

ВЕТЕРИНАРИЯ

А Р М
Зрелое решение

Доксатиб®
доксициклин
Порошок для орального применения 500 мг/г

без осадка
БЕЗ ЛАКТОЗЫ

- Высокая растворимость благодаря особой формуле наполнителя на основе винной кислоты¹
- Улучшенная стабильность в маточных растворах и питьевой воде¹
- Снижение обрастания систем поения биопленкой за счет безлактозного наполнителя²

Источники информации: 1. Papadimitris VG, Billiris C: The prophylactic use of acidifiers as antibacterial agents in swine. In Antimicrobial agents Edited by Bobbarala V. 2012, p. 300.
2. Bandara H, Harb A, Kolaczny Jr D, Martins P, Smyth H: Lactose, a common excipient, interferes with Pseudomonas aeruginosa biofilms and the e-cacy of tobramycin. Poster session presented at: Innovations in cardiology. 2013 AAPS Annual Meeting and Exposition 2013; 2013 Nov 14; San Antonio, TX

Заказчик размещения рекламы ООО «КРКА ФАРМА»
125212, г. Москва, Головинское шоссе, дом 5, корпус 1.
Тел.: (495) 981 1095, факс: (495) 981 1091.
E-mail: info.ru@krka.biz, www.krka.ru

Калькулятор для быстрого и простого расчета дозы

KRKA | 70 лет

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ



6 • 2024 18+

ВАКЦИНЫ ДЛЯ НАДЕЖНОЙ ЗАЩИТЫ ОТ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ КРС

ВАКЦИНА ПРОТИВ
НЕКРОБАКТЕРИОЗА

УНГОВАК FN



СЕРИЯ ВАКЦИН
ПРОТИВ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

КОМБОВАК

ВАКЦИНА ПРОТИВ
КЛОСТРИДИОЗОВ

КЛОСТБОВАК-8



www.vetbio.ru

info@vetbio.ru

+7 (495) 640-1714, +7 (800) 777-9814



ВЕТЕРИНАРИЯ 6 • 2024



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ
УЧРЕЖДЕН МИНИСТЕРСТВОМ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И АНО «РЕДАКЦИЯ ЖУРНАЛА
"ВЕТЕРИНАРИЯ"»

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В МАЕ 1924 г. МОСКВА

В НОМЕРЕ

- 3 Готов А.Г., Готова Т.И. Механизмы уклонения пестивирусов от иммунной системы организма животных (обзор)

ПРАКТИКА: ОПЫТ, ПРОБЛЕМЫ, ПЕРСПЕКТИВЫ

- 10 Шемельков Е.В., Шемелькова Г.О., Иванов Е.В., Верховский О.А., Булгаков А.Д., Баранова Ю.А., Алипер Т.И. Эффективность разных схем применения вакцины КОМБОВАК-А в хозяйстве, неблагополучном по респираторным и кишечным болезням телят

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

- 17 Новикова Н.Н., Власенко В.С., Вишневский Е.А. Прямая реакция иммунофлюоресценции для диагностики лейкоза крупного рогатого скота
- 23 Исаев Ю.Г., Сотников А.Н., Гулюкин М.И., Лощинин М.Н., Якимова Э.А. Бактериальная микробиота поверхности живых медоносных пчёл
- 28 Шишкова Н.А., Гончарова Ю.О., Маринин Л.И., Тюрин Е.А., Мокриевич А.Н., Дятлов И.А. Дифференциация штаммов *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus* при выделении из почвы сибиреязвенного скотомогильника

ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

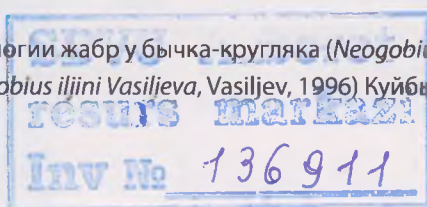
- 36 Солодкова К.В., Кашковская Л.М. Верное средство борьбы с двукрылыми насекомыми у молодняка крупного рогатого скота
- 40 Минеева О.В. Обыкновенный ерш Саратовского водохранилища – источник опасных для человека гельминтозов

АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

- 46 Малахова Л.С., Омаров А.А., Суков А.И., Карпова Е.Д. Искусственное осеменение овцематок Северокавказской породы транспортированной спермой баранов разных генотипов

НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

- 51 Минеев А.К. Гистопатологии жабр у бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814) и бычка-головача (*Neogobius iljini* Vasiljeva, Vasiljev, 1996) Куйбышевского водохранилища



IN THE ISSUE

- 3 Glotov A.G., Glotova T.I.** Immune evasion mechanisms of pestiviruses from the host immune system (review)

EXPERIMENT, PROBLEMS, PERSPECTIVES

- 10 Shemelkov E.V., Shemelkova G.O., Ivanov E.V., Verkhovsky O.A., Bulgakov A.D., Baranova Yu.A., Aliper T.I.** The effectiveness of different schemes for using the KOMBOVAC-A vaccine in conditions of a farm unfavorable for respiratory and intestinal diseases of calves

INFECTIOUS DISEASES

- 17 Novikova N.N., Vlasenko V.S., Vishnevsky E.A.** Direct immunofluorescence reaction for the diagnosis of bovine leukemia virus
- 23 Isaev Yu.G., Sotnikov A.N., Gulyukin M.I., Loschinin M.N., Yakimova E.A.** Bacterial microbiota of the surface of living honey bees
- 28 Shishkova N.A., Goncharova Yu.O., Marinin L.I., Tyurin E.A., Mokrievich A.N., Dyatlov I.A.** Differentiation of strains of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* during isolation of anthrax cattle burial ground from the soil

INVASIVE DISEASES

- 36 Solodcova K.V., Kashkovskaya L.M.** A correct means of combating bi-winged insects in young cattle
- 40 Mineeva O.V.** Ruff of the Saratov reservoir as a source of helminthoses dangerous to human

OBSTETRICS, GYNECOLOGY

- 46 Malakhova L.S., Omarov A.A., Surov A.I., Karpova E.D.** The results of artificial insemination of sheep of the north caucasian breed with transported sperm of rams of different genotypes

NONINFECTIOUS DISEASES

- 51 Mineev A.K.** Histopathology of the gill in the goby-round (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814) and the roundhead goby (*Neogobius iljini* Vasiljeva, Vasiljev, 1996) of the Kuibyshev reservoir

"VETERINARY MEDICINE JOURNAL" printed in over 4 thousand copies and having subscribers in more than 40 countries worldwide, publishes advertisements at contractual prices.

For suggestions, please contact: "Veterinariia" journal, Volgogradskiy prospect, 2, Moscow, 109316, Russia. Tel.: 8 (495) 730-37-99.

© «Ветеринария», 2024

Главный редактор
Т.В. СТОЛЛЯР

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А.Н. Панин, д.в.н., профессор,
академик РАН — председатель
Ф.И. Василевич, д.в.н., профессор,
академик РАН
М.И. Гулюкин, д.в.н., профессор,
академик РАН
С.В. Енгашев, д.в.н., профессор,
академик РАН
Е.А. Непоклонов, д.б.н., профессор
И.Г. Серегин, к.в.н., профессор
А.М. Смирнов, д.в.н., профессор,
академик РАН
А.А. Стекольников, д.в.н., профессор,
академик РАН
А.В. Успенский, д.в.н., профессор,
член-корреспондент РАН
Б.В. Уша, д.в.н., профессор,
академик РАН
Ю.Н. Федоров, д.б.н., профессор,
член-корреспондент РАН

Редакторы

Т.В. Столляр,
А.Т. Столляр

Художественное и техническое
редактирование
Е.В. Апраксина

Подписано к печати 27.05.2024.

Формат 70х100 1/16.

Бумага офсетная № 1.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 5,2.

Заказ 24-Z-0554.

Адрес редакции журнала «Ветеринария»:
109316, Москва,
Волгоградский проспект, д. 2.
тел. 8 (495) 730-37-99.
e-mail: anovet24@yandex.ru
www. journalveterinariya.ru

Адрес издателя —
АНО «Редакция журнала «Ветеринария»:
109316, Москва,
Волгоградский проспект, д. 2.
тел. 8 (495) 730-37-99.

С предложениями
о размещении
РЕКЛАМЫ
звоните по телефону
8 (495) 730-37-99.

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных объявлений.
При перепечатке ссылка на журнал
«Ветеринария» обязательна.

Отпечатано в типографии
ООО «МЕДИАКОЛОР»
Москва, Сигнальный проезд, д. 19
mediacolor.ru

МЕХАНИЗМЫ УКЛОНЕНИЯ ПЕСТИВИРУСОВ ОТ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ (обзор)

Александр Гаврилович Готов, д.в.н., профессор, заведующий лабораторией, glotov_vet@mail.ru

Татьяна Ивановна Глотова, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник, t-glотова@mail.ru

ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН)

Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока

(пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия)

В обзоре дано краткое обобщение литературных данных об основных механизмах, благодаря которым пести-вирусы уклоняются от иммунного ответа организма животного на примере вирусной диареи крупного рогатого скота. Пести-вирусы в ходе коэволюционного процесса разработали множество тактик, позволяющих уклоняться от иммунной защиты хозяина. Проникновение в плод на раннем этапе его развития может быть одной из причин их успеха, что связано с подавлением выработки интерферона и некоторых других факторов неспецифического иммунитета. Наличие этой формы инфекции имеет огромное практическое значение, так как существенно затрудняет проведение диагностических мероприятий, снижает эффективность программ контроля и не всегда дает истинное представление о распространении болезни и роли возбудителя в той или иной патологии животных. Понимание этих механизмов имеет решающее значение для разработки эффективных мер контроля инфекций, вызываемых ими. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения молекулярных механизмов, ответственных за иммуносупрессию и персистенцию, вызванные пести-вирусами, и открытия новых мишеней для противо-вирусного вмешательства. Важно разработать современные вакцины, обеспечивающие комплексную защиту от различных штаммов вирусов, чтобы свести к минимуму отрицательное влияние этих экономически значимых па-тогенов на животноводство. **Ключевые слова:** пести-вирусы, вирусы вирусной диареи, коэволюция, врожденный иммунитет, адаптивный иммунитет, интерферон.

Immune evasion mechanisms of pestiviruses from the host immune system (review)

A.G. Glotov, PhD in Veterinary Science, Professor, Head of laboratory, glotov_vet@mail.ru

T.I. Glotova, PhD in Biology, Professor, Chief researcher, t-glotoва@mail.ru

Siberian Federal Research Center for Agro-BioTechnologies Russian Academy of Science, Institute

of Experimental Veterinary Science of Siberia and the Far East

The review provides a brief summary of the literature data on the main mechanisms by which pestiviruses evade the immune system using the example of BVDV. During the coevolutionary process between pestiviruses and their hosts, agents have developed a variety of tactics to evade host immune defenses which has a negative impact on control programs, diagnostic efficiency and vaccination. Penetration into the fetus at an early stage of its development may be one of the reasons for the success of these agents, which is associated with the suppression of the production of interferon and some other factors of non-specific immunity. The presence of this form of infection is of great practical importance, as it significantly complicates the implementation of diagnostic measures, reduces the effectiveness of control measures and does not always give a true idea of the spread of the disease and the role of the pathogen in a particular animal pathology. Understanding these mechanisms is critical to developing effective control measures for the infections caused by them. Further research is needed to elucidate the molecular mechanisms responsible for immunosuppression and persistence caused by pestiviruses and to discover new targets for antiviral intervention. It is critical to develop modern vaccines provides comprehensive protection against different strains of viruses to minimize the impact of this pathogen on livestock production. **Key words:** pestiviruses, bovine viral diarrhea viruses, coevolution, innate immunity, adaptive immunity, interferon.

DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.03-08

В настоящее время систематика рода *Pestivirus* семейства *Flaviviridae* пре-терпела изменения. В 2017 г. Интерна-циональным комитетом по таксономии

вирусов (ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses) была предло-жена новая классификация пести-ви-русов животных. Прототипный вид

рода – вирус вирусной диареи крупного рогатого скота 1 вида (BVDV-1) переименован в пестивирус А, вирус вирусной диареи крупного рогатого скота 2 вида (BVDV-2) – в пестивирус В, вирус классической чумы свиней (CSFV) – в пестивирус С, а вирус пограничной болезни овец (BDV) – в пестивирус D. Новые виды включают: *Pestivirus E* (пестивирус вилорога), *Pestivirus F* (вирус Bungowannah), *Pestivirus G* (пестивирус жирафа), *Pestivirus H* (вирус вирусной диареи крупного рогатого скота 3 вида; BVDV-3), *Pestivirus I* (Aydin-подобный вирус), *Pestivirus J* (пестивирус крыс) и *Pestivirus K* (атипичный пестивирус свиней) [18].

Все представители рода имеют сходное строение и биологические свойства, но отличаются генетически и антигенно, что является результатом эволюции. Каждый вид вируса включает в себя определенное количество субтипов. Геном представлен однонитевой положительно заряженной РНК размером 12,3 тыс. нуклеотидов. Она имеет одну открытую рамку считывания (ORF) длиной около 4000 кодонов, кодирующую 12 структурных и неструктурных белков (Npro-C-Erns-E1-E2-p7-NS2/NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B), фланкированную с 5' и 3' концов нетранслируемыми областями (5' UTR и 3' UTR) [25]. В ходе коэволюционного процесса пестивирусы разработали множество тактик, позволяющих уклоняться от иммунной защиты хозяина, что оказывает отрицательное влияние на программы контроля, эффективность диагностики и вакцинации.

Основываясь на оценках дат дивергенции, L. Liu et al. [20] предположили, что диверсификация основных пестивирусов началась около 1483 г. (от 600 до 1892 г.), примерно за 520 лет до настоящего времени.

Для своего выживания в популяции крупного рогатого скота вирус использует комбинированную стратегию, основанную на двух принципах: «инфицируй и исчезай» (эстафетная передача) и «инфицируй и персистируй». В первом случае это приводит к возникновению у восприимчивых животных проходящих «транзитных» инфекций (ТИ) и дальнейшей передаче другим, а во втором – к пожизненной персистентной инфекции (ПИ) у отдельных особей путем уклонения от их иммунной системы при помощи уникальных механизмов, не имеющих аналогов у других вирусов. Поэтому ТИ животные являются кратковременными и тупиковыми источниками вируса, а ПИ представляют собой постоянный эндогенный источник возбудителя в стаде и играют основную роль в поддержании стационарного неблагополучия хозяйств [23]. Персистенция пестивирусов представляет собой уникальный механизм, выработанный ими в процессе эволюции для выживания в популяции животных [7].

Цель данного обзора – краткое обобщение литературных данных об основных механизмах, благодаря которым пестивирусы уклоняются от иммунного ответа организма животного на примере вирусной диареи крупного рогатого скота.

Для крупного рогатого скота основное значение имеют три вида: пестивирус А, пестивирус В и пестивирус Н, представленные цитопатогенным (Цп) и нецитопатогенным (Нцп) биотипами. Нцп в отличие от Цп не вызывает видимых морфологических разрушений культур клеток и представляет более 90 % популяции вируса [9]. Агенты являются возбудителями вирусной диареи – болезни слизистых оболочек (ВД – БС), широко распространенной

и экономически значимой инфекции крупного рогатого скота [1, 2, 4, 5, 16, 28]. Число известных в настоящее время субтипов BVDV-1 составляет 22 (a...v), BVDV-2 – 4 (a...d) и BVDV-3 – 4 (a...d) [27]. В России установлена циркуляция 12 субтипов BVDV-1 (от 1a до 1r), трех субтипов BVDV-2 (2a – 2c) и одного субтипа BVDV-3 (3a) [3, 6]. У восприимчивых животных все виды вирусов вызывают сходную патологию, а именно, острые инфекции с иммуносупрессией, энтериты, рассасывание эмбрионов, аборт на всех стадиях стельности, врожденные уродства плода, рождение слабых телят, бесплодие, респираторную патологию и болезнь слизистых оболочек [1].

Характерной особенностью представителей этого рода является иммуносупрессия и способность формировать персистентную форму инфекции (ПИ) при заражении плода только Нцп биотипом вируса с 40-го по 125-й день внутриутробного развития, когда его иммунная система еще не сформирована. Это приводит к рождению иммуноtolерантных телят, являющихся постоянными источниками возбудителя для неиммунных животных [7]. Характерно, что эта форма инфекции устанавливается в результате блокирования факторов неспецифического (врожденного) иммунитета животных. Вероятно, функция блокирования выработки интерферона является ключевой.

Уклонение от механизмов врожденного иммунитета

Врожденная иммунная система – первая линия защиты организма от проникновения вирусов. Она быстро реагирует на инфекцию, распознавая общие характеристики патогена, в отличие от адаптивной иммунной системы, которой требуется определенное время для выработки адекватных активированных антигенспецифических лимфоцитов.

При заражении вирусами врожденный иммунный ответ хозяина инициируется различными рецепторами распознавания (PP). PP распознают и связываются с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами, запуская сигнальный каскад, который в конечном итоге приводит к выработке интерферона I типа и других провоспалительных цитокинов. Основными рецепторами распознавания РНК-содержащих вирусов являются Toll-подобные рецепторы (TLR), RIG-I-подобные рецепторы (RLR), лектиновые рецепторы C-типа (CLR) и NOD-подобные рецепторы (NLR) [12].

Уклонение от сигнального пути интерферона типа I. Интерфероны (ИФН, IFN) подразделяют на три типа: ИФН типа I, типа II и типа III. Они демонстрируют различные модели экспрессии и различными способами участвуют во врожденном и адаптивном иммунитете. ИФН типа I и типа III – первичные противовирусные факторы. ИФН типа I состоят из IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- k , IFN- ω и IFN- x . У млекопитающих противовирусный ответ IFN типа I (α , β) является наиболее важным [17].

Для успешного заражения с целью предотвращения или блокирования активации факторов врожденного иммунитета большинство пестивирусов выработали два белка: неструктурный белок Npro и оболочечный гликопротеин Erns [15]. Белок Erns ингибирует сигнальные пути, опосредованные РНК и может подавлять выработку ИФН типа I благодаря своей РНК-зной активности по разрушению вирусной РНК [29]. Белок Npro нецитопатогенных штаммов BVDV взаимодействует с клеточным белком S100A9 и снижает его активность в инфицированных клетках, что приводит к подавлению выработки ИФН типа I, тем самым способствуя репликации вируса [14]. Не-

обходимым условием для формирования иммунологической толерантности плода до четырех месяцев и, как следствие, персистентной формы инфекции является блокада синтеза интерферона первого типа белками вируса, что приводит к отсутствию выработки антител к нему. В результате протеины вируса воспринимаются как аутоантигены и возбудитель получает доступ ко всем органам и тканям развивающегося плода [21].

