1334-1346.
15. Zhang Y., Chahan B., Liu S. et al. Epidemiologic studies on *Theileria equi* infections for grazing horses in Ili of Xinjiang province. *Vet. Parasitol.* 2017; 244: 111113.

Статья поступила в редакцию 27.01.2022; принята к публикации 15.07.2022

Об авторах:

Марченко Виктор Алексеевич, Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий (656910, г. Барнаул, Научный городок, 35), г. Барнаул, Россия, доктор биологических наук, профессор, ORCID ID: 0000-0003-0802-064X, oestrus@mail.ru

Рар Вера Александровна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8), г. Новосибирск, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0002-5930-5306, rarv@niboch.nsc.ru

Бирюков Иван Владимирович, Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий (656910, г. Барнаул, Научный городок, 35), г. Барнаул, Россия, кандидат ветеринарных наук, доцент, ORCID ID: 0000-0002-7736-0763, ivan.219@mail.ru

Вклад авторов:

Марченко Виктор Алексеевич – дизайн исследования, проведение научно-исследовательской работы, сбор и анализ данных, подготовка статьи.

Рар Вера Александровна – проведение научно-исследовательской работы, анализ полученных результатов исследования, подготовка статьи.

Бирюков Иван Владимирович – проведение научно-исследовательской работы, подготовка статьи.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

1. Knyazev S. P., Timchenko A. M. Livestock dynamics and current state of horse resources in Siberia. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Novosibirsk State University*. 2016; 1 (38): 139-146. (In Russ.)
2. Marchenko V. A., Rar V. A., Aybykova Ch. T. Prevention of pyroplasmidoses of horses in Gorny Altai. «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»: *sbornik nauchnykh statey po materialam Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii = "Theory and practice of parasitic disease control": collection of Scientific Articles adapted from the International Scientific Conference*. M., 2021; 22: 323-329. <https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.323-329>.
3. Rar V. A., Efremova E. A., Marchenko V. A., Tikunov A. Yu., Tikunova N. V., Molecular genetic analysis of causative agents of blood protozoan diseases in live-stock animals in the Altai Mountains. «Aktual'nyye problemy sel'skogo khozyaystva gornyykh territoriy»: *materialy V mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 85-letiyu Gorno-Altayskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta sel'skogo khozyaystva = "Current issues of agriculture in mountainous areas": proceedings of the V International Scientific and Practical Conference dedicated to the 85th Anniversary of the Gorno-Altaysk Research Institute of Agriculture*. Gorno-Altaysk, 2015; 119-123. (In Russ.)
4. Rar V. A., Marchenko V. A., Efremova E. A., Suntsova O. V., Lisak O. V., Tikunov A. Yu., Meltsov I. V., Tikunova N. V. Identification and genetic characterization of the etiological agent of equine piroplasmidosis in Western and Eastern Siberia. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018; 22 (2): 224-229. (In Russ.) <https://doi.org/10.18699/VJ18.351>.
5. Semenov P. V. Spread of ixodid ticks and hemosporidial infections of horses in the Altai Territory. *Sbornik nauchnykh rabot Sibirskogo nauchno-issledovatel'skogo veterinarnogo instituta = Collection of scientific papers of the Siberian Research Veterinary Institute*. 1954; 5: 233-260. (In Russ.)
6. Khristianovsky P. I., Belimenko V. V. Piroplasmidosis in animals in the South Urals. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2009; 2: 70-74. (In Russ.)
7. Bhoora R., Franssen L., Oosthuizen M. C., Guthrie A. J., Zwegarth E., Penzhorn B. L., Jongejan F., Collins N. E. Sequence heterogeneity in the 18S rRNA gene within *Theileria equi* and *Babesia caballi* from horses in South Africa. *Vet. Parasitol.* 2009; 159 (2): 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.004>.

8. Hong Yin, Jianxun Luo, Guanyuan Liu, Guiquan Guan, Youquan Li, Zhijie Liu, Qingli Liu, Aihong Liu, Junlong Liu, Jifei Yang. Advance on the Piroplasms in China. *Iran J Parasitol.* 2017; 12 (1): 9.
9. Malekifard F., Tavassoli M., Yakhchali M. Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses and donkeys by microscopic and molecular methods in Urmia suburb, West Azerbaijan province, Iran. *Iran J. Parasitol.* 2015; 10 (1): 223.
10. Muhammad Jamal Khan Afridi, Abdul Hafeez Mian, Muhammad Saqib et al. Seroprevalence and Risk Factors for *Theileria equi* Infection in Equines from Khyber Pakhtunkhwa Province, Pakistan. *Iran J. Parasitol.* 2017; 12 (4): 597-605.
11. Rothschild C. M. Equine piroplasmiasis. *J. Equine Vet. Sci.* 2013; 33: 497-508. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.189>.
12. Salim B., Bakheit M. A., Kamau J., Nakamura I., Sugimoto C. Nucleotide sequence heterogeneity in the small subunit ribosomal RNA gene within *Theileria equi* from horses in Sudan. *Parasitol. Res.* 2010; 106 (2): 493-498. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1691-7>.
13. Scoles G. A., Ueti M. W. Vector ecology of equine piroplasmiasis. *Annu. Rev. Entomol.* 2015; 60: 561-580. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento010814-021110>.
14. Wise L. N., Kappmeyer L. S., Mealey R. H., Knowles D. P. Review of equine piroplasmiasis. *J. Vet. Intern. Med.* 2013; 27 (6): 1334-1346.
15. Zhang Y., Chahan B., Liu S. et al. Epidemiologic studies on *Theileria equi* infections for grazing horses in Ili of Xinjiang province. *Vet. Parasitol.* 2017; 244: 111113.

The article was submitted 27.01.2022; accepted for publication 15.07.2022

About the authors:

Marchenko Viktor A., Federal Altai Scientific Center of Agro-Bio Technologies (35 Scientific town, Barnaul, 656910), Barnaul, Russia, Dr. Sc. Biol., Professor, ORCID ID: 0000-0003-0802-064X, oestrus@mail.ru

Rar Vera A., Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the RAS (8 Lavrentieva Pr., Novosibirsk, 630090), Novosibirsk, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0002-5930-5306, rarv@niboch.nsc.ru

Biryukov Ivan V., Federal Altai Scientific Center of Agro-Bio Technologies (35 Scientific town, Barnaul, 656910), Barnaul, Russia, Cand. Sc. Vet., Associate Professor, ORCID ID: 0000-0002-7736-0763, ivan.219@mail.ru

Contribution of co-authors:

Marchenko Viktor A. – study design, research work, data collection and analysis, article preparation.

Rar Vera A. – research work, study result analysis, article preparation.

Biryukov Ivan V. – research work, article preparation.

All authors have read and approved the final manuscript.

Научная статья

УДК 619:616.993.192

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-367-376>

Проблема разработки антипротозойных средств для лечения и профилактики протозоозов рыб, теоретические и практические подходы к её решению

Леонид Николаевич Фетисов¹, Александра Евгеньевна Святогорова²,
Кристина Николаевна Кононенко³, Виктория Владимировна Чекрышева⁴,
Александр Александрович Зубенко⁵

¹⁻⁵ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», Новочеркасск, Россия

¹ fetisoff.leonid2018@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>

² sviatogorova.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>

³ velikayakrista@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>

⁴ veterinar1987@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>

⁵ alexsandrzubenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>

Аннотация

Цель исследований – определить безопасные параметры использования некоторых амидов жирных кислот при протозойных болезнях рыб.

Материалы и методы. Исследования по синтезу и определению биологической активности новых соединений проводили в лабораторных условиях ТК химического синтеза Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института. Протистоцидную активность новых веществ определяли в жидкой питательной среде методом серийных разведений по нашей методике. В качестве тест-культуры использовали инфузорий *Colpoda steinii*. Токсичность растворов определяли на аквариумных рыбах Гуппи (*Poecilia reticulata*). Учет эффективности проводили по альтернативной форме реакции: протистоцидной считали минимальную концентрацию, при которой погибали все особи простейших; за безопасную для рыб принимали максимальную концентрацию, при которой все рыбы оставались живы, т. е. первую после абсолютно смертельных концентраций. Соблюдение этих условий потребовало приготовление растворов с минимальными интервалами концентрации от 1 до 0,1 мкг/мл, а также непрерывного наблюдения с фиксацией результатов. Тестировали два соединения: амид миристиновой кислоты и амид олеиновой кислоты.

Результаты и обсуждение. При концентрации водного раствора амида миристиновой кислоты 0,2 мкг/мл рыбы сохраняли жизнеспособность в течение 3 сут в растворе (срок наблюдения), а в растворе концентрацией 0,5 мкг/мл рыбы оставались живыми 3,5 ч и более (до 20 ч). В тоже время, концентрация 0,14 мкг/мл оказывала протистоцидное действие на простейших *C. steinii* при экспозиции 40 мин. Максимально переносимая для рыб концентрация амида олеиновой кислоты составила 1 мкг/мл при экспозиции 2 и более сут и 2 мкг/мл при экспозиции 4 ч. Минимальный уровень протистоцидной активности амида олеиновой кислоты составил 0,58 мкг/мл при экспозиции 18 ч.

Ключевые слова: амид миристиновой кислоты, амид олеиновой кислоты, протистоцидная активность, токсичность, рыба

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Фетисов Л. Н., Святогорова А. Е., Кононенко К. Н., Чекрышева В. В., Зубенко А. А. Проблема разработки антипротозойных средств для лечения и профилактики протозоозов рыб, теоретические и практические подходы к её решению // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 367–376.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-367-376>

© Фетисов Л. Н., Святогорова А. Е., Кононенко К. Н., Чекрышева В. В., Зубенко А. А., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Development issue of antiprotozoal agents to treat and prevent protozoal infections of fish, and theoretical and practical approaches to its solution

Leonid N. Fetisov¹, Alexandra E. Svyatogorova², Kristina N. Kononenko³,
Viktoria V. Chekrysheva⁴, Aleksandr A. Zubenko⁵

¹⁻⁵ North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute - branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Rostov Agricultural Research Center", Novocherkassk, Russia

¹ fetisoff.leonid2018@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>

² sviatogorova.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>

³ velikayakrista@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>

⁴ veterinar1987@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>

⁵ alexsandrzubenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>

Abstract

The purpose of the research is to determine safe parameters for the use of certain fatty acid amides against protozoal diseases of fish.

Materials and methods. The synthesis and biological activity determination of new compounds were studied in laboratory conditions of the chemical synthesis creative team of the North Caucasus Zonal Research Veterinary Institute. The protistocidal activity of the new substances was determined in a liquid nutritional medium by serial dilution according to our technique. The ciliate *Colpoda steinii* was used as a test culture. The solution toxicity was determined on aquarium Guppy (*Poecilia reticulata*). The efficacy was assessed according to an alternative form of the response: the minimum concentration that all protozoan species died in was considered as protistocidal; the maximum concentration that all fish remained alive in was recognized as safe for the fish, i.e., the first concentration after the absolute lethal concentrations. Compliance with these conditions required the prepared solutions having minimal concentration ranges from 1 to 0.1 µg/mL, as well as continuous monitoring with recording the results. Two compounds were tested, namely, myristic acid amide and oleic acid amide.

Results and discussion. The fish remained viable in the aqueous myristic acid amide solution concentration of 0.2 µg/mL for 3 days (monitoring period), and the fish remained alive for 3.5 hours or more (up to 20 hours) in the solution concentration of 0.5 µg/mL. At the same time, a concentration of 0.14 µg/mL had a protistocidal effect on the protozoan *C. steinii* if exposed for 40 minutes. The maximum tolerated oleic acid amide concentration for fish was 1 µg/mL if exposed for 2 or more days and 2 µg/mL if exposed for 4 h. The minimum protistocidal activity level of oleic acid amide was 0.58 µg/mL at an 18 h exposure.