Другой протеин, влияющий на выработку неспецифического иммунитета, – белок цитопатогенных штаммов вирусов NS4B, подавляющий RLR-опосредованную активность промотора IFN- β , что характеризует его как антагониста интерферона этого вида [26].

Уклонение от факторов адаптивного иммунитета хозяина

Нарушение презентации антигена и уклонение от факторов клеточного иммунитета. Адаптивные иммунные клетки вызывают антигенспецифические реакции и устанавливают иммунитет долговременной памяти. Инфекция Цп штаммами приводит к значительному снижению экспрессии рецептора Fc (FcR) и рецептора комплемента (C3R) в альвеолярных макрофагах, которые необходимы для фагоцитарной активности, тем самым снижая поглощение и презентацию антигена. Воздействие инфекции BVDV на презентацию антигена зависит от штамма вируса, а также от зрелости антигенпрезентирующих клеток (АПК). Моноциты и дендритные клетки (ДК) восприимчивы к инфекции BVDV двух биотипов, но моноциты лизируются Цп штаммами вирусов, а дендритные клетки – нет [10]. Моноциты, инфицированные Нцп штаммами, не способны к стимуляции реакции CD4+ Т-клеток. Нцп штаммы вирусов диареи подавляют экспрессию главно-

го комплекса гистосовместимости 1 и 2 классов (МНС-I и МНС-2), а также клеток CD86 на поверхности дифференцирующихся моноцитов, что также приводит к иммуносупрессии и персистентной инфекции [24].

Инфекция Цп штаммами значительно снижает экспрессию 9 белков МНС-I и 6 белков МНС-2 в моноцитах крупного рогатого скота, тем самым ингибируя презентацию антигена иммунокомпетентным Т-клеткам [19]. Истощение CD4+ Т-клеток у телят, подвергшихся воздействию Нцп штаммов ВД – БС КРС, приводит к повышению титров вируса в крови и увеличению длительности виремии, тогда как истощение CD8+ Т-клеток или gd+ Т-клеток не оказывает заметного эффекта [13].

Уклонение от факторов гуморального иммунитета

Гликопротеин Erns вирусов диареи, высокогликозилированный белок оболочки, способен индуцировать выработку антител у животных. Однако нейтрализующая активность антител на этот белок низкая. Е2 является крупным протеином и основной мишенью для вируснейтрализующих антител [11]. После естественного инфицирования или введения живой вакцины сывороточные антитела преимущественно вырабатываются на вирусные белки Е2 и NS2/3 и в меньшей степени на белки Erns и Е1. Иммунизация убитыми вакцинами в основном стимулирует выработку антител против белка Е2 [8].

При инфицировании Цп биотипом вируса концентрации IgG и IgG1 значительно снижаются через 7 дней после заражения и восстанавливаются на 21-й день. Инфекция Нцп вирусом не влияет на общую концентрацию IgG на 7-, 14- и 21-й дни после заражения, но повышается с 21-го по 35-й дни. Для обоих биотипов концентрация IgG1 и соотношение

IgG1:IgG2 значительно снижены с 0- по 7-й день. У телят, инфицированных Нцп BVDV, уровень иммуноглобулинов этого класса выше во все дни после заражения, особенно на 7- и 35-й по сравнению с Цп штаммами. Нцп штаммы BVDV индуцируют выработку вируснейтрализующих антител в более высоких титрах, чем Цп, поэтому считается, что они стимулируют выработку более сильного иммунного ответа [24].

Таким образом, уклонение пестивирусов от иммунного ответа организма облигатного хозяина заключается не только в непрерывном формировании видов и субтипов возбудителя, но и в выработке целого ряда сложных приспособительных механизмов взаимодействия их с факторами иммунной системы.

Заключение. Пестивирусы разработали множество стратегий уклонения от иммунной системы организма с целью установления персистентной инфекции и своего выживания в популяции восприимчивых животных. Проникновение в плод на раннем этапе его развития может быть одной из причин успеха этих агентов, что связано с подавлением выработки интерферона и некоторых других факторов неспецифического иммунитета. Наличие этой формы инфекции имеет огромное практическое значение, так как существенно затрудняет проведение диагностических мероприятий, снижает эффективность контрольных программ и не всегда дает истинное представление о распространении болезни и роли возбудителя в той или иной патологии животных. Понимание этих механизмов имеет решающее значение для разработки эффективных мер контроля инфекций, выяснения молекулярных механизмов, отвечающих за иммуносупрессию и персистенцию, и открытия новых мишеней для про-

тивовирусного вмешательства. Кроме того, крайне важно разработать современные вакцины, обеспечивающие комплексную защиту от различных штаммов вирусов, чтобы свести к минимуму отрицательное влияние этих экономически значимых патогенов на животноводство.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-26-00006 «Генетическая изменчивость и разнообразие пестивирусов крупного рогатого скота, основные риски заноса новых генетических вариантов на территорию Российской Федерации».

ЛИТЕРАТУРА

1. Актуальные инфекционные болезни крупного рогатого скота. Руководство. М.: ЗооВетКнига. 2021; 832 с.
2. Верховская А.Е., Сергеев В.А., Алипер Т.И., Иванов Е.В. Особенности диагностики и профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота. Ветеринария. 2009; (8):3 – 7.
3. Глотов А.Г., Глотова Т.И., Нефедченко А.В., Котенева С.В. Генетический полиморфизм и распространение пестивирусов (*Flaviviridae: Pestivirus*) крупного рогатого скота в мире и в Российской Федерации. Вопросы вирусологии. 2022; 67(1):18 – 26. DOI:10.36233/0507-4088-96
4. Глотов А.Г., Глотова Т.И. Вирусная диарея: значение в патологии воспроизводства у крупного рогатого скота. Ветеринария. 2015; 4:3 – 8.
5. Гулюкин М.И., Юров К.П., Глотов А.Г., Донченко Н.А. Стратегия борьбы с вирусной диареей – болезнью слизистых крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Российской Федерации. Вопросы вирусологии. 2013; 6:13 – 18.
6. Котенева С.В., Нефедченко А.В., Глотова Т.И., Глотов А.Г. Генетический полиморфизм возбудителя вирусной диареи (болезни слизистых оболочек) крупного рогатого скота на молочных комплексах Сибири. Сельскохозяйственная биология. 2018; 53(6): 1238 – 1246. DOI:10.15389/agrobiology.2018.6.1238rus
7. Мищенко А.В., Мищенко В.А., Гулюкин М.И., Оганесян А.С., Алексеенкова С.В., Забережный А.Д., Гулюкин А.М. Персистентная форма вирусной диареи крупного рогатого скота. Вопросы вирусологии. 2022; 67(6):465 – 478. DOI:10.36233/0507-4088-184

8. Al-Kubati A.A., Hussien J., Kandeel M., Al-Mubarak A.I., Hemida M.G. Recent advances on the bovine viral diarrhoea virus molecular pathogenesis, immune response, and vaccines development. *Front. Veterinary Sci.* 2021; 8:665128. DOI:10.3389/fvets.2021.665128
9. Bovine Viral Diarrhoea Virus. Diagnosis, Management, and Control. Edited by S. M. Goyal and J.F. Ridpath. Blackwell Publishing Ltd. 2005; 261 p.
10. Chase C.C. The impact of BVDV infection on adaptive immunity. *Biologicals.* 2013; 41 (1):52 – 60. DOI:10.1016/j.biologicals.2012.09.009
11. Chow K.T., Gale M.Jr., Loo Y.-M. RIG-I and other RNA sensors in antiviral immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 2018; 36: 667 – 694. DOI:10.1146/annurev-immunol-042617-053309
12. Cheng Y., Tu S., Chen T., Zou J., Wang S., Jiang M. et al. Evaluation of the mucosal immunity effect of bovine viral diarrhoea virus subunit vaccine E2Fc and E2Ft. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (4):4172. DOI:10.3390/ijms24044172
13. Collen T., Morrison W.I. CD4+ T-cell responses to bovine viral diarrhoea virus in cattle. *Virus Res.* 2000; 67 (1):67 – 80. DOI:10.1016/S0168-1702(00)00131-3
14. Darweesh M.F., Rajput M.K., Braun L.J., Rohila J.S., Chase C.C. BVDV Npro protein mediates the BVDV induced immunosuppression through interaction with cellular S100A9 protein. *Microbial pathogenesis.* 2018; 121:341 – 349. DOI:10.1016/j.micpath.2018.05.047
15. De Martin E., Schweizer M. Fifty shades of ERNs: innate immune evasion by the viral endonucleases of all pestivirus species. *Viruses.* 2022; 14 (2):265. DOI:10.3390/v14020265
16. Evans C.A., Pinior B., Larska M., Graham D., Schweizer M., Guidarini C., Decaro N., Ridpath J., Gates M.C. Global knowledge gaps in the prevention and control of bovine viral diarrhoea (BVD) virus. *Transboundary and Emerging Diseases.* 2019; 66(2):640 – 652. DOI:10.1111/tbed.13068
17. Hoffmann H.-H., Schneider W.M., Rice C.M. Interferons and viruses: an evolutionary arms race of molecular interactions. *Trends. Immunol.* 2015; 36 (3):124 – 138. DOI:10.1016/j.it.2015.01.004
18. ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. Genus: Pestivirus; 2019. Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/361/genus-pestivirus
19. Lee S.-R., Nanduri B., Pharr G.T., Stokes J.V., Pinchuk L.M. Bovine viral diarrhoea virus infection affects the expression of proteins related to professional antigen presentation in bovine monocytes. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Proteins Proteomics.* 2009; 1794 (1):14 – 22. DOI:10.1016/j.bbapap.2008.09.005
20. Liu L., Xia H., Wahlberg N., Belák S., Baule C. Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses. *Virology.* 2009; 385(2):351 – 357. DOI:10.1016/j.virol.2008.12.004
21. Oguejiofor C.F., Thomas C., Cheng Z., Wathes D.C. Mechanisms linking bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection with infertility in cattle. *Anim. Health Res. Rev.* 2019; 20(1):72 – 85.
22. Pang F., Long Q., Wei M. Immune evasion strategies of bovine viral diarrhoea virus. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2023; 13:1282526. DOI:10.3389/fcimb.2023.1282526
23. Peterhans E., Jung T.W., Schweizer M. BVDV and innate immunity. *Biologicals.* 2003; 31(2):107 – 112. DOI:10.1016/s1045-1056(03)00024-1
24. Rajput M.K., Abdelsalam K., Darweesh M.F., Braun L.J., Kerkvliet J., Hoppe A.D. et al. Both cytopathic and non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus (BVDV) induced autophagy at a similar rate. *Veterinary Immunol. Immunopathol.* 2017; 193:1 – 9. DOI:10.1016/j.vetimm.2017.09.006
25. Simmonds P., Becher P., Bukh J., Gould E.A., Meyers G., Monath T. et al. ICTV virus taxonomy profile: Flaviviridae. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(1):2 – 3. DOI:https://doi.org/10.1099/jgv.0.000672
26. Shan Y., Tong Z., Jinzhu M., Yu L., Zecai Z., Chenhua W. et al. Bovine viral diarrhoea virus NS4B protein interacts with 2CARD of MDA5 domain and negatively regulates the RLR-mediated IFN- β production. *Virus Res.* 2021; 302:198471. DOI:10.1016/j.virusres.2021.198471
27. Su N., Wang Q., Liu H.Y., Li L.M., Tian T., Yin J.Y. et al. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in cattle between 2010 and 2021: A global systematic review and meta-analysis. *Front. Vet. Sci.* 2023; 9:1086180. DOI:10.3389/fvets.2022.1086180
28. Walz P.H., Chamorro M.F., Falkenberg S., Passler T., van der Meer F.R., Woolums A. Bovine viral diarrhoea virus: An updated American College of Veterinary Internal Medicine consensus statement with focus on virus biology, hosts, immunosuppression, and vaccination. *Journal of Veterinary Internal Medicine.* 2020; 1 – 17. DOI:10.1111/jvim.15816
29. Zürcher C., Sauter K.-S., Schweizer M. Pestiviral ERNs blocks TLR-3-dependent IFN synthesis by LL37 complexed RNA. *Veterinary Microbiol.* 2014; 174(3– 4):399 – 408. DOI:10.1016/j.vetmic.2014.09.028

NOVAMUNE[®]



СТОП

ЦИКЛ БОЛЕЗНИ ГАМБОРО

КОНТРОЛЬ ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ,
НАЧИНАЯ С ИНКУБАТОРИИ, ПОЗВОЛИТ ВАМ
ПЕРЕОСМЫСЛИТЬ ПРОГРАММУ ВАКЦИНАЦИИ



ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ

УДК 619:615.371:616.98:619

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗНЫХ СХЕМ ПРИМЕНЕНИЯ ВАКЦИНЫ КОМБОВАК-А В ХОЗЯЙСТВЕ, НЕБЛАГОПОЛУЧНОМ ПО РЕСПИРАТОРНЫМ И КИШЕЧНЫМ БОЛЕЗНЯМ ТЕЛЯТ

Евгений Владимирович Шемельков, к.в.н., заместитель директора, shemelkov@mail.ru, 8-926-378-11-51

Галина Олеговна Шемелькова, к.б.н., старший микробиолог, shemelckova@yandex.ru

Евгений Валерьевич Иванов, к.б.н., ведущий научный сотрудник, doctor2112@yandex.ru

Олег Анатольевич Верховский, д.б.н., профессор, заведующий отделом, verkhovsky@rosvet.ru

Александр Дмитриевич Булгаков, к.в.н., начальник цеха, bulgakov_ad@mail.ru

Юлия Анатольевна Баранова, микробиолог, yusyagrant@yandex.ru

Тарас Иванович Алипер, д.б.н., профессор, председатель совета директоров, aliper@vetbio.ru

ООО «Ветбиохим» (109316, г. Москва, Волгоградский проспект, д. 42)

В результате проведенного серологического обследования одного из животноводческих комплексов было установлено наличие специфических антител к шести вирусам крупного рогатого скота, вызывающим респираторные и кишечные инфекции у телят. Против трех из них животных ранее не иммунизировали и установленные антитела не могли быть поставочными. Инактивированная семикомпонентная вакцина КОМБОВАК-А, которой иммунизировали коров и полученное от них потомство, снизила заболеваемость и смертность молодняка в 1,3 – 2,0 раза по сравнению с таковыми при использовании иммунобиологических препаратов с меньшим спектром антигенов. Схема вакцинации коров, предусматривающая одномоментную иммунизацию всего взрослого поголовья с периодичностью 6 месяцев, по эффективности не уступает индивидуальной вакцинации животных, в зависимости от их физиологического статуса (осеменение, отел). Схема ранней первой вакцинации телят в возрасте 7 – 10 суток оказалась более эффективной, чем в 30 – 35-суточном возрасте, несмотря на достаточно высокий уровень колостральных антител. **Ключевые слова:** адъюванты, вакцина, вирусы КРС, колостральный иммунитет, эффективность вакцинации.

The effectiveness of different schemes for using the KOMBOVAC-A vaccine in conditions of a farm unfavorable for respiratory and intestinal diseases of calves

E.V. Shemelkov, PhD in Veterinary Sciences, Deputy director, shemelkov@mail.ru

G.O. Shemelkova, PhD in Biology, Senior microbiologist, shemelckova@yandex.ru

E.V. Ivanov, PhD in Biology, Leading researcher, doctor2112@yandex.ru

O.A. Verkhovsky, PhD in Biology, Professor, Head of department, verkhovsky@rosvet.ru

A.D. Bulgakov, PhD in Veterinary Sciences, Head of department, bulgakov_ad@mail.ru

Yu.A. Baranova, Microbiologist, yusyagrant@yandex.ru

T.I. Aliper, PhD in Biology, Professor, Chairman of the Board of Directors, aliper@vetbio.ru

LLC Vetbiohim, orgotdel@rosvet.ru (105120, Moscow, Volgogradsky Prospekt, 42, floor 1)

In the livestock complex, specific antibodies to six bovine viruses that cause respiratory and intestinal infections in calves were identified. Three of them had not previously been subject to specific prophylaxis and antibodies could not be produced post-vaccination. The inactivated seven-component vaccine KOMBOVAC-A, which was used to immunize cows and their offspring, significantly reduced the morbidity and mortality of young animals – 1,3 – 2,0 times compared to the period when immunobiological preparations with a smaller spectrum of antigens were used. It was found that simultaneous immunization of the entire adult livestock with a frequency of 6 months is not inferior in its effectiveness to individual vaccination of animals, depending on their physiological status (insemination, calving). Early first immunization of calves (at the age of 7– 10 days) turned out to be more effective than at 30 – 35 days of age, despite the fairly high level of colostral antibodies. **Key words:** adjuvants, vaccine, bovine viruses, colostral immunity, vaccination effectiveness. DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.10-15

Инфекционные респираторные и кишечные болезни телят, так же как и инфекционные патологии репродуктивной системы коров, остаются одной из актуальных проблем современного животноводства.

Экономические потери складываются из недополучения новорожденных телят, гибели и/или выбраковки молодняка, снижения мясной и молочной продуктивности животных, затрат на лечение [1, 7].

УДК 619:615.371:616.98:619

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗНЫХ СХЕМ ПРИМЕНЕНИЯ ВАКЦИНЫ КОМБОВАК-А В ХОЗЯЙСТВЕ, НЕБЛАГОПОЛУЧНОМ ПО РЕСПИРАТОРНЫМ И КИШЕЧНЫМ БОЛЕЗНЯМ ТЕЛЯТ

Евгений Владимирович Шемельков, к.в.н., заместитель директора, shemelkov@mail.ru, 8-926-378-11-51

Галина Олеговна Шемелькова, к.б.н., старший микробиолог, shemelckova@yandex.ru

Евгений Валерьевич Иванов, к.б.н., ведущий научный сотрудник, doctor2112@yandex.ru

Олег Анатольевич Верховский, д.б.н., профессор, заведующий отделом, verkhovsky@rosvet.ru

Александр Дмитриевич Булгаков, к.в.н., начальник цеха, bulgakov_ad@mail.ru

Юлия Анатольевна Баранова, микробиолог, yusyagrant@yandex.ru

Тарас Иванович Алипер, д.б.н., профессор, председатель совета директоров, aliper@vetbio.ru

ООО «Ветбиохим» (109316, г. Москва, Волгоградский проспект, д. 42)

В результате проведенного серологического обследования одного из животноводческих комплексов было установлено наличие специфических антител к шести вирусам крупного рогатого скота, вызывающим респираторные и кишечные инфекции у телят. Против трех из них животных ранее не иммунизировали и установленные антитела не могли быть поствакцинальными. Инактивированная семикомпонентная вакцина КОМБОВАК-А, которой иммунизировали коров и полученное от них потомство, снизила заболеваемость и смертность молодняка в 1,3 – 2,0 раза по сравнению с таковыми при использовании иммунобиологических препаратов с меньшим спектром антигенов. Схема вакцинации коров, предусматривающая одномоментную иммунизацию всего взрослого поголовья с периодичностью 6 месяцев, по эффективности не уступает индивидуальной вакцинации животных, в зависимости от их физиологического статуса (осеменение, отел). Схема ранней первой вакцинации телят в возрасте 7 – 10 суток оказалась более эффективной, чем в 30 – 35-суточном возрасте, несмотря на достаточно высокий уровень колостральных антител. **Ключевые слова:** адъюванты, вакцина, вирусы КРС, колостральный иммунитет, эффективность вакцинации.