Keywords: myristic acid amide, oleic acid amide, protistocidal activity, toxicity, fish

Financial Disclosure: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Fetisov L. N., Svyatogorova A. E., Kononenko K. N., Chekrysheva V. V., Zubenko A. A. Development issue of antiprotozoal agents to treat and prevent protozoal infections of fish, and theoretical and practical approaches to its solution. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 367–376. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-367-376>

© Fetisov L. N., Svyatogorova A. E., Kononenko K. N., Chekrysheva V. V., Zubenko A. A., 2022

Введение

Продолжительное время в СКЗНИВИ ведутся работы по синтезу и определению биологической активности новых соединений

– до 150 ежегодно. При этом оценивается наличие и величина антибактериальной, фунгистатической и протистоцидной активности веществ. Среди исследованных веществ, при-

надлежащих к различным классам и группам химических соединений, чаще всего устанавливали высокую антипротозойную активность (от 15,6 до 0,24 мкг/мл в отношении инфузорий *C. steinii*). Были основания предполагать, что среди изученных соединений удастся без труда обнаружить активно действующие субстанции для разработки антипротозойных средств для лечения и профилактики протозоозов у рыб. К сожалению, задача по разработке нового антипротозойного средства оказалась сложнее и не ограничивалась обнаружением соединений с высокой протистоцидной активностью.

Существует ряд причин, затрудняющих разработку и эффективное использование новых антипротозойных субстанций:

1. Простейшие, как и другие животные, в том числе и рыбы – это эукариоты. По классификации А. Л. Тахтаджяна [12], простейшие в макросистеме живых организмов в биосфере относятся к надцарству ядерных, царству животных, подцарству простейших. В царство животных входят и многоклеточные [12]. Таким образом, несмотря на то, что простейшие – это одноклеточные организмы, им присущи признаки и свойства сложных многоклеточных организмов: их клетки имеют оболочку, цитоплазму, ядро и другие органеллы. Обменные процессы их схожи с таковыми у многоклеточных животных. Благодаря сходству со сложными эукариотическими организмами, простейших часто используют при определении токсичности (опасности), например, кормов для животных. Комбикормовые заводы, осуществляя входной контроль зернового сырья, проводят исследования всех партий на токсичность (обусловленную, к примеру, наличием в зерне микотоксинов). В качестве тест-организмов используются простейшие, чаще всего инфузории: тетрахимены, стилоухии, колподы и парамеции. Авторы подобных методик полагают, что полученные на простейших данные по токсичности, объективно отражают уровень опасности того или иного корма для других животных эукариотов, например, сельскохозяйственных животных, птиц и рыб [13].

2. Поскольку протисты и сельскохозяйственные животные относятся к эукариотам и имеют много сходных моментов в обмене веществ, постольку существует объективная

трудность в изыскании антипротозойных средств, эффективно убивающих простейших и безопасных для многоклеточных животных (сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы) [9]. Большинство антибиотиков, предназначенных для уничтожения бактерий, на простейших не действуют, как и на другие эукариотические организмы и это хорошо, так как, в противном случае, антибиотики убивали бы и животных, и людей. Напротив, эффективные протистоцидные средства, с большой вероятностью, будут опасными для других эукариотических организмов (животных, птиц и, в особенности, рыб) [2, 3, 11].

3. Тот факт, что и возбудители протозоозов – инфузории, как паразиты, и рыбы, как «хозяева» относятся к ядерным организмам – эукариотам, резко сужает возможности поиска новых антипротозойных средств ввиду потенциальной опасности оказаться токсичными для многоклеточных организмов. Исследователи, занимающиеся таким поиском, вынуждены постоянно решать одновременно две противоположные задачи: предлагать новые протистоцидные средства с высоким уровнем активности и, в то же время, безопасные для здоровья рыб. Зачастую, задача оказывается неразрешимой: снижая концентрацию соединения или сокращая время его воздействия на рыб, обеспечиваем безопасность для рыб, но при этом утрачиваем частично или полностью его антипротозойную эффективность.

4. Особенным моментом при решении этой задачи является также то, что паразиты (простейшие) и хозяева (рыбы) обитают в одной среде – воде [4, 6, 7]. Затрудняющим лечение фактором является необходимость уничтожать паразитов, например, инфузорий и жгутиконосцев, на коже, жабрах и внутренних органах рыб. Жабры, в любом случае, оказываются под воздействием препарата, так как рыба может получать кислород только из воды, прокачивая её между жаберными лепестками. Так как лечебные препараты растворяются в воде, то орган дыхания рыб – жабры оказываются под воздействием любого антипротозойного средства. Существует много препаратов, обладающих протистоцидной эффективностью в отношении как модельных простейших, так и патогенных инфузорий и жгутиконосцев [1, 10, 19–21]. Их активность проявляется, казалось бы, в низких концен-

трациях – от 1 до 0,1 мкг/мл. Тем не менее, даже в таких низких концентрациях многие вещества остаются опасными для рыб, поражая, в первую очередь, их жаберный аппарат.

В СКЗНИВИ проводятся исследования по синтезу и определению биологической активности новых соединений с целью отбора новых субстанций для разработки антибактериальных и протистоцидных средств [8, 11, 17, 18]. Одними из перспективных соединений оказались катионные поверхностно-активные вещества ряда амидов жирных кислот, обладающие одновременно протистоцидной и антибактериальной активностью.

Цель настоящей работы – определить безопасные параметры использования некоторых амидов жирных кислот при протозойных болезнях рыб.

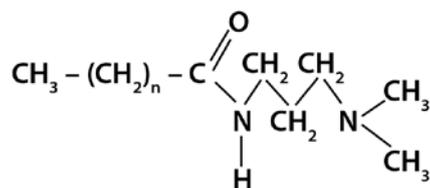
Исходя из вышесказанного, можно вести целенаправленный поиск новых соединений, подавляющих жизнеспособность простейших в небольших концентрациях и при этом безопасных для рыб, либо использовать обнаруженные протистоцидные вещества совсем уже в минимальных концентрациях (субпротистоцидные), но при длительных экспозициях.

Задача состояла в том, чтобы обосновано найти пределы концентраций соединений и режим обработки рыб (длительность воздействия), при которых ещё сохраняется антипротозойная активность растворов, а рыбы сохраняют жизнеспособность. В основу этих исследований были положены порядок и принципы определения химиотерапевтического индекса новых соединений [5]. Известно, что эффективность химиотерапевтического воздействия зависит от дозы препарата. Высшая доза должна отличаться от предыдущей низшей настолько, чтобы изменение эффекта было достаточно ощутимым и лежало за пределами возможной ошибки. Весьма существенно определение дозы, дающей максимально возможный эффект. Для характеристики препарата следует определять отношение максимально переносимой дозы препарата для рыб (в нашем случае, концентрации водного раствора соединения) к минимальной дозе, дающей максимальный эффект (минимальная протистоцидная концентрация).

Материалы и методы

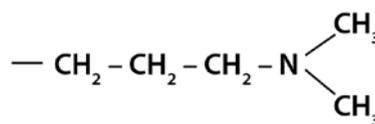
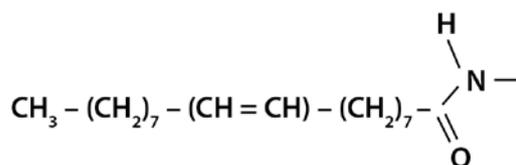
Протистоцидную активность новых веществ определяли в жидкой питательной среде методом серийных разведений по нашей методике [14, 17]. В качестве тест-культуры использовали инфузорию *C. steinii*. Токсичность растворов определяли на аквариумных рыбах Гушпи (*Poecilia reticulata*). Группы были сформированы слепым методом. В группах 1–6, 9, 11, 13, 14 находилось по 2 самки и 1 самцу, в 7 и 10-й группе – 3 самки, в 8-й – 2 самца и 1 самка, в 12-й – 3 самца. Эффективность препарата учитывали по альтернативной форме реакции: протистоцидной считали минимальную концентрацию, при которой погибали все особи простейших; за безопасную для рыб принимали максимальную концентрацию, при которой все рыбы оставались живы, т. е. первую после абсолютно смертельных концентраций. Готовили растворы с минимальными интервалами концентрации от 1 до 0,1 мкг/мл.

Тестировали два соединения: амид миристиновой кислоты и амид олеиновой кислоты.



Соединение 1. Структурная формула амида миристиновой кислоты (n = 12) [15]

Compound 1. Structural formula of myristic acid amide (n = 12)



Соединение 2. Структурная формула амида олеиновой кислоты (n=14)

Compound 2. Structural formula of oleic acid amide (n = 14)

Результаты и обсуждение

Результаты определения максимально переносимой для рыб концентрации амида миристиновой кислоты приведены в таблице 1.

При пребывании рыб в растворе с концентрациями 0,05; 0,075; 0,1; 0,15 и 0,2 мкг/мл их состояние не изменилось, все рыбки были живы и активны. Время наблюдения за рыбками 1–5 опытных групп составило трое суток.

При повышении концентрации до 0,5 мкг/мл у рыб шестой опытной группы в течение 3,5 ч с момента начала опыта изменений не наблюдали; все рыбки были живы и активны. Спустя 20 ч с начала опыта самец потерял подвижность, наступила гибель. У самок отмечали замедленную активность, затруднённое дыхание, сопровождающееся нетипичным движением жабр. По истечении ещё одних суток и в последующие дни самки остались живы.

Таблица 1 [Table 1]

Результаты изучения токсического действия водных растворов амида миристиновой кислоты на рыб вида Гуппи

[Results of the study of the toxic effects of aqueous solutions of myristic acid amide on fish of Guppy]

Группа [Group]	Концентрация растворов, мкг/мл [Concentration of solutions, µg/ml]	Результаты испытания, п/ж* [Test results, d/a*]
1	0,05	0/3
2	0,075	0/3
3	0,1	0/3
4	0,15	0/3
5	0,2	0/3
6	0,5	1/3
7	1	3/0
8	2,5	3/0
9	5	3/0
10	10	3/0
11	20	3/0
12	25	3/0
13	50	3/0
14	100	3/0

Примечание. п/ж* – погибшие/живые
[Note]. d/a* – dead/alive

При концентрации раствора амида миристиновой кислоты 1 мкг/мл и выше гибель наступала в более ранние сроки. Более подробная картина интоксикации описана в нашей статье [16].

Для изучения антипротозойной активности проводили оценку и сравнение протистозидной активности водных растворов с различным содержанием амида миристиновой кислоты в отношении простейших *C. steinii* (ресничные). В таблице 2 приведены результаты определения минимальной концентрации амида миристиновой кислоты, вызывающие максимальный эффект – гибель всех простейших.

Результаты, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о том, что минимальный уровень протистозидной активности амида миристиновой кислоты составляет 0,14 мкг/мл при экспозиции 40 мин., 0,58 мкг/мл – 10, 1,16 мкг/мл – 5 мин.

Таким образом, при концентрации водного раствора амида миристиновой кислоты 0,2 мкг/мл рыбы сохраняют жизнеспособность в течение 3 сут в растворе (срок наблюдения), а в растворе концентрацией 0,5 мкг/мл рыбы остаются живыми 3,5 ч и более (до 20 ч). В тоже время, концентрация 0,14 мкг/мл оказывает протистозидное действие на простейших *C. steinii* при экспозиции 40 мин. Химиотера-

Таблица 2 [Table 2]

Результаты изучения протистоцидной активности амида миристиновой кислоты
в отношении простейших *C. steinii*

[Results of the study of the antistocidal activity of myristic acid amide against the protozoan species *C. steinii*]

Экспозиция, мин. [Exposure, min.]	Концентрация раствора амида миристиновой кислоты в лунке, мкг/мл [Concentration of myristic acid amide solution in the well, µg/ml]						
	9,25	4,63	2,31	1,16	0,58	0,29	0,14
5	+	+	+	+	-	-	-
10	+	+	+	+	+	-	-
20	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	-
40	+	+	+	+	+	+	+

Примечание. «+» - простейшие погибли; «-» - простейшие живы

[Note]. "+" - the simplest ones died; "-" - the protozoa are alive

певтический индекс для амида миристиновой кислоты составил:

$$0,2 \text{ (мкг/мл)} / 0,14 \text{ (мкг/мл)} = 1,43$$

(при экспозиции 3 сут);

$$0,5 \text{ (мкг/мл)} / 0,14 \text{ (мкг/мл)} = 3,57$$

(при экспозиции 3,5 ч).