The effectiveness of different schemes for using the KOMBOVAC-A vaccine in conditions of a farm unfavorable for respiratory and intestinal diseases of calves

E.V. Shemelkov, PhD in Veterinary Sciences, Deputy director, shemelkov@mail.ru

G.O. Shemelkova, PhD in Biology, Senior microbiologist, shemelckova@yandex.ru

E.V. Ivanov, PhD in Biology, Leading researcher, doctor2112@yandex.ru

O.A. Verkhovsky, PhD in Biology, Professor, Head of department, verkhovsky@rosvet.ru

A.D. Bulgakov, PhD in Veterinary Sciences, Head of department, bulgakov_ad@mail.ru

Yu.A. Baranova, Microbiologist, yusyagrant@yandex.ru

T.I. Aliper, PhD in Biology, Professor, Chairman of the Board of Directors, aliper@vetbio.ru

LLC Vetbiohim, orgotdel@rosvet.ru (105120, Moscow, Volgogradsky Prospekt, 42, floor 1)

In the livestock complex, specific antibodies to six bovine viruses that cause respiratory and intestinal infections in calves were identified. Three of them had not previously been subject to specific prophylaxis and antibodies could not be produced post-vaccination. The inactivated seven-component vaccine KOMBOVAC-A, which was used to immunize cows and their offspring, significantly reduced the morbidity and mortality of young animals – 1,3 – 2,0 times compared to the period when immunobiological preparations with a smaller spectrum of antigens were used. It was found that simultaneous immunization of the entire adult livestock with a frequency of 6 months is not inferior in its effectiveness to individual vaccination of animals, depending on their physiological status (insemination, calving). Early first immunization of calves (at the age of 7– 10 days) turned out to be more effective than at 30 – 35 days of age, despite the fairly high level of colostral antibodies. **Key words:** adjuvants, vaccine, bovine viruses, colostral immunity, vaccination effectiveness. DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.10-15

Инфекционные респираторные и кишечные болезни телят, так же как и инфекционные патологии репродуктивной системы коров, остаются одной из актуальных проблем современного животноводства.

Экономические потери складываются из недополучения новорожденных телят, гибели и/или выбраковки молодняка, снижения мясной и молочной продуктивности животных, затрат на лечение [1, 7].

Наряду с хозяйственными, зоотехническими и общими ветеринарно-санитарными мероприятиями вакцинация является важным и эффективным способом профилактики инфекционных заболеваний, имеющим специфическую направленность и доказанную экономическую обоснованность [5, 7]. В основе ее лежит феномен, называемый иммунологической памятью, – способность иммунной системы к более быстрому и эффективному ответу на антиген, с которым организм встречался ранее (вторичный иммунный ответ). Она обусловлена наличием иммунных клеток памяти – длительно живущих субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, значительно быстрее и активнее реагирующих на повторное введение антигена [3, 12, 14].

Одним из важнейших аспектов, влияющих на эффективность специфической профилактики инфекционных болезней, является схема применения вакцины. Ее разрабатывают исходя из задач, для решения которых вакцина создана, учитывают целевое поголовье животных. Многокомпонентные вакцины, предназначенные для специфической профилактики основных вирусных респираторных, кишечных и репродуктивных заболеваний крупного рогатого скота, как правило, имеют следующие цели: для взрослых животных – профилактика инфекционных патологий функции воспроизводства и создание колострального иммунитета у новорожденных телят [2, 6, 9]; для молодняка – выработка активного поствакцинального иммунитета [5, 11].

Чаще всего схема иммунизации коров с использованием инактивированных вакцин подобного типа предусматривает двукратную вакцинацию перед осеменением и двукратную ревакцинацию перед отелом. Однако, такой подход нецелесообразен, в реальных производственных

условиях отелы происходят в течение всего года, поэтому такая схема фактически подразумевает индивидуальный график вакцинации коров [5, 13].

Вакцинация телят, в частности в первые недели и месяцы жизни, имеет свои особенности. При своевременной выпойке молозива новорожденный молодняк обладает высоким уровнем колостральных антител, играющих очень важную роль в защите от вирусных и бактериальных инфекций. При этом они же препятствуют развитию эффективного гуморального иммунного ответа на вакцинацию. Зачастую первую вакцинацию телятам рекомендуют проводить начиная с 30-дневного возраста и старше, когда уровень колостральных антител существенно снижается. Но в этом случае собственный активный поствакцинальный иммунитет вырабатывается в более поздние сроки. В результате в иммунологическом статусе животных появляется окно, когда колостральных антител уже недостаточно, а собственный активный иммунитет еще не выработался. В этот период молодняк становится восприимчивым к инфицированию и возможному дальнейшему развитию заболевания [6, 10, 15].

Задача данного исследования – отработка и оптимизация схем применения взрослым животным и телятам семикомпонентной инактивированной комбинированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной болезней и аденовирусной инфекции крупного рогатого скота КОМБОВАК-А.

Материалы и методы. Для изготовления вакцины в качестве антигенных компонентов использовали инактивированные производственные штаммы вирусов крупного рогатого скота: инфекционного ринотрахеита (ИРТ), пара-

гриппа-3 (ПГ-3), вирусной диареи (ВД), респираторно-синцитиального вируса (РС), ротавируса (РВ), коронавируса (КВ) и аденовируса крупного рогатого скота I типа (АВ), полученные в перевиваемой культуре клеток почки теленка MDBK. Адъювантом в вакцине служил коммерческий продукт на основе минерального масла – MONTANIDE ISA 61, предназначенный для конструирования эмульсий типа вода в масле.

Исследование провели на двух рядах расположенных производственных площадках одного животноводческого комплекса, неблагополучного по респираторным и кишечным инфекционным болезням телят, предварительно на каждой из них осуществив выборочный серологический мониторинг животных. На первой площадке коров и телок случного возраста ($n=363$) вакцинировали двукратно с интервалом 20 – 25 суток, так чтобы первая иммунизация приходилась за 28 – 30 суток до осеменения. Ревакцинацию осуществляли перед отелом, двукратно с интервалом 21 – 28 суток, причем первый раз вакцину вводили за 55 – 60 суток до отела (схема К-1). На второй площадке все поголовье животных старше года ($n=436$) вакцинировали каждые 6 месяцев двукратно с интервалом 14 – 21 сутки, но так чтобы иммунизация не приходилась позднее чем за 30 суток до отела и не была в течение первых 3 недель лактации (схема К-2).

Независимо от схемы вакцинации коров на обеих площадках всех полученных телят разделили примерно на равные группы, каждую содержали в отдельном помещении. Для их иммунизации использовали также две схемы: Т-1 – телят вакцинировали в возрасте 30 – 35 суток двукратно с интервалом 20 – 25 суток, ревакцинировали однократно в возрасте 6 месяцев; Т-2 – телят иммунизировали в возрасте 7 – 10 суток

двукратно с интервалом 20 – 25 суток, ревакцинировали однократно в возрасте 6 месяцев. Вакцину вводили внутримышечно телятам до года – 2 мл/голову, животным старше года – 3 мл.

Эффективность иммунизации коров оценивали по выходу телят, а вакцинации телят – по заболеваемости респираторными и кишечными инфекциями, смертности и вынужденной выбраковке. Сравнивали эти показатели в группах животных с разными схемами иммунизации коров и телят, а также с аналогичными показателями до внедрения вакцины КОМБОВАК-А.

При проведении эксперимента у телят каждой группы (по 25 – 30 гол.) брали кровь до вакцинации (д/в), через 3 – 4 недели после второй вакцинации (II) и в 5,5 – 6-месячном возрасте перед первой ревакцинацией (п/рев) для оценки уровня вируснейтрализующих антител к возбудителям, входящим в состав препарата. Специфические антитела к каждому вирусному антигену определяли в реакции нейтрализации, проводимой микрометодом в 96-луночных полистироловых планшетах по стандартной методике с рабочей дозой соответствующего вируса 100 – 300 ТЦД₅₀/мл. Вируснейтрализующий титр антител в сыворотке крови выражали как предельное ее разведение, ингибирующее развитие ЦПД вируса в 50 % зараженных культур клеток. Общая продолжительность эксперимента составила 2,5 года.

Результаты статистически обрабатывали общепринятыми методами с помощью компьютерных программ Microsoft Office Excel 2007 – 2016 и статистических онлайн-калькуляторов [<https://math.semestr.ru>, <https://medstatistic.ru>].

Результаты исследований и обсуждение. При предварительном серологическом мониторинге животных двух

площадок выявили специфические антитела ко многим возбудителям вирусных инфекций крупного рогатого скота (табл. 1).

Согласно отчету о проведении противоэпизоотических мероприятий ранее на комплексе применяли инаktivированные вакцины против парагриппа-3 и вирусной диареи, живую вакцину против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Исходя из полученных результатов, можно утверждать, что вируснейтрализующие антитела к рота-, адено- и коронавирусам крупного рогатого скота не являются поствакцинальными, их наличие указывает на циркуляцию соответствующих возбудителей.

На первой площадке от 363 коров получили 348 телят (96 %), на второй от 436 животных – 414 телят (95 %), до

применения вакцины КОМБОВАК-А этот показатель был соответственно на уровне 83 и 82 %.

Напряженность гуморального иммунного ответа у телят при использовании разных схем вакцинации животных отражена в таблице 2. До вакцинации у телят выявили высокий уровень колостральных антител ко всем вирусам, входящим в состав вакцины. Несмотря на это, после двукратной иммунизации молодняка зафиксировали подъем поствакцинальных антител вне зависимости от схем иммунизации коров и телят ($P<0,05$). В итоге к моменту ревакцинации в возрасте 6 месяцев титр антител падал к тем вирусам, полевые штаммы которых не присутствовали (или были низкоактивными) на производственных площадках. Усиление гуморального им-

Таблица 1

Результаты серологического мониторинга

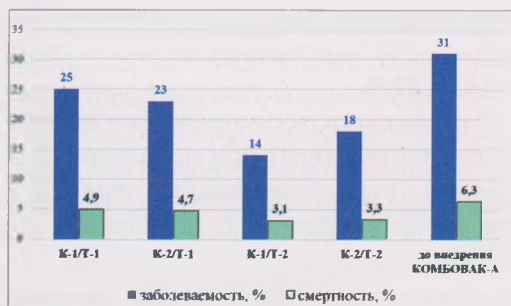
Площадка	Уровень антител к вирусам*						
	ИРТ	ВД	ПГ-3	РС	РВ	КВ	АВ
Первая	98	79	80	2	45	63	34
Вторая	97	83	85	7	38	70	30

* Здесь и далее приведены средние геометрические значения титра антител в сыворотке крови животных соответствующих групп, выраженные в обратных величинах.

Таблица 2

Уровень вируснейтрализующих антител в сыворотке крови телят

Площадка	Схема вакцинации телят	Срок исследований	Уровень антител к вирусам						
			ИРТ	ВД	ПГ-3	РС	РВ	КВ	АВ
Первая (схема К-1)	Т-1	д/в	88	78	70	22	87	65	48
		II	137	141	124	53	131	141	88
		п/рев	119	156	32	8	65	78	52
	Т-2	д/в	134	115	109	32	126	98	69
		II	128	126	104	47	129	119	70
		п/рев	112	148	24	6	96	84	61
Вторая (схема К-2)	Т-1	д/в	69	103	91	12	65	59	74
		II	114	123	127	64	154	128	147
		п/рев	102	126	42	7	97	89	85
	Т-2	д/в	87	142	117	14	93	86	91
		II	101	136	116	58	136	124	123
		п/рев	99	114	38	8	85	91	80



Эффективность вакцины КОМБОВАК-А

мунного ответа к вирусам инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота, вероятно, обусловлено присутствием на комплексе высокоактивных штаммов возбудителей, в случае ИРТ также не исключена циркуляция вакцинного штамма, применяемого ранее.

Таким образом, схема вакцинации коров, при которой все поголовье старше года иммунизируют каждые 6 месяцев, по своей эффективности не уступает варианту с индивидуальным подходом для каждого животного. Выход телят оказался на сопоставимом уровне – 95 % и 96 % соответственно и не зависел от используемой схемы иммунизации.

Средний уровень (по двум площадкам) заболеваемости и смертности телят при проведении первой вакцинации в 30 – 35 суток составил 24 % и 4,8 %, а в 7 – 10-суточном возрасте – 16 % и 3,2 % соответственно (см. рисунок). Следовательно, несмотря на высокий уровень колостральных антител первичная вакцинация телят в раннем возрасте более эффективна. Такой результат, возможно, объясняется тем, что колостральные антитела подавляют способность новорожденных формировать собственный гуморальный иммунный ответ, но не влияют на развитие клеточного иммунитета [8, 15]. Следует учесть, что до внедрения вакцины КОМБОВАК-А заболеваемость и смертность телят на ком-

плексе в среднем были 31 % и 6,3 % соответственно. Данный положительный эффект получен, видимо, за счет расширенного состава антигенных компонентов в вакцине, который в большой мере соответствует набору циркулирующих возбудителей, а также современному эффективному адъюванту в составе препарата [4, 8].

Заключение. После иммунизации стельных коров семикомпонентной вакциной КОМБОВАК-А у новорожденных телят зафиксировали высокий уровень колостральных антител, которые не препятствовали поствакцинальному иммуногенезу при вакцинации телят. Установлено, что ранняя вакцинация молодняка (в возрасте 7 – 10 суток) более эффективна и позволяет снизить заболеваемость и смертность в 1,5 раза по сравнению со схемой иммунизации, предусматривающей первичную вакцинацию телят в возрасте 30 – 35 суток. Регулярная вакцинация всего поголовья старше года с периодичностью 6 месяцев по эффективности не уступает схеме, при которой коров иммунизируют по индивидуальному графику в зависимости от срока осеменения и предполагаемого отела. При этом значительно снижаются трудозатраты на проведение вакцинации и расходы на выбраковку вскрытой, но не использованной вакцины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Верховская А.Е., Верховский О.А., Непоклонова И.В., Алипер Т.И. Инфекционный ринотрахеит/инфекционный пустулезный вульвовагинит крупного рогатого скота. Сборник актуальные инфекционные болезни КРС. М.: ЗооВетКнига, 2021; 277 – 291.
2. Ефанова Л.И., Золотарев А.И., Черницкий А.Е., Манжурина О.А., Парфенова И.В., Адодина М.И. Противовирусный колостральный иммунитет и респираторные болезни у телят первого месяца жизни. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2013; 3(19):30 – 36.
3. Зверев В.В., Хаитов Р.М. и др. Вакцины и вакцинация. М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2014; 608.
4. Красочко П.А., Яромчик Я.П., Красочко П.П., Красочко В.П., Сеница Н.В., Шашкова Ю.А., Тара-

сов А.А. Адъюванты при конструировании ассоциированных вакцин против инфекционных энтеритов молодняка крупного рогатого скота. Ветеринарна біотехнологія. 2019; 35:90 – 99. DOI:10.31073/vet_biotech35-11

5. Сергеев В.А., Непоклонов Е.А., Алипер Т.И. Вирусы и вирусные вакцины. М.: Библионика, 2007; 524.

6. Счисленко С.А., Щербак О.И., Мороз А.А., Сивков И.О., Сушкова М.А., Щербак Я.И. Напряженность колострального иммунитета у телят к респираторным вирусам. Вестник КрасГАУ. 2018; 4:82 – 85.

7. Шемелькова Г.О., Верховская А.Е., Соболева Г.Л., Шемельков Е.В., Иванов Е.В., Непоклонова И.В., Алипер Т.И. Специфическая профилактика аденовирусной инфекции крупного рогатого скота с использованием комбинированной вакцины. Ветеринария Кубани. 2013; 3:3 – 5.

8. Шемельков Е.В., Верховский О.А., Алипер Т.И. Противовирусный иммунитет. Вакцины и вакцинация. Сборник актуальные инфекционные болезни КРС. М.: ЗооВетКнига, 2021; 102 – 164.

9. Шилова Е.Н., Порываева А.П., Печура Е.В., Халтурина Л.В. Колостральный иммунитет как аналитический фактор прогнозирования развития острых

респираторных вирусных инфекций у телят. Ветеринария сегодня. 2021; 1(36):29 – 32. DOI:10.29326/2304-196X-2021-1-36-29-32

10. Baccili C.C., Martin C.C., Decaris N., Madureira K.M., Chase C., Gomes V. Effects of 3 Different Commercial Vaccines Formulations against BVDV and BHV-1 on the Inflammatory Response of Holstein Heifers. V. Vet. Sci. 2019; 6(3):69.

11. Castrucci G., Frigeri F., Salvatori D., Ferrari M., Lo Dico M., Rotola A., Sardonini Q., Petrini S., Cassai E. A study on latency in calves by five vaccines against bovine herpesvirus-1 infection. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2002; 25:205 – 215.

12. Day M.J., Schultz R.D. Veterinary Immunology – Principles and Practice, Second edition. Department of Pathobiological Sciences School of Veterinary Medicine University of Wisconsin-Madison, USA. 2014.

13. Peek S.F., Divers T.J. Rebhun's Diseases of Dairy Cattle. ELSEVIER. 2018; 94 – 167.

14. Tizard I.R. Vaccines for Veterinarians. ELSEVIER. 2021; 261 – 273.

15. Winkler M.T.C., Doster A., Jones C. Persistence and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves. J. Virol. 2000; 74:5337 – 5346.