В таблицах 3 и 4 приведены результаты по определению безопасной концентрации водных растворов амида олеиновой кислоты для рыб и минимального уровня протистоцидной активности в отношении колпод.

Таким образом, максимально переносимая для рыб концентрация амида олеиновой кислоты составляет 1 мкг/мл при экспозиции 2 и более суток и 2 мкг/мл при экспозиции 4 ч.

Следует отметить, что самцы оказались более чувствительны к испытуемым соединениям. В отличие от самок, они остро реагировали на присутствие соединений растворов амидов миристиновой и олеиновой кислот; наблюдали их быстрое угнетение, и у них раньше наступала смерть.

Таблица 3 [Table 3]

Результаты изучения токсического действия водных растворов амида олеиновой кислоты на рыб вида Гуппи
[Results of the study of the toxic effects of aqueous solutions of oleic acid amide on fish of Guppy]

Группа [Group]	Концентрация растворов, мкг/мл [Concentration of solutions, µg/ml]	Результаты испытания, п/ж* [Test results, d/a]
1	0,5	0/3
2	0,25	0/3
3	0,125	0/3
4	1	0/3
5	2	1/3
6	3	3/0

Примечание. п/ж* - погибшие/живые

[Note]. d/a* - dead/alive

Патологоанатомический анализ погибших особей проводили при наружном осмотре их кожного покрова и плавников, состояния чешуи, затем обнажали жаберы удалением жаберных крышек ножницами и проводили осмотр жабер.

У всех погибших опытных животных отмечали потемнение жаберных тычинок и

жаберных лепестков – они приобрели тёмно-красный цвет. На теле рыб наблюдали белый налёт.

Таким образом, амид миристиновой кислоты в концентрациях выше 0,5 мкг/мл и амид олеиновой кислоты в концентрациях выше 2 мкг/мл провоцируют затруднение, затем остановку дыхания и приводят к гибели рыб. Мак-

Таблица 4 [Table 4]

Результаты изучения протистоцидной активности амида олеиновой кислоты
в отношении простейших *C. steinii*

[Results of the study of the antistocidal activity of oleic acid amide against the protozoan species *C. steinii*]

Экспозиция [Exposure]	Концентрация раствора амида олеиновой кислоты в лунке, мкг/мл [Concentration of oleic acid amide solution in the well, µg/ml]												
	151,25	75,63	37,5	18,5	9,25	4,63	2,31	1,16	0,58	0,29	0,14	0,08	0,04
2 мин.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
5 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
10 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
15 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
20 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
30 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
1 ч	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2 ч	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
4,5 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
6 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
18 ч	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Примечание. «+» - простейшие погибли; «-» - простейшие живы
[Note]. "+" - the simplest ones died; "-" - the protozoa are alive

симально переносимая концентрация амида миристиновой кислоты составила 0,2 мкг/мл, амида олеиновой кислоты – 1 мкг/мл, при которых все рыбы оставались живыми и активными в течение 3 сут (срок наблюдения). В растворе амида миристиновой кислоты с концентрацией 0,5 мкг/мл рыбы оставались живыми и сохраняли активность в течение 3,5 ч, амида олеиновой кислоты концентрацией 2 мкг/мл – в течение 2 ч 20 мин.

Результаты, приведенные в таблице 4, свидетельствуют о том, что минимальный уровень протистоцидной активности амида олеиновой кислоты составляет 0,58 мкг/мл при экспозиции 18 ч.

Химиотерапевтический индекс водного раствора амида олеиновой кислоты составил:

$$1 \text{ (мкг/мл)} / 0,58 \text{ (мкг/мл)} = 1,72$$

(при экспозиции 18 ч);

$$2 \text{ (мкг/мл)} / 0,58 \text{ (мкг/мл)} = 3,45$$

(при экспозиции 4 ч).

Заключение

Решена задача исследований по обоснованию пределов концентраций амида миристиновой кислоты и амида олеиновой кислоты и режима обработки рыб, при которых ещё со-

храняется антипротозойная активность растворов, а рыбы сохраняют жизнеспособность. Исследованиями установлено, что максимально переносимая концентрация для рыб водного раствора амида миристиновой кислоты составляет 0,2 мкг/мл, амида олеиновой кислоты – 1 мкг/мл. Также установлено, что химиотерапевтический индекс предлагаемых соединений с увеличением экспозиции возрастает, то есть при увеличении срока воздействия на простейших протистоцидный эффект проявляется при меньших концентрациях.

Список источников

1. Бодрякова М. А., Зубенко А. А., Коваленко А. В., Фетисов Л. Н., Бодряков А. Н. Скрининг протистоцидной активности новых веществ из ряда амидов жирных кислот // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 6 (50). С. 83-85.
2. Зубенко А. А., Клименко А. И., Дробин Ю. Д., Фетисов Л. Н., Бодряков А. Н., Кононенко К. Н. Протистоцидная и антибактериальная активность новых производных нитропиридина // Ветеринария и кормление. 2020. № 6. С. 23-25.
3. Зубенко А. А., Фетисов Л. Н., Баядян Г. В., Бодрякова М. А., Бодряков А. Н. Проблемы поиска протистоцидных средств // «Актуальные проблемы и методические подходы к диагностике, лечению и