ПРИГЛАШАЕМ ПРИНЯТЬ УЧАСТИЕ

XXIX МЕЖДУНАРОДНАЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ТОРГОВО-ПРОМЫШЛЕННАЯ ВЫСТАВКА

МВС: ЗЕРНО-КОМБИКОРМА-ВЕТЕРИНАРИЯ - 2024

Ufi
Approved
Event



19-21 ИЮНЯ



МОСКВА, ЭКСПОЦЕНТР, ПАВИЛЬОН № 7

СПЕЦИАЛЬНАЯ ПОДДЕРЖКА:



МИНСЕЛЬХОЗ РОССИИ



РОССИЙСКИЙ
ЗЕРНОВОЙ СОЮЗ



АССОЦИАЦИЯ
«РОСРЫБХОЗ»



СОЮЗ
КОМБИКОРМИЩИКОВ



СОЮЗРОССАХАР



НАЦИОНАЛЬНАЯ
ВЕТЕРИНАРНАЯ
АССОЦИАЦИЯ



АССОЦИАЦИЯ
ПТИЦЕВООДОВ
СТРАН ЕВРАЗИЙСКОГО
ЭКОНОМИЧЕСКОГО СОЮЗА



СОЮЗ ПРЕДПРИЯТИЙ
ЗООБИЗНЕСА



АССОЦИАЦИЯ
«ВЕТБИОПРОМ»



АССОЦИАЦИЯ
«ВЕТБЕЗОПАСНОСТЬ»



НАЦИОНАЛЬНЫЙ СОЮЗ
СВИНОВОДОВ



РОСПТИЦЕСОЮЗ

ОРГАНИЗАТОР ВЫСТАВКИ: ООО «ЭМ-ВИ-СИ»



ТЕЛ.: (495) 755-50-35, 755-50-38
E-MAIL: INFO@EXPOKHLVB.COM
WWW.MVCXPO.RU



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ПАРТНЕР
МОСКОВСКАЯ ТОРГОВО-ПРОМЫШЛЕННАЯ ПАЛАТА



16+

ХЮВЕФАРМА®



Профил® 75

Ооцидный, нематодный, бактерицидный,
микобактерицидный, вирулицидный и фунгицидный дезинфектант

Фенольный комплекс - синергия компонентов для качественной дезинфекции

Препарат выбора для борьбы с кокцидиями, криптоспоридиями, нематодами и микобактериями в окружающей среде

Дезинфекция транспорта и обуви: доказанная эффективность
1% рабочий раствор (1:100) при 10° С

Широкий спектр действия
даже в условиях сильных органических загрязнений



HUVEPHARMA®

We add performance to your business

Представительство ООО ХЮВЕФАРМА (Болгария) в г. Москва

Россия, 115191, Москва, 4-й Рошинский проезд, дом 19

Телефон: +7(495) 958-56-56, 952-55-46, 633-83-64, факс: +7(495) 958-56-66

russia@huvepharma.com, www.huvepharma.com

ХЮВЕФАРМА®



Профил® 75

Ооцидный, нематодный, бактерицидный,
микобактерицидный, вирулицидный и фунгицидный дезинфектант

Фенольный комплекс - синергия компонентов для качественной дезинфекции

Препарат выбора для борьбы с кокцидиями, криптоспоридиями, нематодами и микобактериями в окружающей среде

Дезинфекция транспорта и обуви: доказанная эффективность
1% рабочий раствор (1:100) при 10° С

Широкий спектр действия
даже в условиях сильных органических загрязнений



HUVEPHARMA®

We add performance to your business

Представительство ООО ХЮВЕФАРМА (Болгария) в г. Москва

Россия, 115191, Москва, 4-й Рощинский проезд, дом 19

Телефон: +7(495) 958-56-56, 952-55-46, 633-83-64, факс: +7(495) 958-56-66

russia@huvepharma.com, www.huvepharma.com

ПРЯМАЯ РЕАКЦИЯ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ
ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Наталья Николаевна Новикова, к.в.н., ведущий научный сотрудник
Василий Сергеевич Власенко, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник
Евгений Алексеевич Вишневский, к.в.н., старший научный сотрудник
ФГБНУ «Омский аграрный научный центр»

Прямую реакцию иммунофлюоресценции с опытными образцами диагностических флюоресцирующих иммуноглобулинов против вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) применяли для выявления антигена вируса в мазках крови и клеточной взвеси лимфоцитов, выделенной на градиенте плотности рентгеноконтрастного вещества, и сравнивали с известным непрямым методом. Работу провели на материале из неблагополучного по лейкозу хозяйства Омской области (до 80 % животных инфицировано). Установили, что за счет минимизации трудозатрат, сокращения в 2,5 раза времени постановки реакции, выявления вируса на ранних стадиях развития болезни, благодаря высокой специфичности и активности флюоресцирующих иммуноглобулинов, прямой метод в сочетании с техникой выделения клеточной взвеси лимфоцитов позволяет уменьшить стоимость диагностики лейкоза крупного рогатого скота. **Ключевые слова:** крупный рогатый скот, лейкоз, диагностика, иммунофлюоресценция, ПЦР.

Direct immunofluorescence reaction for the diagnosis of bovine leukemia virus

N.N. Novikova, PhD in Veterinary Science, Leading researcher
V.S. Vlasenko, PhD in Biology, Professor, Chief researcher
E.A. Vishnevsky, PhD in Veterinary Science, Senior researcher
Omsk Agricultural Research Center

The article discusses options for using a direct immunofluorescence reaction using a prototype of "Diagnostic fluorescent immunoglobulins against bovine leukemia virus" in diagnostic titers of 1:640 – 1:1280 to detect the virus antigen in blood smears and a cell suspension of lymphocytes isolated on a density gradient of radiopaque substances, compared to the indirect method. The studies were conducted on material obtained from farms in the Omsk region (up to 80 % of infected animals were unaffected and control animals were free of this disease). As a result of the studies, it was established that the direct method in combination with the technique of isolating a cell suspension of lymphocytes can reduce the cost of diagnosing bovine leukemia. This is achieved by minimizing the labor costs of a specialist, reducing the reaction time by 2,5 times, and identifying the virus in the early stages of disease development due to the high specificity and activity of fluorescent immunoglobulins. **Key words:** cattle, leukemia, diagnostics, immunofluorescence, PCR.

DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.17-21

По данным Россельхознадзора РФ за 2022 год, лейкоз крупного рогатого скота занимал лидирующую позицию в перечне самых диагностируемых инфекций [5]. Многие исследователи считают его эпидемически опасным и ответственным за развитие онкологических заболеваний людей при передаче возбудителя от животных [6, 10, 11]. У молочного скота вирус лейкоза вызывает множественные нарушения иммунной системы, способствует развитию лимфомы. В результате снижается молочная продуктивность, сокращаются сроки хозяйственного использования животных [3, 7, 14].

Методом, обладающим максимальной чувствительностью и высокой специфичностью, позволяющим с высокой эффективностью выявлять инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) животных, а также дифференцировать зараженных телят от молодняка с колющими антителами является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [2]. Однако, высокая стоимость оборудования и реактивов для ПЦР не позволяет ее рассматривать как метод массовой диагностики. Помимо этого, в развитии вирусной инфекции существуют периоды, имеющие низкий уровень

ДНК провируса. В этих случаях более информативной является серологическая диагностика – иммуноферментный анализ (ИФА) и реакция иммунодиффузии (РИД) [8]. Метод флюоресцирующих антител – высокочувствительный и специфичный для идентификации лимфоцитов периферической крови крупного рогатого скота, зараженного ВЛКРС. Он выявляет большее количество вирусоносителей по сравнению с РИД, ИФА и ПЦР [1, 9].

Реакция непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) универсальна для индикации антигена и антител, она обладает следующими преимуществами: простотой в исполнении, скорости постановки, специфичности и экономичности [4]. При сравнении прямого (РПИФ) и непрямого методов иммунофлюоресценции отмечали, что первый более чувствительный за счет снижения перекрестных реакций вторичных антител, которые вызывают повышенное свечение при непрямом методе [12, 13].

Цель работы – сравнить прямой и непрямой метод реакции иммунофлюоресценции для выявления вируса лейкоза крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Кровь для исследований брали у коров в одном из хозяйств Омской области с широким распространением лейкоза (до 80 % животных инфицировано). Предварительно поголовье диагностировали с помощью серологических (РИД, набор фирмы «Биок»), гематологических (подсчет лейкоцитов в камере Горяева, составление лейкограммы) и молекулярно-генетических (ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с тест-системой «Лейкоз» для выделения провирусной ДНК ВЛКРС, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) методов. Придерживались Методических указаний по диагностике лейкоза крупного рогатого скота №13-7-2/2130 от 23.08.2000.

Всего обследовали 400 голов крупного рогатого скота, из них 100 молодняка разного возраста, родившегося от матерей-вирусоносителей (телята до 6 месяцев), 100 коров дойного стада в возрасте от 3 до 5 лет из неблагополучного по ВЛКРС хозяйства и 200 животных аналогов по породе, возрасту, живой массе и продуктивности из благополучного по данному заболеванию животноводческого комплекса. Кровь отбирали в пробирки с 10%-ным раствором динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА).

Реакцию иммунофлюоресценции проводили согласно разработанным ранее методическим пособиям в мазках крови [5] и лимфоцитах, выделенных из крови крупного рогатого скота в градиенте плотности рентгеноконтрастного вещества [2] непрямым и прямым методом [патент RU № 2810589 С1 от 27.12.2023]. Лимфоциты из крови выделяли в градиенте плотности рентгеноконтрастного вещества (76%-ного или 60%-ного тразографа).

При постановке реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) использовали компоненты из набора для диагностики лейкоза в РИД (антиген ВЛКРС, положительная сыворотка крови крупного рогатого скота в титре 1:2, отрицательная сыворотка крови крупного рогатого скота, ФКП «Курская биофабрика» – «Биок», Россия) и люминесцирующую сыворотку кролика против глобулинов быка (НИЦЭМ имени Н.Ф. Гамалеи). Для реакции прямой иммунофлюоресценции (РПИФ) применяли опытные серии диагностических флюоресцирующих иммуноглобулинов против ВЛКРС.

Положительным контролем РНИФ служили антиген и положительная сыворотка крови из набора РИД, а отрицательным – антиген из набора РИД и отрицательная сыворотка крови от крупного рогатого скота, антиген из

набора РИД и физиологический раствор. Для РПИФ положительный контроль – антиген из набора РИД и лимфоциты крови коровы, больной лейкозом в гематологической форме, а отрицательный – лимфоциты здорового животного из благополучного по ВЛКРС хозяйства. Реакции оценивали в крестах: +++++ – очень яркая люминесценция, четко контрастирующая на темном фоне; +++ – яркая люминесценция; ++ или + – слабое свечение; – (минус) – отсутствие люминесценции. За положительный результат принимали специфическое свечение антигена с оценкой в три или четыре креста.

Активность и перекрестную реактивность определяли с помощью вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 Щелковского биокомбината и антигена вируса лейкоза из набора РИД. Опытные диагностические флюоресцирующие иммуноглобулины против ВЛКРС и иммуноглобулины диагностические, флюоресцирующие бруцеллезные сухие (Ставропольский НИИ противочумный институт) разводили в 0,9%-ном физиологическом растворе с 1:80 до 1:1280, активность красящего титра учитывали по максимальному разведению, обеспечивающему окраску препарата не ниже трех крестов. Реакцию иммунофлюоресценции визуализировали на микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия).

Результаты исследований и обсуждение. Для сравнительной оценки диагностики ВЛКРС с помощью прямого и непрямого методов реакции иммунофлюоресценции мы сконструировали опытный образец диагностических флюоресцирующих иммуноглобулинов в диагностических титрах 1:640 – 1:1280. Получили их из крови больной в клинико-гематологической форме коровы. Отделили сыворотку, инактивировали ее при 56 °С в течение 30 мин, затем высаливанием в насыщенном растворе сернокислого аммония выделили глобулиновую фракцию, очистили ее центрифугированием и гельфильтрацией на Сефадекс G 25 и поместили флюоресцеин 5-изотиоционатом.

Из данных таблицы 1 видно, что полученные диагностические флюоресцирующие иммуноглобулины против ВЛКРС обладали высокой активностью в титре 1:640 – 1:1280 при рабочем разведении 1:640. Перекрестная реактивность в отношении антигена ВЛКРС отсутствовала в 100 % случаях, о чем свидетельствуют положительная реакция с антигеном вируса лейкоза (свечение не менее трех крестов) и отрицательная с антигеном *B. abortus* 19.

Анализ непрямого и прямого метода иммунофлюоресценции при диагностике лейкоза крупного рогатого скота с различным эпизоотическим статусом

Таблица 1

Активность и перекрестная реактивность диагностических флюоресцирующих иммуноглобулинов против ВЛКРС

Антиген	Опытные диагностические флюоресцирующие иммуноглобулины против ВЛКРС					Иммуноглобулины диагностические флюоресцирующие бруцеллезные				
	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Вакцинный штамм <i>Brucella abortus</i> 19	++	+	–	–	–	++++	++++	++++	+++	+++
Антиген вируса лейкоза	++++	++++	++++	+++	+++	++	+	–	–	–

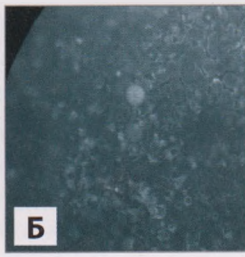
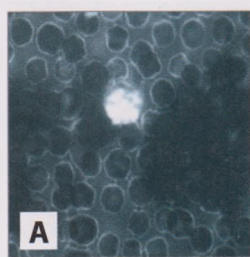
**Чувствительность непрямого и прямого метода иммунофлюоресценции
при диагностике лейкоза крупного рогатого скота**

Статус хозяйства	Статус животных	Число проб	Реагирующие			
			в мазках крови		в клеточной взвеси	
			РНИФ	РПИФ	РНИФ	РПИФ
Неблагополучное по ВЛКРС	Коровы					
	Всего	100	53	53	58	58
	РИД (-)	50	3	3	8	8
	РИД (+)	50	50	50	50	50
	Телята до 6 месяцев					
	Всего	100	50	50	51	51
	ПЦР (-)	50	0	0	1	1
	ПЦР (+)	50	50	50	50	50
Благополучное по ВЛКРС (контроль)	Коровы					
	Всего РИД(-)	100	0	0	0	0
	Телята до 6 месяцев					
	Всего	100	0	0	0	0

показал одинаковую 100%-ную их чувствительность. Однако у животных из неблагополучного хозяйства в лимфоцитах концентрация антигена ВЛКРС повышала чувствительность реакции на 10 % по сравнению с его индикацией в мазках крови РИД отрицательных ко-

ров и на 2 % у телят до шести месяцев отрицательных в ПЦР-тесте (табл. 2). В контрольной группе у животных из благополучного хозяйства положительных результатов не выявили, что подтверждает специфичность методов диагностики.

НЕПРЯМОЙ МЕТОД



ПРЯМОЙ МЕТОД

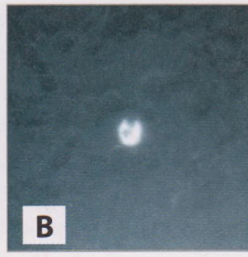
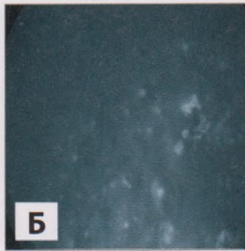


Рис. 1. Реакция иммунофлюоресценции в мазках крови: А и В – положительная; Б, Г – отрицательная (10х100)

НЕПРЯМОЙ МЕТОД



ПРЯМОЙ МЕТОД

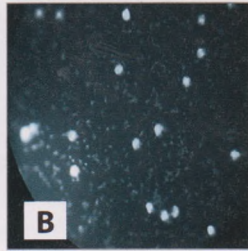


Рис. 2. Реакция иммунофлюоресценции в клеточной взвеси лимфоцитов: А, В – положительная; Б, Г – отрицательная (10 х 100)

Сравнивая методы постановки реакции иммунофлюоресценции по визуализации антигена, отметили, что при окрашивании мазков крови с помощью РНИФ их яркость усилена, видны форменные элементы крови, а при окраске РПИФ регистрировали только свечение комплекса антиген-антитело на темном или зеленоватом поле. При отрицательной реакции в мазке крови, окрашенном РНИФ, также видны форменные элементы при свечении в один или два креста, а при окраске РПИФ – рисунок нечеткий, свечение клеток в один крест или его не видно (рис. 1).

При постановке реакции иммунофлюоресценции в клеточной взвеси лимфоцитов окрашивание любым из предложенных методов не имело принципиальных различий (рис. 2). Положительная реакция давала яркое изумрудное свечение на три-четыре креста, а отрицательная – нечеткие контуры клеток со слабым свечением в один или два креста.

Заключение. Прямой метод реакции иммунофлюоресценции с диагностическими флюоресцирующими иммуноглобулинами против ВЛКРС с использованием клеточной взвеси лимфоцитов, выделенных в градиенте плотности рентгеноконтрастного вещества, позволяет минимизировать трудозатраты, сократить время постановки реакции в 2,5 раза, выявлять вирус на ранних стадиях развития болезни за счет высокой специфичности и активности флюоресцирующих иммуноглобулинов в титре 1:640 – 1:1280, уменьшить стоимость диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Реакция может быть адаптирована для автоматизированного учета результатов, а также служить альтернативой ПЦР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богатова И.Ю. Диагностический препарат при лейкозе крупного рогатого скота на основе флюоресци-

рующих Fab2-фрагментов антител. Известия Академии аграрных наук Республики Беларусь. 1999; 3:78 – 80.

2. Власенко В.С., Вишневский Е.А., Новикова Н.Н., Борисов Е.С. Методы диагностики и оценки предрасположенности молодняка крупного рогатого скота к инфицированию вирусом лейкоза: Методические рекомендации. ФГБНУ Омский АНЦ. Омск, 2021; 6 – 9.

3. Козырева Н.Г., Комина А.К., Абашин И.Ю., Степанова Т.В. Алгоритм определения количества ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота на основе ПЦР с флюоресцентной детекцией продуктов амплификации. Ветеринария. 2023; 9:23 – 28.

4. Мищенко А.В., Гулюкин А.М., Оганесян А.С. и др. Использование проб молока при эпизоотическом контроле болезней крупного рогатого скота. Аграрная наука. 2023; 5:27 – 32.

5. Новикова Н.Н., Байсеитов С.Т., Власенко В.С. Применение реакции непрямой иммунофлюоресценции для диагностики лейкоза крупного рогатого скота: методические указания. Алматы, 2020; 17.

6. Новикова Н.Н., Власенко В.С. Оценка эффективности методов диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Ветеринария и кормление. 2023; 5:57 – 60.

7. Эпизоотическая ситуация в РФ. Отчеты по эпидситуации в стране: Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору: <https://fsvps.gov.ru/ru/iac/rf/ezhekvaralnyj-otchet>

8. Aida Y., Murakami H., Takahashi M., Takeshima S-N. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. Front. Microbiol. 2013; 8(4):328.

9. Bartlett P., Ruggiero V., Hutchinson H. et al. Current Developments in the Epidemiology and Control of Enzootic Bovine Leukosis as Caused by Bovine Leukemia Virus. Pathogens. 2020; 9:3. DOI:10.3390/pathogens9121058

10. Beier D., Blankenstein P., Fechner H. Possibilities and limitations for use of the polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of bovine leukemia virus (BLV) Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 1998; 105:408 – 412.

11. Bojarowicz-Nosowicz B., Kaczmarczyk E. Comparative analysis of the PCR and IMF methods the diagnosis of Bovine Leukemia Virus infections. Medycyna Weterynaryjna. 2008; 64:1393 – 1396.