- профилактике болезней животных»: материалы Всероссийской научно-практической конференции. 2017. С. 111-114.
4. Наумова А. М., Розумная Л. А., Логинов Л. С., Наумова А. Ю. Охрана здоровья рыб в племенных хозяйствах // Рыбное хозяйство. 2018. № 2. С. 83-85.
 5. Першина Г. Н. Методы экспериментальной химиотерапии. М.: Медицина, 1971. С. 8-11.
 6. Петришко В. Ю., Фирсова Г. Д. Инвазионные заболевания промысловых рыб, регистрируемые в акватории Ростовской области // Вестник аграрной науки. 2017. № 6 (69). С. 70-76.
 7. Петришко В. Ю., Фирсова Г. Д., Миронова А. А. Динамика инвазированности промысловых рыб в водоёмах ростовской области в 2012-2016 годах // Ветеринарная патология. 2018. № 2 (64). С. 11-16.
 8. Попов Л. Д., Зубенко А. А., Фетисов Л. Н., Дробин Ю. Д., Клименко А. И., Бодряков А. Н., Бородкин С. А., Мелкозерова И. Е. Синтез производных (1,3,4-оксадиазол-2-ил) акриловых кислот, обладающих антибактериальной и протистоцидной активностью // Биоорганическая химия. 2018. № 2 (44). С. 225-231.
 9. Пугачев О. Н., Крылов М. В., Белова Л. М. Кокцидии отряда Eimeriida рыб России и сопредельных территорий. Санкт-Петербург: монография. Российская академия наук, Зоологический ин-т, 2012. 99 с.
 10. Сафиуллин Р. Т., Титова Т. Г., Нуртдинова Т. А. Комплексная программа против кокцидиозов птиц для снижения циркуляции резистентных форм эймерий на птицеводческой площадке // Российский паразитологический журнал. 2017. № 3. С. 288-298.
 11. Суздаев К. Ф., Попов Л. Д., Зубенко А. А., Дробин Ю. Д., Фетисов Л. Н., Бодряков А. Н., Сербинская Н. М. Синтез, фунгистатическая, протистоцидная и антибактериальная активность 1-(3-амино-2-гидроксипропил) индолов // Биоорганическая химия. 2018. Т. 44. № 2. С. 217-224.
 12. Тахтаджян А. Л. Четыре царства органического мира // Природа. 1973. № 2. С. 22-32.
 13. Фирсова Г. Д., Петришко В. Ю. Влияние инвазионных заболеваний промысловых рыб акватории Ростовской области на качество и безопасность продукции // «Актуальные проблемы и методические подходы к диагностике, лечению и профилактике болезней животных»: материалы международной научно-практической конференции. 2018. С. 168-171.
 14. Фетисов Л. Н., Зубенко А. А., Бодряков А. Н., Бодрякова М. А. Изыскание протистоцидных средств // «Современные проблемы общей и частной паразитологии»: международный паразитологический симпозиум. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2012. 4/1. С. 70-72.
 15. Фетисов Л. Н., Зубенко А. А., Бодряков А. Н., Клименко А. И., Василенко В. Н., Бодрякова М. А. Способ лечения кокцидиоза птицы / Патент на изобретение RU 2526166 C1, 20.08.2014. Заявка № 2013133256/15 от 16.07.2013.
 16. Чекрышева В. В., Фетисов Л. Н., Святогорова А. Е., Кононенко К. Н. Токсичность катионо-активного соединения амида миристиновой кислоты для аквариумных рыб // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2021. № 3 (63). С. 254-262. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2021-03-26>.
 17. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Borodkin G. S., Metelitsa A. V., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobina Y. D., Zubavichus Y. V., Garnovskii D. A. Complexes of zinc(ii) with n-[2-(hydroxyalkyliminomethyl)phenyl]-4-methylbenzenesulfonamides: synthesis, structure, photoluminescence properties and biological activity. Polyhedron. 2018; 144: 249-258.
 18. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Kolodina A. A., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobina Y. D., Fetisov L. N., Zubavichus Y. V., Trigub A. L., Levchenkov S. I., Garnovskii D. A. Synthesis, characterization, luminescent properties and biological activities of zinc complexes with bidentate azomethine schiff-base ligands. Polyhedron. 2018; 154: 65-76.
 19. Karagodina N., Kolosov Y., Usatov A., Bakoev S., Kolosov A., Leonova M., Shirokova N., Svyatogorova A., Getmantseva L. Influence of Various Bio-Stimulants on the Biochemical and Hematological Parameters in Porcine Blood Plasma. World Applied Sciences Journal. 2014; 30 (6): 723-726.
 20. Maitê Coelho Florindo, Gabriela Tomas Jerônimo, Lilian Dordete Steckert, Monyele Acchile, Eduardo Luiz Tavares Gonçalves, Lucas Cardoso1 & Maurício Laterça Martins. Protozoan parasites of freshwater ornamental fish. Lat. Amer. J. Aquat. Res. 2017; 45 (5): 948-956.
 21. Mauricio Laterça Martins, Lucas Cardoso; Natalia Marchiori; Santiago Benites de Pádua. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. Braz. J. Vet. Parasitol. 2015; 24 (1): 1-20.

Статья поступила в редакцию 26.10.2021; принята к публикации 15.06.2022

Об авторах:

Фетисов Леонид Николаевич, ВСКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>, fetisoff.leonid2018@yandex.ru

Святогорова Александра Евгеньевна, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, младший научный сотрудник, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>, sviatogorova.a@yandex.ru

Кононенко Кристина Николаевна, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, младший научный сотрудник, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>, velikayakrista@mail.ru

Чекрышева Виктория Владимировна, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>, veterinar1987@mail.ru

Зубенко Александр Александрович, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, доктор биологических наук, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>, alexandrzubenko@yandex.ru

Вклад соавторов:

Фетисов Леонид Николаевич – вклад в замысел и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

Святогорова Александра Евгеньевна – вклад в замысел и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

Кононенко Кристина Николаевна – вклад в замысел и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных.

Чекрышева Виктория Владимировна – научное руководство, критический анализ материалов и формирование выводов, обзор исследований по проблеме.

Зубенко Александр Александрович – научное руководство, критический анализ материалов и формирование выводов, обзор исследований по проблеме, окончательное одобрение варианта статьи для опубликования.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

- Bodryakova M. A., Zubenko A. A., Kovalenko A. V., Fetisov L. N., Bodryakov A. N. Protistocidal activity screening of new substances from the fatty acid amide family. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Bulletin of the Orenburg State Agrarian University*. 2014; 6 (50): 83-85. (In Russ.)
- Zubenko A. A., Klimenko A. I., Drobin Yu. D., Fetisov L. N., Bodryakov A. N., Kononenko K. N., Protistocidal and antibacterial activity of new nitropyridine derivatives. *Veterinariya i kormleniye = Veterinary Medicine and Feeding*. 2020; 6: 23-25. (In Russ.)
- Zubenko A. A., Fetisov L. N., Bayadyan G. V., Bodryakova M. A., Bodryakov A. N. Issues in the search for anti-protist drugs. «Aktual'nyye problemy i metodicheskiye podkhody k diagnostike, lecheniyu i profilaktike bolezney zhivotnykh»: *materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii = "Current issues and methodological approaches to diagnosis, treatment and prevention of animal diseases": the All-Russian Scientific and Practical Conference proceedings*. 2017; 111-114. (In Russ.)
- Naumova A. M., Rozumnaya L. A., Loginov L. S., Naumova A. Yu. Protection of fish health on breeding farms. *Rybnoye khozyaystvo = Fisheries*. 2018; 2: 83-85. (In Russ.)
- Pershina G. N. Methods of experimental chemotherapy. *M.: Medicine*, 1971; 8–11. (In Russ.)
- Petrishko V. Yu., Firsova G. D. Parasitic diseases of commercial fish registered in the waters of the Rostov region. *Vestnik agrarnoy nauki = Bulletin of Agrarian Science*. 2017; 6 (69): 70-76. (In Russ.)
- Petrishko V. Yu., Firsova G. D., Mironova A. A. Dynamics of the commercial fish invasion in the water areas of the Rostov region in 2012–2016. *Veterinarnaya patologiya = Veterinary Pathology*. 2018; 2 (64): 11-16. (In Russ.)
- Popov L. D., Zubenko A. A., Fetisov L. N., Drobin Yu. D., Klimenko A. I., Bodryakov A. N., Borodkin S. A., Melkozerova I. E. Synthesis of (1,3,4-oxadiazol-2-yl) acrylic acid derivatives with antibacterial and protistocidal activity. *Bioorganic Chemistry*. 2018; 2 (44): 225-231. (In Russ.)
- Pugachev O. N., Krylov M. V., Belova L. M. Fish coccidia of the order Eimeriida in Russia and adjacent areas. *St. Petersburg: monograph. Russian Academy of Sciences, Zoological Institute*, 2012; 99. (In Russ.)
- Safullin R. T., Titova T. G., Nurtdinova T. A. Complex program against the coccidiosis of birds to reduce the circulation of resistant forms of Eimeria spp. on the poultry ground. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2017; 3: 288-298. (In Russ.)
- Suzdalev K. F., Popov L. D., Zubenko A. A., Drobin Yu. D., Fetisov L. N., Bodryakov A. N., Serbinovskaya N. M. Synthesis, and fungistatic, protistocidal and antibacterial activity of 1-(3-amino-2-hydroxypropyl) indoles. *Bioorganicheskaya himiya = Bioorganic Chemistry*. 2018; 44 (2): 217-224. (In Russ.)
- Takhtadzhyan A. L. Four kingdoms of the organic world. *Priroda = Nature*. 1973; 2: 22-32. (In Russ.)

13. Firsova G. D., Petrishko V. Yu. Influence of invasive diseases of commercial fish in the Rostov Region waters on product quality and safety. «Aktual'nyye problemy i metodicheskiye podkhody k diagnostike, lecheniyu i profilaktike bolezney zhivotnykh»: materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii = "Current issues and methodological approaches to diagnosis, treatment and prevention of animal diseases": the International Scientific and Practical Conference proceedings. 2018; 168-171. (In Russ.)
14. Fetisov L. N., Zubenko A. A., Bodryakov A. N., Bodryakova M. A., Research on protistocidal agents. «Sovremennyye problemy obshchey i chastnoy parazitologii»: mezhdunarodnyy parazitologicheskyy simpozium. Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii = "Current issues of general and special parasitology": International Symposium for Parasitology. Regulatory affairs in veterinary medicine. 2012; 4/1: 70-72. (In Russ.)
15. Fetisov L. N., Zubenko A. A., Bodryakov A. N., Klimenko A. I., Vasilenko V. N., Bodryakova M. A. Method for treatment of avian coccidiosis / Patent for Invention No. RU 2526166 C1 dated 20/08/2014. Application No. 2013133256/15 dated 16/07/2013.
16. Chekrysheva V. V., Fetisov L. N., Svyatogorova A. E., Kononenko K. N. Toxicity of the cation-active compound of myristic acid amide to aquarium fish. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vyssheye professional'noye obrazovaniye = Bulletin of the Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Professional Education*. 2021; 3 (63): 254-262. (In Russ.) <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2021-03-26>.
17. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Borodkin G. S., Metelitsa A. V., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobin Y. D., Zubavichus Y. V., Garnovskii D. A. Complexes of zinc(ii) with n - [2-(hydroxyalkyliminomethyl)phenyl]-4-methylbenzenesulfonamides: synthesis, structure, photoluminescence properties and biological activity. *Polyhedron*. 2018; 144: 249-258.
18. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Kolodina A. A., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobin Y. D., Fetisov L. N., Zubavichus Y. V., Trigub A. L., Levchenkov S. I., Garnovskii D. A. Synthesis, characterization, luminescent properties and biological activities of zinc complexes with bidentate azomethine schiff-base ligands. *Polyhedron*. 2018; 154: 65-76.
19. Karagodina N., Kolosov Y., Usatov A., Bakoev S., Kolosov A., Leonova M., Shirokova N., Svyatogorova A., Getmantseva L. Influence of Various Bio-Stimulants on the Biochemical and Hematological Parameters in Porcine Blood Plasma. *World Applied Sciences Journal*. 2014; 30 (6): 723-726.
20. Maitê Coelho Florindo, Gabriela Tomas Jerônimo, Lilian Dordete Steckert, Monyele Acchile, Eduardo Luiz Tavares Gonçalves, Lucas Cardoso & Maurício Laterça Martins. Protozoan parasites of freshwater ornamental fish. *Lat. Amer. J. Aquat. Res*. 2017; 45 (5): 948-956.
21. Mauricio Laterça Martins, Lucas Cardoso; Natalia Marchiori; Santiago Benites de Pádua. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Braz. J. Vet. Parasitol*. 2015; 24 (1): 1-20.