12. Buhning G.K., Delaney A., Shen H. et al. Bovine leukemia virus discovered in human blood. BMC Infectious Diseases. 2019; 19:297. DOI:org/10.1186/s12879-019-3891-9

13. Marawan M., Alouffi A., Suleiman S. et al. Bovine Leukaemia Virus: Current Epidemiological Circumstance and Future Prospective. Viruses. 2021; 13(11):2167. DOI: 10.3390/v13112167

14. Minnich L., Ray C. Comparison of direct and indirect immunofluorescent staining of clinical samples for the detection of respiratory syncytial virus antigen. Clinical. Medicine. 1982; 5. DOI:10.1128/jcm.15.5.969-970.1982 Case code:12902786

15. Gambarino S., Bergallo M., Terlizzi M.E. et al. Comparison of indirect and direct immunofluorescence for the detection of Respiratory Syncytial Virus. Microbiologia medica. 2009; 24(4):248, 249.

16. Saito S., Hosomichi K., Yamanaka M.P. et al. Visualization of clonal expansion after massive depletion of cells carrying the bovine leukemia virus (BLV) integration sites during the course of disease progression in a BLV naturally-infected cow: a case report. Retrovirology. 2022; 24. <https://doi.org/10.1186/s12977-022-00609-0>

100 лет
1924-2024



**ШЕЛКОВСКИЙ
БИОКОМБИНАТ**

Создавая здоровое будущее!



ВАКЦИНА РЕСВАК **ПРОТИВ РЕПРОДУКТИВНО- РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ ЖИВАЯ СУХАЯ**

ПРЕИМУЩЕСТВА:

- Предупреждает проявление респираторных клинических признаков РРСС
- Повышает продуктивность фермы
- Снижает давление инфекции
- Безопасна в применении
- Обеспечивает получение здорового потомства
- Продолжительный (не менее 7 месяцев) напряженный иммунный ответ

+7 (495) 134-58-85

| comerc@biocombinat.ru

| www.biocombinat.ru

бактерий, некоторые из которых связаны с микрофлорой растений. Роль основных групп до сих пор не определена. Микроорганизмы изменчивы по своему составу, в них часто преобладают условно-патогенные виды и неспециализированные микробные симбионты, которые встречаются в кишечнике млекопитающих. Предполагают, что некоторые из этих видов могут влиять на здоровье и продуктивность пчёл [13].

В 60-х годах XX века коллектив ученых Всесоюзного НИИ санитарии, гигиены и экологии проводил опыты по дезинфекции живых пчёл, завершившиеся летальным исходом, на основании чего было доказано токсическое летальное влияние ряда дезинфицирующих средств [10, 12]. Некоторые авторы в те годы считали, что пчёлы выделяют антибиотические вещества и имеют стерильную поверхность [2]. В связи с тем что в настоящее время живые медоносные пчёлы не являются объектами дезинфекции [1, 8, 9], а сами удаляют и очищают ячейки от погибших личинок и куколок при бактериальных болезнях (американский и европейский гнилец, гафниоз, септицемия, сальмонеллёз, колибактериоз и др.), то велика вероятность сохранения патогенов на покрытой волосками хитиновой поверхности живых пчёл [18].

Материалы и методы. Работа выполнена на базе лаборатории болезней пчёл, экспериментальных пасек ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН Конобеево Воскресенского района и Торбеево Люберецкого района Московской области. Исследования проводили в осенне-зимний период (с октября по апрель) на медоносных пчёлах, взятых из 15 полноценных семей. Из каждой брали матку и по 10 рабочих пчёл и трутней. В прозрачные пластиковые пакеты помещали по 10 пчёл и трутней и по одной матке из

семьи, воздух из пакета выдавливали, пакет закрывали (чтобы насекомые не вылетели) и оставляли при температуре 2 – 4 °С. После того как пчёлы переставали двигаться, пакет в сумке-холодильнике доставляли в лабораторию и хранили при 2 – 4 °С. С поверхностных покровов насекомых брали смывы, после чего возвращали их к нормальному физиологическому состоянию, содержали в лабораторных садках, кормили 50%-ным сахарным сиропом, а затем возвращали в семью [3 – 7].

Для получения смывов с поверхностных покровов пробы, состоящие либо из 10 рабочих пчёл и трутней, либо одной матки, помещали в стерильные чашки Петри и заливали соответственно 10 мл или 1 мл 0,9%-ного раствора натрия хлорида. По 1 мл смывов высевали на кровяной агар (основа для колумбийского кровяного агара – M144 Himedia, плюс 5 % стерильной дефибринированной крови барана к общему объёму основы), а также на МПБ и среду XLD. Посевы инкубировали в термостате 24 – 48 ч при 37 °С. Выделенные культуры микробов идентифицировали общепринятыми методами. Учитывали рост колоний, их количество, размеры и свойства выросших микроорганизмов. Количество колониеобразующих единиц бактерий (KOE) подсчитывали и выражали в логарифмических KOE на миллилитр. Для окончательного подтверждения видовой принадлежности выделенные изоляты подвергали масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS).

Все работы с культурами вели в боксе микробиологической безопасности AirStream ESCO Class 2 BBC (США). Исследовали мазки и считали клетки с помощью микроскопа Zeiss Axio Vision (Германия), посевы инкубировали в сухо-воздушном термостате Sanyo incubator

MIR 262 (Япония). После чего все оборудование обработали 70%-ным этиловым спиртом, воздух в помещении продезинфицировали ультрафиолетовым бактерицидным передвижным облучателем-рециркулятором ОРУБп-3-5-«КРОНТ» (Дезар-7) (РФ) в течение 60 мин.

Результаты исследований и обсуждение. Доминирующие таксоны, обнаруженные на поверхности тела маток *A. mellifera*, принадлежали к семействам *Bacillaceae* (40 %), *Staphylococcaceae* (35 %), *Enterococcaceae* (15 %), *Enterobacteriaceae* (10 %) (табл. 1). В пробах с поверхности тела рабочих пчёл и трутней регистрировали *Staphylococcaceae*

Таблица 1
Бактериальная обсемененность поверхности тела маток медоносных пчёл

Порода матки	Результат посева на питательную среду	КОЕ/м, lg
Карпатская	<i>Bacillus cereus</i>	2,3
Карпатская	<i>E. coli</i>	1,9
	<i>Staphylococcus spp.</i>	2,0
Карпатская	<i>Bacillus cereus</i>	2,6
Карника	Нет роста	–
Карника	<i>Bacillus spp.</i>	3,0
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,2
Карника	Нет роста	–
Карника	<i>Proteus spp.</i>	5,0
Карника	<i>Bacillus cereus</i>	2,5
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,7
Карника	<i>Enterococcus faecalis</i>	2,4
	Нет роста	–
Карника	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,4
	<i>Bacillus spp.</i>	0,3
Карника	<i>Staphylococcus cohnii</i>	1,5
	<i>Bacillus spp.</i>	0,3
Карника	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,5
Карника	<i>Bacillus licheniformis</i>	3,0
	<i>Enterococcus faecalis</i>	2,1
Карника	<i>Staphylococcus warneri</i>	1,5
Карника	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2,8
	<i>Oceanobacillus caeni</i>	1,4

(33,3 %), *Enterococcaceae* (15,2 %), *Bacillaceae* (15,2 %), *Enterobacteriaceae* (15,2 %), *Hafniaceae* (12,1 %), *Morganellaceae* (6,0 %) и *Moraxellaceae* (3,0 %) (табл. 2).

Таблица 2
Бактериальная обсемененность поверхности тела рабочих пчёл и трутней

Порода пчёл	Результат посева на питательную среду	КОЕ/мл, lg
Карпатская	<i>Lisinibacillus fusiformis</i>	4,0
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5,0
	<i>Acinetobacter schindleri</i>	6,0
Карпатская	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	4,0
Карпатская	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6,0
	<i>Staphylococcus cohnii</i>	3,0
Карника	<i>Morganella morganii</i>	5,0
	<i>Proteus mirabilis</i>	7,0
Карника	<i>Enterococcus faecalis</i>	6,0
	<i>Proteus vulgaris</i>	8,0
Карника	<i>Morganella morganii</i>	5,0
Карника	<i>Paenibacillus larvae</i>	7,0
	<i>Oceanobacillus caeni</i>	5,0
Карника	<i>Bacillus licheniformis</i>	6,0
	<i>Hafnia alvei</i>	5,0
Карника	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6,0
	<i>Staphylococcus warneri</i>	4,0
	<i>Edwardsiella tarda</i>	5,0
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5,0
Карника	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6,0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5,0
Карника	<i>Staphylococcus warneri</i>	6,0
	<i>Enterococcus hirae</i>	4,0
Карника	<i>Proteus spp.</i>	8,0
Карника	<i>Hafnia alvei</i>	6,0
	<i>Enterococcus faecalis</i>	5,0
Карника	<i>Hafnia alvei</i>	7,0
	<i>Proteus mirabilis</i>	7,0
Карника	<i>Paenibacillus alvei</i>	6,0
	<i>Enterococcus faecalis</i>	5,0
	<i>Staphylococcus cohnii</i>	4,0
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6,0
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	7,0

Спектр микроорганизмов в составе микробиоты поверхности тела рабочих пчёл и трутней оказался более разнообразным, он включал 20 видов представителей 12 родов из 7 семейств. На матках состав микрофлоры был более скудным – 13 видов представителей 6 родов из 4 семейств. Меньшее разнообразие бактерий у маток медоносных пчёл можно объяснить тем, что они не посещают цветы растений и другие субстраты, а также не занимаются чисткой ульев и другими видами работ. Преобладающие виды бактерий и у рабочих пчёл, и у маток принадлежали к родам *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Proteus*, *Hafnia*, *Morganella*, *Escherichia* и *Edwardsiella*.

Представителей рода *Staphylococcus* обнаружили в шести пробах у пчёл и у маток в количестве от 0,5 до 6 lg КОЕ/мл. Бактерий рода *Enterococcus* также выделили из шести образцов, их было 2,1 – 6 lg КОЕ/мл.

Род *Bacillus* – обширная группа бактерий, их выявили в 11 образцах от 0,3 до 7 lg КОЕ/мл (рис. 1, 2). Представители данного рода тесно связаны с пчёлами, это можно рассматривать как наследственное родство, которое развивалось вместе с медоносными насекомыми, способствуя сохранению перги и иммунитета пчёл [11]. Виды *Bacillus* находили в пыльце, перге, желудке, кишечнике, мёде, цветочном нектаре, мусоре из ульев, на поверхности тела пчёл-кор-

милиц и фуражиров, они подавляли патогенные микроорганизмы, такие как *Paenibacillus* и *Ascosphaera apis* [14, 17].

Бактерии рода *Hafnia* выделили из двух образцов, их число составило 6 – 7 lg КОЕ/мл (рис. 3), наиболее патогенной из них является *Hafnia alvei* [5]. Она вызывает гафниоз пчёл (паратиф пчёл) – зарегистрированная самостоятельная болезнь. В последние годы значительно выросло число инфекционных заболеваний человека, связанных с этим условно-патогенным микроорганизмом. У людей *Hafnia alvei* может вызывать менингит, диарею, пневмонию, инфекции мочевыводящих путей и мягких тканей, гастроэнтериты и сепсис [14].

Род *Proteus* многие исследователи считают чрезвычайно патогенным для насекомых. В ходе нашей работы в трех образцах выделили два его представителя – *Proteus mirabilis* (рис. 4) и *Proteus vulgaris* в количестве 7 – 8 lg КОЕ/мл.

Morganella morganii из рода *Morganella* – представитель нормальной микробиоты кишечника человека и животных, но при определенных условиях она проявляет себя как условно-патогенный микроорганизм, способный провоцировать у человека различные патологии, такие как инфекции мочевыводящих путей, раневые инфекции, абсцесс, сепсис, иногда заканчивающиеся летальным исходом. Данный род бактерий вселяет особую эпидемиологическую тревогу из-за растущей устойчиво-



Рис. 1. *Bacillus cereus* на кровяном агаре



Рис. 2. *Bacillus licheniformis* на кровяном агаре



Рис. 3. *Hafnia alvei* на кровяном агаре



Рис. 4. *Proteus mirabilis* на кровяном агаре

сти к антибактериальным препаратам, особенно к бета-лактамам антибиотикам. Мы обнаружили в двух пробах, полученных от медоносных пчёл и трутней, представителей рода *Morganella* в количестве 5 lg КОЕ/мл.

E. coli из рода *Escherichia* выделили из одного образца от маток в количестве 1,9 lg КОЕ/мл. Это возбудитель колибактериоза – инфекционной болезни пчелиных семей, сопровождающейся гибелью взрослых особей. Чаще всего заболевание встречается в густонаселенных регионах, с большой концентрацией животных.

Вид *Edwardsiella tarda* из рода *Edwardsiella* нашли в одном образце от пчёл и трутней, 5 lg КОЕ/мл. Из трех видов этого рода только *E. tarda* ассоциируется с заболеваниями человека, ее рассматривают как возбудителя оппортунистических инфекций. Описаны случаи посттравматической раневой инфекции, септицемии, менингитов, инфекции мочевого тракта [19].

Заключение. Живые медоносные пчёлы на хитиновой поверхности в волосках сохраняют различные микроорганизмы и могут служить факторами их передачи, а также переносчиками штаммов возбудителей зооантропозных инфекций. На поверхности тела маток *A. mellifera* выделенные микроорганизмы принадлежали к семействам *Bacillaceae*, *Staphylococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, а в пробах с поверхности тела рабочих пчёл и трутней – к *Staphylococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae* и *Moraxellaceae*. Поэтому необходимо контролировать бактериальную обсемененность поверхности насекомых и своевременно профилактировать возникновение инфекционных болезней пчелиных семей.

Работа выполнена в рамках утвержденного Государственного задания и Плана НИР ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН на 2022–2024 гг. без привлечения дополнительных источников финансирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутко М.П., Герасимов А.С., Посконная Т.Ф., Смирнов А.М., Ключко Р.Т., Попов П.А. Требования по обеспечению безопасности и ветеринарно-санитарная экспертиза мёда пчелиного. М., 2019.
2. Егорова А.И. Методика исследования микрофлоры пчелиной семьи. Сборник «Системы ведения пчеловодства в различных природно-климатических зонах». М.: Колос, 1968.
3. Еськов Е.К. Температура максимального переохлаждения у медоносных пчёл ее филогенетическая специфичность. Известия АН СССР. Серия биологическая. 1984; 4.
4. Еськов Е.К. Холодовое оцепенение и холодостойкость пчёл. Пчеловодство. 2020; 7:18 – 21.
5. Идиатуллина Г.А., Габидуллин Ю.З., Габидуллин З.Г. и др. Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Hafnia alvei*. 2019.
6. Исаев Ю.Г., Сотников А.Н., Гулюкин М.И., Степанова Т.В. Современные подходы в диагностике и борьбе с варроатозом пчёл. Российская сельскохозяйственная наука. 2021; 1:59 – 62.
7. Исаев Ю.Г. Варроатоз пчёл и возможность оздоровления пасеки. Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2020; 4:507 – 510. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202004015
8. Смирнов А.М. Ветеринарная наука на службе защиты здоровья животных и человека. М., 2018.
9. Сохликов А.Б., Смирнов А.М., Луганский С.Н. и др. Мероприятия по охране пасек от заноса возбудителей опасных болезней пчёл. Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2022; 3(43):293 – 298.
10. Черепов В.Т. Бактериальная флора пчелиной семьи в норме и при заболевании европейским гнильцом. Дис. ... канд. вет. наук. Витебск, 1968.
11. Чечёткина У.Е., Евтеева Н.И., Речкин А.И. Сравнение пейзажа энтеробактерий медоносных пчёл *Apis Mellifera Mellifera* L. в период зимовки и активного медосбора. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2010; 2(2):475 – 478.
12. Шишканов Д.В. Влияние акарицидов, применяемых при варроатозе пчёл, на биологию и этологию пчелиных маток. Автореф. ... канд. биол. наук, М., 2008.
13. Ganeshprasad D.N., Lone J.K., Jani K., Shouche Y.S. et al. Gut Bacterial Flora of Open Nested Honeybee, *Apis florea*. Front. Ecol. Evol. 2022; 10:837381. DOI:10.3389/fevo.2022.837381

14. Oliveira Scoaris D., Hughes F.M., Silveira M.A., Evans J.D., Pettis J.S. et al. Microbial communities associated with honey bees in Brazil and in the United States. *Braz.J.Microbiol.* 2021;52(4):2097 – 2115. DOI:10.1007/s42770-021-00539-7. Epub 2021 Jul 15. PMID: 34264502; PMCID: PMC8578358

15. Sacca M.L., Manici L.M. Honey bee-associated bacteria as producers of bioactive compounds for protecting hives. A biosynthetic gene-based approach. *Microbiol. Res.* 2021; 252:126860. DOI:10.1016/j.micres.2021.126860. Epub 2021 Sep 9. PMID: 34521052

16. Smutin D., Lebedev E., Selitskiy M. Panyushev N., Adonin L. Micro"bee"ota: Honey Bee Normal Microbiota as a Part of Superorganism. *Microorganisms.* 2022; 10(12):2359. DOI:10.3390/microorganisms10122359. PMID: 36557612; PMCID: PMC9785237

17. Subotic S., Boddicker A.M., Nguyen V.M., Rivers J., Briles C.E. et al. Honey bee microbiome associated with different hive and sample types over a honey production season. *PLOS ONE.* 2019; 14(11):e0223834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223834>

18. Sotnikov A.N., Gulyukin M.I., Gulyukin A.M., Isaev Y.G., Shabeykin A.A. Epizootic process in quarantine bee diseases. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Conference proceedings.* Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. 2020; 82029.

19. https://dommedika.com/medicinskaia_mikrobiologia/rod_evardsiell.html?ysclid=lteb6k0mm2309879959 Dommedika

УДК 619:616.9:579.246:575.22

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS* И *BACILLUS CEREUS* ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ ИЗ ПОЧВЫ СИБИРЕЗВЕННОГО СКОТОМОГИЛЬНИКА

Нина Андреевна Шишкова, к.б.н., ведущий научный сотрудник

Юлия Олеговна Гончарова, к.б.н., научный сотрудник

Леонид Иванович Маринин, к.м.н., ведущий научный сотрудник

Евгений Александрович Тюрин, к.м.н., ведущий научный сотрудник

Александр Николаевич Мокриевич, д.м.н., главный научный сотрудник

Иван Алексеевич Дятлов, д.м.н., профессор, академик РАН

*ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора (п. Оболенск, Россия), info@obolensk.org*

Представлены результаты исследований по дифференциации штаммов *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus*, выделенных из почвы сибирезвонных скотомогильников. В старых скотомогильниках обнаружили несколько типов микробных культур, некоторые из них имели типичные свойства *B. anthracis*, другие отличались по ряду признаков. Авторами показана принципиальная возможность использования для дифференциации сибирезвонных культур от близкородственных микроорганизмов комплексной методики, включающей оценку биологических и молекулярно-генетических свойств выделенных микроорганизмов. **Ключевые слова:** сибирская язва, *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*), спора, почва, скотомогильник, дифференциация, генотипирование.

Differentiation of strains of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* during isolation of anthrax cattle burial ground from the soil

N.A. Shishkova, PhD in Biology, Leading researcher

Yu.O. Goncharova, PhD in Biology, Researcher

L.I. Marinin, PhD in Medicine Science, Leading researcher

E.A. Tyurin, PhD in Medicine Science, Leading researcher

A.N. Mokrievich, PhD in Medicine Science, Chief researcher

I.A. Dyatlov, PhD in Medicine Science, Professor, Academician RAS

State Research Center for Microbiology and Biotechnology (Obolensk, Russia), info@obolensk.org

The paper presents the results of work for differentiation of strains of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* during the isolation of anthrax cattle burial grounds from the soil. From the soil of the old cattle burial ground, we have identified three types of microbial cultures. Some of them had properties typical of *B. anthracis*, others differed in a number of characteristics. The fundamental possibility of using a complex technique for differentiating anthrax cultures from closely related microorganisms, including the assessment of the biological and molecular genetic properties of the isolated cultures, was shown. **Key words:** anthrax, *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*), soil, spore, cattle burial ground, differentiation, genotyping.

DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.28-35

14. Oliveira Scoaris D., Hughes F.M., Silveira M.A., Evans J.D., Pettis J.S. et al. Microbial communities associated with honey bees in Brazil and in the United States. *Braz.J.Microbiol.*2021;52(4):2097 – 2115. DOI:10.1007/s42770-021-00539-7. Epub 2021 Jul 15. PMID: 34264502; PMCID: PMC8578358

15. Saccà M.L., Manicì L.M. Honey bee-associated bacteria as producers of bioactive compounds for protecting hives. A biosynthetic gene-based approach. *Microbiol. Res.* 2021; 252:126860. DOI:10.1016/j.micres.2021.126860. Epub 2021 Sep 9. PMID: 34521052

16. Smutin D., Lebedev E., Selitskiy M. Panyushev N., Adonin L. Micro"bee"ota: Honey Bee Normal Microbiota as a Part of Superorganism. *Microorganisms.* 2022; 10(12):2359. DOI:10.3390/microorganisms10122359. PMID: 36557612; PMCID: PMC9785237

17. Subotic S., Boddicker A.M., Nguyen V.M., Rivers J., Briles C.E. et al. Honey bee microbiome associated with different hive and sample types over a honey production season. *PLOS ONE.* 2019; 14(11):e0223834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223834>

18. Sotnikov A.N., Gulyukin M.I., Gulyukin A.M., Isaev Y.G., Shabeykin A.A. Epizootic process in quarantine bee diseases. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Conference proceedings. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations, 2020; 82029.

19. https://dommedika.com/medicinskaia_mikrobiologia/rod_evardsiell.html?ysclid=Iteb6k-0mm2309879959 Dommedika

УДК 619:616.9:579.246:575.22

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШТАММОВ BACILLUS ANTHRACIS И BACILLUS CEREUS ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ ИЗ ПОЧВЫ СИБИРЕЯЗВЕННОГО СКОТОМОГИЛЬНИКА

Нина Андреевна Шишкова, к.б.н., ведущий научный сотрудник

Юлия Олеговна Гончарова, к.б.н., научный сотрудник

Леонид Иванович Маринин, к.м.н., ведущий научный сотрудник

Евгений Александрович Тюрин, к.м.н., ведущий научный сотрудник

Александр Николаевич Мокриевич, д.м.н., главный научный сотрудник

Иван Алексеевич Дятлов, д.м.н., профессор, академик РАН

*ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора (п. Оболensk, Россия), info@obolensk.org*

Представлены результаты исследований по дифференциации штаммов *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus*, выделенных из почвы сибиреязвенных скотомогильников. В старых скотомогильниках обнаружили несколько типов микробных культур, некоторые из них имели типичные свойства *B. anthracis*, другие отличались по ряду признаков. Авторами показана принципиальная возможность использования для дифференциации сибиреязвенных культур от близкородственных микроорганизмов комплексной методики, включающей оценку биологических и молекулярно-генетических свойств выделенных микроорганизмов. **Ключевые слова:** сибирская язва, *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*), спора, почва, скотомогильник, дифференциация, генотипирование.

Differentiation of strains of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* during isolation of anthrax cattle burial ground from the soil

N.A. Shishkova, PhD in Biology, Leading researcher

Yu.O. Goncharova, PhD in Biology, Researcher

L.I. Marinin, PhD in Medicine Science, Leading researcher

E.A. Tyurin, PhD in Medicine Science, Leading researcher

A.N. Mokrievich, PhD in Medicine Science, Chief researcher

I.A. Dyatlov, PhD in Medicine Science, Professor, Academician RAS

State Research Center for Microbiology and Biotechnology (Obolensk, Russia), info@obolensk.org

The paper presents the results of work for differentiation of strains of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* during the isolation of anthrax cattle burial grounds from the soil. From the soil of the old cattle burial ground, we have identified three types of microbial cultures. Some of them had properties typical of *B. anthracis*, others differed in a number of characteristics. The fundamental possibility of using a complex technique for differentiating anthrax cultures from closely related microorganisms, including the assessment of the biological and molecular genetic properties of the isolated cultures, was shown. **Key words:** anthrax, *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*), soil, spore, cattle burial ground, differentiation, genotyping.

DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.28-35

Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis* в соответствии с таксономическим определением относится к семейству спорообразующих микроорганизмов *Bacillaceae*, роду *Bacillus*. В роду *Bacillus*, насчитывающем 263 вида, выделяют группу *Bacillus cereus* или *Bacillus cereus sensu lato* (в широком смысле), которая в настоящее время объединяет *B. anthracis* и близкородственные бациллы. По мнению некоторых ученых, все виды бацилл, входящие в группу *B. cereus s.l.*, по существу представляют один вид в связи с незначительными фенотипическими и генетическими отличиями [18]. Микроорганизмы группы *B. cereus s.l.* являются сапрофитами, за исключением возбудителя сибирской язвы *B. anthracis* и бактерии *B. cereus*, относящихся соответственно ко II и IV группе патогенности. *B. cereus* способна при определенных условиях вызывать у человека и животных широкий спектр заболеваний, включающих пищевые токсикоинфекции, системные и местные гнойные инфекции [2, 10, 15].

Биологические свойства *B. anthracis* и *B. cereus* достаточно хорошо изучены и описаны в литературе [2, 4, 5, 19]. Морфологически бактерии *B. cereus* очень похожи на *B. anthracis* [2, 3] и имеют признаки, сходные с рядом других видов рода *Bacillus*: *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides* и *B. thuringiensis* [7 – 9]. Некоторые авторы даже считали, что *B. anthracis* является патогенной разновидностью *B. cereus* [18].

В связи с этим при выделении микробных культур из проб внешней среды, в том числе из проб почвы сибиреязвенного скотомогильника, необходимо дифференцировать *B. anthracis* и *B. cereus*. С учетом биологических и биохимических признаков составлены дифференциальные таблицы и схемы представителей группы *B. cereus s.l.* [2 – 4, 19].

Цель работы – дифференциация штаммов *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus*, выделенных из почвы сибиреязвенных скотомогильников.

В последние годы для дифференцирования видов *B. cereus* и *B. anthracis* применяют методы типирования, основанные на различиях в нуклеотидных последовательностях геномов штаммов. К ним относятся плазмидное типирование, риботипирование, хромосомный рестрикционный анализ ДНК, импульсно-полевой гель-электрофорез (позволяет разделять очень большие фрагменты ДНК с помощью PFGE) [12], а также методы генотипирования: случайная амплификация полиморфной ДНК (RAPD – randomly amplified polymorphic DNA) [11], метод полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP – amplified fragment length polymorphism) [14]. Одним из самых точных методов генотипирования и дифференциации бактерий рода *Bacillus* является мультилокусное сиквенс-типирование (MLST – Multilocus Sequence Typing), основанное на полиморфизме последовательностей локусов генов домашнего хозяйства и позволяющее определить сиквенс-тип штамма [13, 19].

С необходимостью дифференцировать *B. cereus* и *B. anthracis* мы столкнулись при исследованиях почвы, отобранной на территории сибиреязвенных скотомогильников. При изучении 80 проб, взятых на месте старого, существующего более 75 лет скотомогильника на берегу Иваньковского водохранилища в Конаковском районе Тверской области, на основании комплекса признаков было отобрано шесть штаммов [5]. Их свойства оценивали по существующим методикам [4, 6] – рост на агаровой среде по Лурия-Бертани (LB-агар), на LB-бульоне, способность продуцировать капсулу на бикарбо-

натно-сывороточной среде по Green, лизабельность специфическими сибиреязвенными бактериофагами Гамма А-26 и Оболенск R1, чувствительность к пенициллину, наличие гемолитической активности и реакцию преципитации с сибиреязвенным гамма-глобулином (табл. 1).

На агаровой среде по Луриа-Бертани (LB-агар) выросли шероховатые колонии, типичные по морфологии для сибиреязвенного микроба. Однако, по характеру роста в LB-бульоне выделенные штаммы можно было разделить на три типа культур.

Два штамма (П-1М и П-4о) обладали всеми типичными для возбудителя сибирской язвы свойствами – характерный рост на агаровой питательной среде и в бульоне, лизабельность фагами Гамма А-26 и КВИЭВ, чувствительность к пенициллину (по тесту «жемчужного ожерелья»), образование зоны преципитации на агаре с сибиреязвенным гамма-глобулином. Отсутствие капсулообразования на среде Green, вероятно, связано с их частичной аттенуацией в

процессе длительного нахождения в почве. Три других штамма (П-4ш, П-4с и П-14), несмотря на типичный рост на агаровой среде, не лизировались фагами и были устойчивы к пенициллину. Штамм П-4 по характеру роста в жидкой питательной среде, гемолизу эритроцитов и слабой реакции на пенициллин отличался от *B. anthracis*, но при этом был чувствителен к бактериофагам, то есть проявил свойства атипичного штамма сибиреязвенного микроба.

Для молекулярно-генетического исследования из образцов выделили ДНК и провели ПЦР-анализ, используя праймеры, специфичные для нескольких локусов генома сибиреязвенного микроба, разработанные V. Ramisse et. al. [20]. Праймеры специфичны для локусов *pag*, *lef* и *суа*, расположенных на плазмиде рХО1, локуса *сар*, находящегося в опероне, который отвечает за синтез капсулы и расположен на плазмиде рХО2, а также хромосомного маркера *Ba 813*. В качестве контрольных использовали ДНК штаммов *B. anthracis* с различными гено- и фенотипами (81/1; 71/12; СТИ-1;

Таблица 1

Биологические свойства выделенных из почвы штаммов

Штамм	Свойства штаммов					
	Проба с фагами	Зона ингибирования на среде с пенициллином, мм	Гемолиз на кровяном агаре	Проба с сибиреязвенным глобулином	Морфология колоний на среде Green	Рост в LB-бульоне
П-1М	+	22	–	+	Шероховатые	Типичный
П-4о	+	10	–	+	Шероховатые	Типичный
П-4	+	3	+	±	Шероховатые	Осадок, бульон мутный
П-4ш	–	0	+	–	Шероховатые	Осадок, бульон мутный
П-4с	–	0	+	–	Шероховатые	Осадок, бульон мутный
П-14	–	0	+	–	Шероховатые	Осадок, бульон прозрачный

СТИ-Rif4; 1; 10; 32; 193; Daccar) и восемь штаммов близкородственных видов *Bacillus* (табл. 2).

Только два из шести выделенных штаммов оказались «полноценными» *B. anthracis* в генетическом отношении – это П-1М и П-4о. При ПЦР-анализе выявлены все пять видоспецифических локусов *pag*, *lef*, *суа*, *сар*, *Ва 813*, что согласуется с биологическими характеристиками изолированных штаммов, приведенными выше. Штаммы П-4с, П-4ш и П-14

несли только один хромосомный маркер *Ва 813*, который обнаружили и у *B. cereus*, что позволяет с уверенностью считать их близкородственными штаммами.

Штамм П-4 из-за отсутствия положительного сигнала на локусы *суа* и *сар* можно отнести к атипичному бескапсульному варианту *B. anthracis*, сходному с атипичными штаммами *B. anthracis* 10, 32, 193 и Daccar, также лишенными гена отечного фактора. Атипичные штаммы очень ценны для фундамен-

Детекция специфичных для сибиреязвенного микроба локусов в геномах исследуемых штаммов

Таблица 2

Штамм	Детектируемый локус и размер ПЦР-продукта				
	<i>lef</i> , 385 п.н.	<i>суа</i> , 546 п.н.	<i>pag A</i> , 747 п.н.	<i>Ва 813</i> , 152 п.н.	<i>сар</i> , 264 п.н.
П-1М	+	+	+	+	+
П-4о	+	+	+	+	+
П-4	+	–	+	+	–
П-4ш	–	–	–	+	–
П-4с	–	–	–	+	–
П-14	–	–	–	+	–
<i>B. anthracis</i> 81/1	+	+	+	+	+
<i>B. anthracis</i> 71/12	+	+	+	+	+
<i>B. anthracis</i> СТИ-1	+	+	+	+	–
<i>B. anthracis</i> СТИ-Rif 4	–	–	–	+	–
<i>B. anthracis</i> 10-атипичный	+	–	+	+	–
<i>B. anthracis</i> 32-атипичный	+	–	+	+	–
<i>B. anthracis</i> 193-атипичный	+	–	+	+	–
<i>B. anthracis</i> Daccar	+	–	+	+	–
<i>B. cereus</i> 504	–	–	–	+	–
<i>B. cereus</i> 217	–	–	–	+	–
<i>B. cereus</i> 164	–	–	–	–	–
<i>B. subtilis</i> 168	–	–	–	–	–
<i>B. thuringiensis</i>	–	–	–	–	–
<i>B. polymixa</i>	–	–	–	–	–
<i>B. megaterium</i>	–	–	–	–	–

Примечание. П.н. – пар нуклеотидов.

СТИ-Rif4; 1; 10; 32; 193; Daccar) и восемь штаммов близкородственных видов ба-цилл (табл. 2).

Только два из шести выделенных штаммов оказались «полноценными» *B. anthracis* в генетическом отношении – это П-1М и П-4о. При ПЦР-анализе выявлены все пять видоспецифических локусов *pag*, *lef*, *суа*, *сар*, *Ва 813*, что согласуется с биологическими характеристиками изолированных штаммов, приведенными выше. Штаммы П-4с, П-4ш и П-14

несли только один хромосомный маркер *Ва 813*, который обнаружили и у *B. cereus*, что позволяет с уверенностью считать их близкородственными штаммами.

Штамм П-4 из-за отсутствия положительного сигнала на локусы *суа* и *сар* можно отнести к атипичному бескапсульному варианту *B. anthracis*, сходному с атипичными штаммами *B. anthracis* 10, 32, 193 и Daccar, также лишенными гена отечного фактора. Атипичные штаммы очень ценны для фундамен-

Детекция специфичных для сибиреязвенного микроба локусов в геномах исследуемых штаммов

Таблица 2

Штамм	Детектируемый локус и размер ПЦР-продукта				
	<i>lef</i> , 385 п.н.	<i>суа</i> , 546 п.н.	<i>pag A</i> , 747 п.н.	<i>Ва 813</i> , 152 п.н.	<i>сар</i> , 264 п.н.
П-1М	+	+	+	+	+
П-4о	+	+	+	+	+
П-4	+	–	+	+	–
П-4ш	–	–	–	+	–
П-4с	–	–	–	+	–
П-14	–	–	–	+	–
<i>B. anthracis</i> 81/1	+	+	+	+	+
<i>B. anthracis</i> 71/12	+	+	+	+	+
<i>B. anthracis</i> СТИ-1	+	+	+	+	–
<i>B. anthracis</i> СТИ-Rif 4	–	–	–	+	–
<i>B. anthracis</i> 10-атипичный	+	–	+	+	–
<i>B. anthracis</i> 32-атипичный	+	–	+	+	–
<i>B. anthracis</i> 193-атипичный	+	–	+	+	–
<i>B. anthracis</i> Daccar	+	–	+	+	–
<i>B. cereus</i> 504	–	–	–	+	–
<i>B. cereus</i> 217	–	–	–	+	–
<i>B. cereus</i> 164	–	–	–	–	–
<i>B. subtilis</i> 168	–	–	–	–	–
<i>B. thuringiensis</i>	–	–	–	–	–
<i>B. polymixa</i>	–	–	–	–	–
<i>B. megaterium</i>	–	–	–	–	–

Примечание. П.н. – пар нуклеотидов.

тальных исследований возбудителя сибирской язвы и требуют более глубокого изучения, в том числе на уровне генома. Фенотипически они могут представлять промежуточную форму между видами *B. anthracis* и *B. cereus*. Кроме того, штаммы *B. cereus* способны вызывать заболевания, близкие по симптомам с сибирской язвой [1, 10, 15, 23].

Для генотипирования исследуемых в данной работе почвенных штаммов применили метод MLVA-типирования с использованием шести хромосомных VrrA, VrrB1, VrrB2, VrrC1, VrrC2, Cg3 и двух плазмидных VNTR-локусов PXO1(aat) и PXO2(at) [17]. Контролем служили несколько сибиреязвенных штаммов и штамм *B. cereus* 504 из коллекции «ГКПМ-Оболensk» (табл. 3).

Видно, что выделенные из почвы штаммы П-1М и П-4о с типичными для

B. anthracis фенотипическими и генетическими признаками укладываются также в схему MLVA-типирования, разработанную для *B. anthracis*. Полученные величины фрагментов по восьми локусам позволяют отнести штаммы П-1М и П-4о к подгруппе *B. anthracis* А3. Следовательно, из почвы старого скотомогильника нами выделены два типичных эпидемически значимых штамма *B. anthracis*, несущих генетические элементы, кодирующие синтез компонентов токсина и капсулы.