The article was submitted 26.10.2021; accepted for publication 15.06.2022

About the authors:

Fetisov Leonid N., North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute (0 Rostovskoye shosse, Novocherkassk, Rostov Region, 346421), Novocherkassk, Russia, Cand. Sc. Vet., ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>, fetisoff.leonid2018@yandex.ru

Svyatogorova Alexandra E., North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Junior Staff Scientist, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>, sviatogorova.a@yandex.ru

Kononenko Kristina N., North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Junior Staff Scientist, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>, velikayakrista@mail.ru

Chekrysheva Viktoria V., North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Cand. Sc. Vet., ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>, veterinar1987@mail.ru

Zubenko Aleksandr A., North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Dr. Sc. Biol., ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>, alexsandrzubenko@yandex.ru

Contribution of co-authors:

Fetisov Leonid N. – contribution to the study concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article preparation.

Svyatogorova Alexandra E. – contribution to the study concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article preparation.

Kononenko Kristina N. – contribution to the study concept and design, data collection, data analysis and interpretation.

Chekrysheva Viktoria V. – academic supervision, critical analysis of materials and conclusion generation, studies review on the issue.

Zubenko Aleksandr A. – academic supervision, critical analysis of materials and conclusion generation, studies review on the issue, final approval of the article version for publication.

All authors have read and approved the final manuscript.

К юбилею Виктора Алексеевича Марченко

Главному научному сотруднику, заведующему лабораторией ветеринарии Горно-Алтайского научно-исследовательского института сельского хозяйства – филиала ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», доктору биологических наук, профессору Виктору Алексеевичу Марченко 14 августа 2022 года исполнилось 70 лет и 45 лет научной деятельности.

Виктор Алексеевич родился в г. Называевске Омской области. После окончания в 1974 году Омского государственного ветеринарного института до 1977 года работал начальником противоэпизоотического отряда Сладковской райветстанции Тюменской области. В этот период район имел лучшие показатели в РСФСР по оздоровлению сельскохозяйственных животных от хронических инфекций.

В. А. Марченко в последующем продолжал трудовую деятельность на различных должностях в учреждениях Сибирского отделения Российской академии наук, Россельхозакадемии, ФАНО и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

С апреля 1977 года Виктор Алексеевич пришел в науку. Начинать он с младшего научного сотрудника Биологического института СО АН СССР. В 1985 году успешно защитил кандидатскую диссертацию, в 1998 – докторскую, в 2007 году получил ученое звание профессора. С октября 1993 года В. А. Марченко возглавлял совместную лабораторию арахно-энтомозов животных Биологического института СО РАН и Горно-Алтайского НИИ сельского хозяйства СО Россельхозакадемии. С 1995 г. работал заведующим отделом ветеринарии Горно-Алтайского НИИ сельского хозяйства. В ноябре 1997 г. он был назначен директором Горно-Алтайского НИИ сельского хозяйства. С 2003 по 2010 г. работает заведующим лабораторией ветеринарной паразитологии Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО Россельхозакадемии, в 2010 г. переходит на



Марченко В. А.,
доктор биологических наук, профессор

работу в лабораторию экологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН и одновременно возглавляет отдел ветеринарии Горно-Алтайского НИИ сельского хозяйства.

С 1999 г. Виктор Алексеевич активно совмещает научную и педагогическую деятельность, он профессор кафедры агротехнологий и ветеринарной медицины Горно-Алтайского государственного университета.

Круг научных интересов В. А. Марченко составляют вопросы экологии паразитических беспозвоночных и отработки методов ограничения их численности. На основе изучения экологии и эпизоотологии паразитических видов, испытания новых средств и методов терапии животных Виктором Алексеевичем разработаны рациональные отраслевые системы ограничительных мероприятий при ряде инвазионных заболеваний. Разработаны и утверждены более 30 методических рекомендаций и пособий по ветеринарной медицине и зоотехнии.

По результатам научной деятельности Виктором Алексеевичем в отечественных и зарубежных изданиях опубликовано более 260 научных работ, в том числе 7 монографий, получены 9 патентов РФ на изобретения.

В Республике Алтай им организовано опытное производство противопаразитарных кормовых гранул для сельскохозяйственных животных. Виктор Алексеевич является ведущим специалистом страны в области биологии оводов, ведет активную научно-общественную деятельность, руководит научной работой студентов, аспирантов и докторантов, подготовил 6 кандидатов наук, принимает участие в оппонировании диссертаций, является членом диссертационных советов.

За плодотворный труд Виктор Алексеевич награжден медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, медалью Сибирского отделения Россельхозакадемии имени Академика И.И. Сиягина, Почетной грамотой

Российской академии сельскохозяйственных наук, Благодарностью Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, Почетной грамотой Государственного Собрания – Эл Курултай Республики Алтай, Почетными грамотами Республики Алтай, Министерства сельского хозяйства РА, Министерства образования и науки РА. Ему присвоено Почетное звание «Заслуженный деятель науки Республики Алтай».

Поздравляем Виктора Алексеевича с юбилеем и желаем осуществления всех творческих планов, дальнейших успехов в научно-педагогической деятельности, доброго здоровья и счастья!

Коллектив
Горно-Алтайского научно-исследовательского
института сельского хозяйства –
филиала ФГБНУ
«Федеральный Алтайский научный центр
агробиотехнологий»