Штамм П-4, отличающийся по ряду фенотипических признаков от *B. anthracis*, имеет шесть из восьми совпадающих с известными величинами VNTR-локусов, а локус VrrC1 не амплифицируется. Исходя из данных ПЦР- и MLVA-анализа, штамм П-4 оказалось невозможным отнести к какой-либо MLVA-подгруппе. Следовательно, нами изолирован ра-

Таблица 3

Величины фрагментов VNTR-локусов штаммов, выделенных из сибиреязвенного скотомогильника

Штамм	Величины фрагментов, п.н.							
	VrrA	VrrB1	VrrB2	VrrC1	VrrC2	Cg3	PXO1	PXO2
П-1М	313	228	164	613	532	153	133	135
П-4о	315	228	161	611	533	153	130	136
П-4	313	229	161	–	533	154	133	–
П-4ш	278	264	–	–	336	–	–	–
П-4с	285	264	163	–	312	–	–	–
П-14	294	265	164	–	324	–	–	–
<i>B. anthracis</i> 81/1	313	230	161	609	600	152	135	136
<i>B. anthracis</i> 1	324	230	162	617	601	153	136	137
<i>B. anthracis</i> 71/12	315	230	161	611	527	153	135	136
<i>B. anthracis</i> СТИ-1	316	229	162	613	602	153	133	136
<i>B. anthracis</i> Daccar	298	229	161	496	472	156	134	144
<i>B. anthracis</i> 10	315	230	160	613	599	156	136	136
<i>B. anthracis</i> 32	312	230	161	–	528	155	133	136
<i>B. anthracis</i> 193	310	229	163	673	585	–	–	136
<i>B. cereus</i> 504	282	266	164	–	308	–	130	–

Примечание. П.н. – пар нуклеотидов, «–» – локус не амплифицируется.

нее не описанный атипичный штамм *B. anthracis*, не представляющий эпидемической опасности, но требующий дальнейшего детального изучения.

Для остальных штаммов (П-4ш, П-4с и П-14) по величинам *Vrr*-локусов получена картина, сходная с таковой для штамма *B. cereus* 504. Совпадение данных по локусам *VrrB2* и *rXO1* у некоторых штаммов *B. anthracis* и *B. cereus* значительно затрудняет однозначную дифференциацию этих видов. Тем не менее, поскольку по всем остальным локусам есть значительные отличия от *B. anthracis*, штаммы П-4ш, П-4с и П-14 с большой степенью вероятности можно отнести к *B. cereus*. Это еще одно свидетельство сложности процесса дифференциации бациллярных штаммов.

Для уточнения полученных данных провели секвенирование *rXO1*-фрагмента штамма *B. cereus* 504. Результаты сиквенса полностью укладываются в классификацию, предложенную Р. Keim для *B. anthracis* [17]. Это может быть связано с очень высокой степенью гомологии генома, что отражает недавнюю эволюцию *B. anthracis* от родительской субгруппы *B. cereus*. Так, некоторые изоляты *B. cereus* содержат последовательности, сходные более чем с половиной таковых открытых рамок считывания плазмиды *rXO1* *B. anthracis*, причем основная часть ДНК-фрагментов *B. cereus* имеет сходство 80 – 98 %.

Таким образом, микробиологический анализ показал присутствие в почве обследованного скотомогильника трех культур *B. anthracis* (П-1М, П-4, П-4с), обладающих всеми типичными для возбудителя сибирской язвы характеристиками. Эти данные подтверждены результатами ПЦР с пятью парами праймеров, разработанных для ПЦР-детекции сибиреязвенного микроба. При этом штамм П-4 оказался лишен локусов *cap*

и *суа*, что свидетельствует о вероятном отсутствии капсулы и дефекте токсина из-за отсутствия отечного фактора. Отсутствие капсулы при культивировании на среде Green, вероятно, связано с частичной аттенуацией за время нахождения в почве.

Три другие штамма (П-4ш, П-4с и П-14) не лизировались фагами и были устойчивы к пенициллину. Их сразу отобрали по морфологии колоний и характеру роста в бульоне. Постановка ПЦР с ДНК этих штаммов показала, что у них отсутствуют все ПЦР-фрагменты, кроме хромосомного маркера *Ba 813*. Дополнительные исследования с использованием мультилокусного MLVA-анализа позволило отнести штаммы П-1М и П-4с к подгруппе *B. anthracis* А3, выявить ранее не охарактеризованный атипичный штамм *B. anthracis* П-4, и причислить П-4ш, П-4с и П-14с с нетипичными для сибиреязвенного микроба свойствами к виду *B. cereus*.

Из скотомогильника в окрестностях села Большое Мокрое Кстовского района Нижегородской области отобрали 100 проб почвы, из которых выделили девять подозрительных культур [5], свойства которых изучили с помощью биологических и генотипических методов. В мазках из 24 – 48-часовых агаровых культур этих колоний вегетативные клетки имели форму грамположительных палочек, расположенных длинными и короткими цепочками из 2 – 3 члеников. Одновременно в мазках, приготовленных через 48 часов культивирования, присутствовало значительное количество круглых спор, находящихся как отдельно, так и внутри бактериальной клетки. В мазках-отпечатках от биопробных животных также обнаружили крупные грамположительные бескапсульные неподвижные палочки по 2 – 3 в цепочках. При выращивании в МПБ

наблюдали придонный рост культуры, легко разбивающийся и вызывающий помутнение среды.

Через 24 часа на дифференциально-диагностической питательной среде вырастали крупные (диаметром до 5 мм) колонии с неровными краями и слегка вдавленной серединой с пуговкой, которые в присутствии раствора аммиака приобретали малиновую окраску разной интенсивности. Это указывает на наличие у них фосфатазной активности.

На агаре Хоттингера с 0,4 % лецитина вокруг выросших колоний через 24 – 48 часов регистрировали широкую беловатую прозрачную зону, что свидетельствует о незначительной лецитиназной активности. На LB-агаре с 5 % крови через 24 часа отмечали обширную зону гемолиза. В посевах на бикарбонатно-сывороточном агаре с инкубированием в атмосфере CO₂ через 24 – 48 часов выросли шероховатые серые сухие колонии R-формы. В мазках из них выявлены только бескапсульные палочки.

Для определения чувствительности к сибиреязвенным бактериофагам использовали фаг-тест-набор «Оболенск R1» и бактериофаги диагностические сибиреязвенные Гамма А-26 и Fah ВНИИВВиМ. Семь культур дали положительный результат – наблюдали лизис разной степени выраженности. Фаг Гамма А-26 образовывал, как правило, стерильное пятно или дорожку, а фаг Оболенск R1 вызывал легкое помутнение и иногда вторичный рост в зоне лизиса.

Все подозрительные культуры при проверке чувствительности к пенициллину диско-диффузионным методом дали отрицательный тест «жемчужного ожерелья» – у них отсутствовала зона задержки роста или была не более 3 мм, тогда как у контрольного штамма *B. anthracis* 71/12 она составила 28 мм.

Антигенные особенности изучаемых культур исследовали в реакциях Асколи и РДП с преципитирующей сибиреязвенной сывороткой. В семи из девяти случаях наблюдали положительную реакцию Асколи и выраженную полосу преципитации.

Патогенность тестируемых культур определяли на нелинейных белых мышах, их заражали в дозе 1×10⁶ клеток. Среди подопытных животных падежа не было, отклонений от нормального состояния не выявили, отеков в месте введения не наблюдали.

ПЦР тест-системой «ГенСиб» и разработанными во ФБУН ГНЦ ПМБ праймерами для выявления капсульной плазмиды и компонентов сибиреязвенного токсина (протективный антиген, летальный и отечный факторы) не выявили ДНК *B. anthracis* в культурах, полученных от биопробных животных и из подозрительных колоний. Не обнаружено также фрагментов ДНК, соответствующих генам, кодирующим токсин и синтез капсулы сибиреязвенного микроба. Таким образом, выделенные культуры нельзя отнести к возбудителю сибирской язвы.

Итак, в пробах образцов почвы из скотомогильника в окрестностях села Большое Мокрое Кстовского района Нижегородской области возбудитель сибирской язвы не обнаружили, но выделили девять подозрительных культур со следующими свойствами: лизируются тремя сибиреязвенными бактериофагами; не продуцируют капсулы на сывороточно-бикарбонатном агаре; дают отрицательный тест «жемчужного ожерелья»; отсутствует зона подавления роста вокруг диска с пенициллином; обладают слабой фосфатазной и лецитиназной активностью; показывают положительные реакции Асколи и РДП; не патогенны для белых мышей. Так, впер-

вые выделены культуры, чувствительные к сибиреязвенным бактериофагам, но по остальным показателям их нельзя отнести к возбудителю сибирской язвы. Возможно, они занимают промежуточное место между *B. anthracis* и *B. cereus*.

Заключение. Проведенная работа показала, что для точного подтверждения наличия возбудителя сибирской язвы и дифференциации культур *B. anthracis* и *B. cereus* необходимы комплексные исследования – микробиологические, иммунобиологические и молекулярно-генетические. Для повышения эффективности типирования бацилл предлагают различные комбинации методов в зависимости от поставленных задач, но вследствие высокой генетической мономорфности сибиреязвенного микроба считаем, что MLVA-тест может оказаться наиболее приемлемым для типирования данного вида.

ЛИТЕРАТУРА

- Ахундова К.А. Значение *B. cereus* в патологии человека. Журн. микробиол. 1967; 10:129 – 132.
- Васильев Д.А., Калдыркаев А.И., Феоктистова Н.А., Алешкин А.В. Идентификация бактерий *Bacillus cereus* на основе их фенотипической характеристики. Ульяновск: НИИЦМ и БуЛГСХА им. П.А. Столыпина, 2013; 89 с.
- Груз Е.В. Изучение и рационализация некоторых лабораторных методов индикации и идентификации *Bac. anthracis*. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Одесса, 1965; 19 с.
- Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы: МУК 4.2.2413 – 08. Введ. 2008-09-01. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009; 67 с.
- Маринин Л.И., Дятлов И.А., Шишкова Н.А., Фирстова В.В. Сибирская язва вчера и сегодня. М.: Издательство «Династия», 2021; 648 с.
- Маринин Л.И., Дятлов И.А. Методы изучения биологических свойств возбудителя сибирской язвы: учебно-методическое пособие. ФГУН Научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. М.: Гигиена. 2009; 304 с.
- Полховский В.А. Нуклеотидный состав ДНК аэробных спорообразующих бактерий. Вопросы инфекционной и неинфекционной патологии. Ташкент, 1975; 183 – 185.
- Феоктистова Н.А., Васильев Д.А., Мاستиленко А.В. Подбор специфических праймеров на основе гена 16S рРНК для бактерий группы *Bacillus cereus*. Вестник Ульяновской ГСХА им. П.А. Столыпина. 2018; 3:97 – 201.
- Bavykin S.G., Lysov Y.P., Zakhariev V. et al. Use of 16S rRNA, 23S rRNA, and gyrB gene sequence analysis to determine phylogenetic relationships of *Bacillus cereus* group microorganisms. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(8):3711 – 3730.
- Bottone E.J., Hood J.S. et al. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. Clin. Microbiol. Rev. 2010; 23:382 – 398.
- Daffonchio D., Borin S., Frova G. et al. A randomly amplified polymorphic DNA marker specific for the *Bacillus cereus* group is diagnostic for *Bacillus anthracis*. Appl. Environ. Microbiol. 1999; 65(3):1298 – 1303. DOI:10.1128/AEM.65.3.1298-1303.1999. PMID: 10049896; PMCID: PMC91177.
- Drean P., Fox E.M. Pulsed-field gel electrophoresis of *Bacillus cereus* group strains. Methods Mol. Biol. 2015; 1301:71 – 83. DOI:10.1007/978-1-4939-2599-5_7. PMID: 25862049.
- Helgason E., Tourasse N.J., Meisal R. et al. Multilocus sequence typing scheme for bacteria of the *Bacillus cereus* group. Appl. Environ. Microbiol. 2004; 70 (1):191 – 201. DOI:10.1128/AEM.70.1.191-201.2004. PMID: 14711642; PMCID: PMC321270.
- Hill K.K., Ticknor L.O., Okinaka R.T. et al. Fluorescent amplified fragment length polymorphism analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates. Appl. Environ. Microbiol. 2004; 70(2):1068 – 1080. DOI:10.1128/AEM.70.2.1068-1080.2004. PMID: 14766590; PMCID: PMC348840.
- Hoffmaster A.R., Rave I.J., Rasko D.A. et al. Identification of anthrax toxin genes in a *B. cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax. Microbiology. 2004; 101:8449 – 8454.
- Keim P., Kalif A., Schupp J. et al. Molecular evolution and diversity in *Bacillus anthracis* as detected by amplified fragment length polymorphism markers. J. Bacteriol. 1997; 179:818 – 824.
- Keim P., Price L.B., Klevytska A.M. et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. J. Bacteriol. 2000; 182:2928 – 2936.
- Okinaka R.T., Keim P. The phylogeny of *Bacillus cereus sensu lato*. Microbiol. Spectr. 2016; 4(1). TBS-0012-2012.
- Priest F.G., Barker M., Baillie L.W.J. et al. Population structure and evolution of the *B. cereus* group. J. Bact. 2004; 186:7959 – 7990.
- Ramisse V., Patra G., Garrigue H. et al. Identification and characterization of *Bacillus anthracis* by multiplex PCR analysis of sequences on plasmids pXO1 and pXO2 and chromosomal DNA. FEMS Microbiol. Lett. 1996; 145:9 – 16.
- Rasko D.A., Altherr M.R., Han C.S., Ravel J. Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. FEMS Microbiol. Rev. 2005; 29:303 – 329.
- Ripabelli G., Mc Lauchlin J., Mithani V., Threlfall E.J. Epidemiological typing of *Bacillus cereus* by amplified fragment length polymorphism. Lett. Appl. Microbiol. 2000; 30(5):358 – 363. DOI:10.1046/j.1472-765x.2000.00729.x. PMID: 10792663.
- Turnbull P.C., Jorgensen R., Kramer J.M. et al. Severe clinical conditions associated with *B. cereus* and the apparent involvement of exotoxins. J. Clin. Pathol. 1979; 32:289 – 293.

ВЕРНОЕ СРЕДСТВО БОРЬБЫ С ДВУКРЫЛЫМИ НАСЕКОМЫМИ У МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Кира Вадимовна Солодкова, старший научный сотрудник
Людмила Михайловна Кашковская, к.в.н., руководитель группы
ООО «НИТА-ФАРМ»

Двукрылые насекомые широко распространены в весенне-летний период на пастбищах и в животноводческих комплексах, являются переносчиками большого количества инфекций. Для борьбы с ними традиционно проводят регулярные обработки животных инсектицидными средствами. Препарат Цифлунит на основе цифлутрина показал высокую терапевтическую эффективность в опыте на телятах. Коэффициент защитного действия со второго по седьмой день составил 100 % и сохранялся до 29-го дня на уровне не менее 83 %. **Ключевые слова:** цифлутрин, Цифлунит, мухи, двукрылые насекомые, телята, терапевтическая эффективность, инсектицидное действие.

A correct means of combating bi-winged insects in young cattle

K.V. Solodcova, Senior researcher
L.M. Kashkovskaya, PhD in Veterinary Sciences, Head group
NITA-FARM LLC

Diptera insects are widespread both on pastures in the spring-summer period and on livestock farms, being carriers of many infections. To combat dipteran insects, animals are traditionally regularly treated with insecticides. The drug Cyflunit based on cyfluthrin showed its high therapeutic efficacy in a study of insecticidal action on calves. The coefficient of protective action from the 2nd to the 7th day of the experiment was 100 % and remained up to 29 days at a level of at least 83 %. **Key words:** cyfluthrin, Ciflunit, flies, two-winged insects, calves, therapeutic efficacy, insecticidal action.
DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.36-40

На животноводческих комплексах и пастбищах РФ, особенно в период выпаса животных, широко распространены энтомозы. Мухи, слепни, оводы, мошки и другие насекомые не только вызывают беспокойство у животных, но и наносят значительный ущерб сельскохозяйственным предприятиям, так как являются переносчиками различных инфекционных и инвазионных заболеваний [4]. Паразитарные болезни крупного рогатого скота, по некоторым данным, занимают четвертое место после акушерско-гинекологических, респираторных и метаболических нарушений [1]. По литературным данным, фауна зоофильных мух на скотоводческих фермах на территории РФ представлена преимущественно тремя семействами: *Muscidae* (92,78 %), *Calliphoridae* (1,16 %), *Scatophagidae* (5,69 %). Установлено, что зоофильные мухи в равной степени контаминированы яйцами гельминтов и ооцистами простейших [2].

Поражение животных двукрылыми насекомыми приводит к снижению молочной продуктивности крупного рогатого скота на 10 – 20 %, уменьшает суточные привесы телят на 0,4 кг. В результате общие потери массы тела достигают 13 – 18 кг, что составляет не менее 30 т мяса от каждой тысячи животных [4 – 6].

Для профилактики инвазий и снижения численности двукрылых насекомых необходимы регулярные обработки животных и животноводческих помещений, в которых они содержатся. В настоящее время против зоофильных мух, включая *Haematobia irritans*, *Haematobia stimulans*, *Musca autumnalis*, *Stomoxys calcitrans*, а также слепней (*Tabanidae*), оводов (*Hypodermatidae*), комаров (*Culicidae*) и мошек (*Simuliidae*), применяют синтетические пиретроиды, большинство из которых характеризуется высокой инсектицидной эффективностью, низкой токсичностью для тепло-

ЦИФЛУНИТ®

Цифлутрин 1%
Раствор-концентрат

ИНСЕКТИЦИДНЫЙ ПРЕПАРАТ, ГАРАНТИРУЮЩИЙ ДЛИТЕЛЬНУЮ ЗАЩИТУ
КОРОВ И ТЕЛЯТ ОТ ВСЕХ ЛЕТАЮЩИХ НАСЕКОМЫХ, БЕЗ ОГРАНИЧЕНИЙ
НА ПРОДУКЦИЮ ЖИВОТНОВОДСТВА

БЕЗ ОГРАНИЧЕНИЙ
ПО МЯСУ И МОЛОКУ



ПРОТИВОПАРАЗИТАРНОЕ СРЕДСТВО



кровных и продолжительной репеллентной активностью [3].

Учеными компании NITA-FARM для борьбы с мухами, оводами, слепнями, комарами и мошками разработан препарат Цифлунит, содержащий в качестве действующего вещества пиретроид третьего поколения цифлутрин, обладающий контактным и репеллентным действием. Преимущества его – эффективность при борьбе с энтомозами, длительный период защиты от повторного нападения насекомых, низкая токсичность, удобство применения. После нанесения препарата на кожу действующее вещество, практически не всасываясь, распределяется по поверхности тела животного и обеспечивает его длительное инсектицидное и репеллентное действие – не менее 28 суток после однократной обработки. Местного раздражающего влияния на кожу после использования препарата Цифлунит не установлено.

Цель данной работы – в опыте на телятах определить терапевтическую эффективность препарата Цифлунит в отношении двукрылых насекомых, выявить его возможное местнораздражающее действие.

Материалы и методы. Опыты провели в хозяйстве Тамбовской области на 150 головах здорового молодняка крупного рогатого скота голштино-фризской породы массой тела 50 – 100 кг в возрасте 1 – 3 месяца. В эксперименте использовали животных раннего возраста с меньшей массой тела, как наиболее подверженных нападению насекомых. Из них сформировали три группы: первая – контрольная (n=30, масса тела 50 – 100 кг), вторая опытная (n=60, масса 50 кг) и третья опытная (n=60, масса 100 кг). Телят второй и третьей групп обрабатывали препаратом Цифлунит в дозе 1 мл на 50 кг массы тела. Наносили препарат согласно инструкции наружно, на кожу вдоль позвоночного столба тон-

кой струйкой по направлению от головы к хвосту. В первой (контрольной) группе животным инсектицидные препараты не применяли.

При оценке переносимости препарата учитывали изменения клинического состояния и поведения животных, наличие местных изменений – эритема, отек, трещины, изъязвления, некроз, сухость, шелушение, зуд и другие. Состояние кожи в месте нанесения обследовали через 24; 48 и 72 ч после нанесения.

Эффективность репеллентного действия контролировали подсчетом среднего количества двукрылых насекомых, севших на одно животное (наблюдали за 10 телятами в каждой группе) в течение трех минут до нанесения препарата, а затем ежедневно первые семь дней эксперимента и два раза в неделю с 8-го по 42-й день.

Коэффициент защитного действия рассчитывали по формуле

$$КЗД = \frac{(B-A) \times 100}{B},$$

где КЗД – коэффициент защитного действия, А – число насекомых на обработанных животных (штук), В – число насекомых на необработанных животных (штук).

При КЗД от 100 до 80 % считали, что препарат проявляет значительное защитное действие.

Результаты исследования. При первичном осмотре телят до начала эксперимента установили, что все животные клинически здоровы, однако потребление воды и корма снижено. Двигательная активность немного повышена – животные беспокойны из-за большого количества двукрылых насекомых на теле. Состояние кожного покрова в области спины: кожа и шерстный покров – чистые, гладкие, без видимых повреждений. Количество насекомых на одном животном до обработки – от 30 до 70 штук.

Инсектицидная активность препарата Цифлунит

Группа	Коэффициент защитного действия через количество дней после обработки, %																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	10	14	18	22	26	29	33	36	39	42
Первая	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Вторая	95,8	100	100	100	100	100	100	99,1	99,4	98,6	95,3	94,5	88,7	83,1	75,2	64,9	57,2	42,6
Третья	97,6	100	100	100	100	100	100	98,9	99,7	99,1	96,6	93,8	88,4	83,5	73,1	68,1	58,2	41,2

При наблюдении за животными опытных групп после обработки Цифлуни- том уже на первые сутки отмечали значительное уменьшение беспокойства, количество насекомых снизилось до единичных особей. Улучшилось и общее состояние телят, у них нормализовался аппетит, на кожном покрове не регистрировали гиперемий, эрозий, язв, alopecий, зуда и шелушения, то есть препарат не оказывал на кожу побочного действия, состояние животных находилось в пределах физиологической нормы. Следовательно, препарат Цифлунит безопасен для применения молодняку крупного рогатого скота. В контрольной группе состояние животных не изменилось, телята плохо ели, беспокоились, количество мух осталось аналогично их количеству на начало эксперимента.

Инсектицидное действие препарата Цифлунит во второй и третьей группах через сутки после однократной обработки составило соответственно 95,8 % и 97,6 %. Максимальную эффективность (КЗД – 100 %) и отсутствие насекомых на молодняке в опытных группах фиксировали со второго по седьмой день, значительный защитный эффект (от 100 % до 83 %) сохранялся до 29-го дня. Начиная с 33-го дня опыта отметили значительное снижение инсектицидной активности (см. таблицу). Состояние животных контрольной группы и количество насе-

комых на них в течение всего срока наблюдения оставалось неизменным.

Заключение. Препарат Цифлунит обеспечивал высокую степень защиты молодняка крупного рогатого скота от нападения двукрылых насекомых. На протяжении семи дней после однократной обработки коэффициент защитного действия составлял 100 %, а репеллентный эффект сохранялся не менее 28 дней. Цифлунит при накожном нанесении телятам не оказывал местнораздражающего действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вахрушева Т.И. Анализ эффективности лечения и профилактики внутренних незаразных болезней крупного рогатого скота в ЗАО «Светлолобовское» Красноярского края. Современные научно-практические решения в АПК: Сборник статей Всероссийской научно-практической конференции, Тюмень, 08 декабря 2017 г. Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2017; 1:194 –201. EDN YQQEAB
2. Егоров С.В., Крючкова Е.Н., Абалихин Б.Г., Соколов Е.А. Роль зоофильных мух в распространении зоонозов в скотоводческих хозяйствах Ивановской области и меры борьбы с ними. Российский паразитологический журнал. 2022; 16(1):119 – 124. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-zoofilnyh-muh-v-rasprostraneniizoonozov-v-skotovodcheskih-hozyaystvah-ivanovskoy-oblasti-i-mery-borby-s-nimi>
3. Золотова Н.С., Алиферук Ю.А. Сравнительная оценка препаратов при борьбе с гнусом. Актуальные проблемы ветеринарной науки и практики: Сборник материалов Всероссийской (национальной) научно-практической конференции. Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина. Омск, 2021; 315 – 317. EDN YGXCHN.
4. Латкин С.В., Павлов С.Д., Хлызова Т.А., Фёдорова О.А., Метелица И.А., Лещев М.В. Новые препараты для защиты животных от кровососущих двукрылых

насекомых. Российский паразитологический журнал. 2014; № 3:81 – 85. URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/novye-preparaty-dlya-zaschity-zhivotnyh-ot-krovososuschih-dvukrylyh-nasekomyh>

5. Никонов А.А., Глазунова Л.А. Эпизоотическая ситуация по основным энтомозам крупного рогатого скота мясных пород в Зауралье. Вестник КрасГАУ. 2014; 12:154 – 157. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/>

epizooticheskaya-situatsiya-po-osnovnym-entomozam-kрупnogo-rogatogo-skota-mясnyh-porod-v-zauralie

6. Стасюкевич С.И. Эффективность цифлутрина при оводовых болезнях животных. Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Научно-практический журнал. 2013; 49(1):66 – 69.

УДК 619:576.895.1+597.556.3331.1

ОБЫКНОВЕННЫЙ ЕРШ САРАТОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА – ИСТОЧНИК ОПАСНЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ГЕЛЬМИНТОЗОВ

Оксана Викторовна Минеева, к.б.н., научный сотрудник, ksukala@mail.ru

Самарский федеральный исследовательский центр РАН,
Институт экологии Волжского бассейна РАН (г. Тольятти)

Изучили зараженность обыкновенного ерша Саратовского водохранилища (Нижняя Волга) санитарно-значимыми паразитами. Гельминты, опасные для здоровья человека, представлены четырьмя видами трематод на стадии личинки, больше всего выявили *Apophallus muehlingi* – возбудителя апофаллеза. Считаем, что в жизненном цикле этого вида сосальщика ерш обыкновенный является важным участником. **Ключевые слова:** обыкновенный ерш, гельминтозы, Саратовское водохранилище.

Ruff of the Saratov reservoir as a source of helminthoses dangerous to human

O.V. Mineeva, PhD in Biology, Researcher

Samara Federal Research Scientific Center RAS, Institute of Ecology of Volga River Basin RAS

We studied the infestation of the common ruff of the Saratov reservoir (Lower Volga) with sanitary-important parasites. Helminths dangerous to human health are represented by four species of trematodes at the larval stage, the most identified being *Apophallus muehlingi* causative agent of apophallosis. We believe that the common ruff is an important participant in the life cycle of this fluke species. **Key words:** ruff, helminthiasis, Saratov reservoir.

DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.40-44

Рыба – ценный пищевой продукт, источник полноценного белка, незаменимых аминокислот, жира, витаминов, минеральных веществ, необходимых для нормальной жизнедеятельности человека. Вместе с тем рыбы могут быть заражены разнообразными паразитами, некоторые из которых опасны для людей и животных [4 – 6]. Согласно данным Федерального агентства по рыболовству [19] в 2023 г. в Волжско-Каспийском рыбохозяйственном бассейне рыбами выловлено 86,8 тыс. тонн водных биоресурсов. Паразитофауну промысловых видов активно изучают (в том числе региональные лаборатории Роспотребнадзора и Департамента ветеринарии), что позволяет выявить эпидемиологически

значимых гельминтов. В то же время «сорные» виды рыб, не охватываемые промыслом, но добываемые рыбаками-любителями и потребляемые в пищу, зачастую оказываются вне поля зрения паразитологов.

Одним из таких видов в нижнем течении Волги является обыкновенный ерш – *Gymnocephalus cernuus* L., 1758 (Actinopterygii, Percidae). Это обычный, достаточно многочисленный вид, распространенный в водохранилищах, устьевых участках их притоков, пойменных озерах [13]. Он не относится к промысловым, но в небольшом количестве (в качестве прилова) добывается промысловыми орудиями лова и активно вылавливается рыбаками-любителями.

Цель работы – изучить зараженность обыкновенного ерша Саратовского водохранилища опасными для здоровья человека гельминтами.

Материалы и методы. Сбор ихтиологического материала проводили в 2012 – 2016 гг. в среднем участке Саратовского водохранилища (Кольцово-Мордовинская пойма, 53°16'78" с.ш., 49°42'54" в.д.). При помощи набора крючковых снастей отловили 61 экземпляр обыкновенного ерша, длина рыб (SL) составляла 53,2 – 117,9 мм. Паразитологический материал собирали и обрабатывали по общепринятой методике [3]. До вида червей идентифицировали по соответствующему ключу [17], систематика приведена по данным сайта WoRMS [22].

Для количественной характеристики зараженности рыб использовали традиционные показатели: экстенсивность инвазии (ЭИ – процентная доля зараженных особей в общем числе исследованных), интенсивность инвазии (ИИ – минимальное и максимальное число паразитов на одной особи), индекс обилия (ИО – среднее число паразитов у всех исследованных особей, включая незараженных). Математическую обработку данных выполняли с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты исследований и обсуждение. Установили, что в Саратовском водохранилище обыкновенный ерш инвазирован четырьмя видами червей, возбудителями опасных гельминтозов человека. Выявленные паразиты представлены личиночными формами, принадлежат к одной систематической группе – трематодам (см. таблицу).

Обнаруженные эпидемиологически значимые паразиты обладают триксенным жизненным циклом [17]. Церкарии заражают рыб активным путем, внедряясь через кожные покровы. Уровень инвазии ершей личинками сосальщиков определяется биотопическими связями (пространственной близостью) между моллюсками и рыбами, а также степенью зараженности моллюсков партиями трематод.

Clinostomum complanatum (Diplostomida, Clinostomidae) – очень редкий паразит, впервые в Саратовском водохранилище его обнаружили в 1995 г. у окуня, параметры заражения этим гельминтом чрезвычайно низки – выявили пять экземпляров у одной особи из 1600 вскрытых [2]. Ерш – второй известный промежуточный хозяин сосальщика, степень его зараженности также крайне незначительна (см. таблицу). Более того, данная находка пока яв-

Гельминты ерша обыкновенного Саратовского водохранилища, потенциально опасные для человека

Паразит/локализация	ЭИ, %	ИИ, экз.	ИО
<i>Clinostomum complanatum</i> (Rudolphi, 1814) Braun, 1899, mtc/подкожная мускулатура	1,64	1	0,02
<i>Paracoenogonimus ovatus</i> Katsurada, 1914, mtc/мускулатура	4,92	1	0,11
<i>Apophallus muehlingi</i> (Jägerskiöld, 1899), Lühe, 1909, mtc/подкожная мускулатура, лучи плавников	32,79	2 – 298	25,39
<i>Apophallus donicus</i> (Skrjabin et Lindtrop, 1919) Price, 1931, mtc/лучи плавников	1,64	72	1,18

ляется единственной у этого вида рыбы в бассейне Волги.

C. complanatum – вид-космополит, в европейской части России встречается в бассейнах рек, впадающих в Черное, Азовское и Каспийское море [12, 17]. Промежуточные хозяева этого вида трематоды – моллюски прудовики (*Limnaeidae*) и катушки (*Planorbidae*). Дополнительные – многие виды рыб (окуневые, карповые, бычковые, щука, сом и др.), в них метацеркарии сосальщика могут находиться до четырех лет, проявляя высокую патогенность при значительной степени инвазии. Взрослая особь паразитирует в ротовой полости и пищевode рыбоядных птиц (облигатные хозяева), известны случаи обнаружения гельминта у кошек и собак [4, 17].

C. complanatum не входит в число обычных паразитов человека, заражение носит случайный характер. Тем не менее риск инвазии этим гельминтом вполне реален при употреблении в пищу сырой или слабо термически обработанной рыбы, содержащей личинки. В настоящее время случаи клиностомоза достоверно зафиксированы в странах Юго-Восточной и Южной Азии [20, 21]. Попад в желудок человека, личинка мигрирует через пищевод в глотку или гортань, прикрепляется к слизистой стенке и развивается во взрослую особь. При этом наблюдают признаки острого ларингита или фарингита: боль, ощущения присутствия постороннего предмета, кашель, дискомфортное состояние и зуд в гортле, слюна с кровью. Комплекс этих симптомов, названный синдромом halzoun [21], проявляется у человека через 1 – 3 дня после заражения.

Paracoenogonimus ovatus (*Diplostomida*, *Cyathocotylidae*) принадлежит к числу наиболее массовых и распространенных паразитов рыб водохранилища, чаще всего инвазии подвержены

карповые и щука [2, 11], ерша исследуемого водоема поражает крайне редко [10]. *P. ovatus* – широко распространенный в Палеарктике вид, развитие которого протекает с участием моллюсков р. *Viviparus*, рыб разных семейств и отрядов, рыбоядных птиц и плотоядных млекопитающих в качестве хозяев разных категорий [12, 17]. Параценогонимоз выявляют и у человека (источником заражения может быть малосолёная и плохо проявленная рыба), паразит локализуется в тонком отделе кишечника [4].

Apophallus muehlingi (*Plagiorchiida*, *Opisthorchiidae*) – массовый вид в Саратовском водохранилище, активно инвазирует аборигенных и чужеродных рыб (известен у окуневых, карповых, сельдевых), максимальная зараженность выявлена для уклейки [15]. Обыкновенный ерш – важный участник жизненного цикла сосальщика [10].

Apophallus (= *Rossicotrema*) *donicus* (*Plagiorchiida*, *Opisthorchiidae*) имеет меньший круг дополнительных хозяев в исследуемом водоеме, показатели инвазии рыб метацеркариями невысоки. У ерша обыкновенного *A. donicus* обнаружен единично. Вообще, трематоды рода *Apophallus* – возбудители апофаллеза и россикотремоза, – чужеродные в бассейне Волги, имеют азово-черноморское происхождение. Вектор инвазии – естественное расселение паразита вместе с промежуточным хозяином – брюхоногим моллюском *Lithoglyphus naticoides* (Pfeiffer, 1828) (*Gastropoda*: *Lithoglyphidae*). Последний проник в бассейн Волги из водоемов Причерноморья после строительства Волго-Донского судоходного канала [8]. В настоящее время моллюск и ассоциированные с ним трематоды значительно продвинулись вверх по каскаду волжских водохранилищ [8, 14]. Дополнительные хо-

зьева трематод – рыбы разных семейств и отрядов (для *A. muehlingi* – карповые, *A. donicus* – окуневые). Метацеркарии рода *Apophallus*, одни из возбудителей «чернопятнистой болезни» рыб, отличаются высокой патогенностью для молодежи именно в водоемах-реципиентах [1, 17]. Половозрелые гельминты поселяются в тонком отделе кишечника рыбоядных птиц (облигатные окончательные хозяева), хищных и домашних плотоядных млекопитающих. *A. muehlingi* и *A. donicus* включены в список возбудителей гельминтозов, передающихся человеку через рыбу [16].

Анализ собственных и литературных данных показал, что в бассейне Волги ерш обыкновенный участвует в циркуляции не менее восьми опасных для человека видов гельминтов – одного вида цестод, пяти видов трематод и двух видов круглых червей. У ерша Средней Волги (Горьковское водохранилище и река Мулянка) часто регистрируют *Diphyllbothrium latum* (Linnaeus, 1758) Lühe, 1910 (Cestoda, Diphyllbothriidae) [9, 13]. Следует отметить, что в реке Мулянке плероцеркоиды лентеца широко распространены в популяции хозяина (ЭИ=35,7 %, ИО=4,5 экз.) [9]. Это подтверждает значительную роль ерша в функционировании в регионе природного очага дифиллоботриоза.

Возбудитель эхинохазмоза, метацеркария *Echinochasmus perfoliatus* (Ratz, 1908) Gedoelst, 1911 (Plagiorchiida, Echinochasmidae), заражает ерша в дельте Волги [17], тогда как личинка *S. complanatum* достоверно известна лишь в популяции ерша Саратовского водохранилища.

Другие виды, зарегистрированные нами, имеют более широкое распространение у хозяина в волжском бассейне. Метацеркария *A. donicus* встречается у ерша в дельте Волги [17]. Личинки

P. ovatus и *A. muehlingi* распространены в популяциях *G. cernuus* от дельты до Горьковского и Чебоксарского водохранилищ (Средняя Волга) соответственно [13, 17, 18]. Личинки нематод, возбудителя эустронгилидоза, *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909 и *E. tubifex* (Nitzsch in Rudolphi, 1819) Jägerskiöld, 1909 (Enoplea, Dioctophymatidae) [5], встречаются у обыкновенного ерша в дельте Волги [13] и в притоке Рыбинского водохранилища (река Ильдь, Верхняя Волга) [7].

Большинство гельминтов из этого списка (трематоды и нематоды) редко инвазируют человека, он для них случайный хозяин, взрослые черви заражают преимущественно рыбоядных птиц. Человек играет важную роль в реализации жизненного цикла цестоды *D. latum* (возбудитель дифиллоботриоза, «бледной немочи»), являясь основным облигатным окончательным хозяином паразита [6]. Уровень инвазии населения лентецом широким, как правило, значительно выше, чем зараженность домашних и тем более диких животных [12].

Заключение. Обыкновенный ерш Саратовского водохранилища инвазирован четырьмя видами гельминтов, возможных возбудителей клиностомоза, параценогонимоза, апофаллеза и россикотремоза у человека. Только для одного вида трематод (*A. muehlingi*) ерш является важным дополнительным хозяином. Источником заражения человека может быть инвазированная личинками рыба, не прошедшая должную подготовку (засолку, замораживание, копчение, консервирование, проварку, прожарку). Одновременно необходимы регулярные паразитологические тестирования рыб, включая виды, неохваченные промыслом, но являющиеся объектами любительского рыболовства. Ветеринарные экспертизы

следует сопровождать генетическими исследованиями возбудителей, что поможет усовершенствовать существующие методы диагностики и лечения паразитарных заболеваний. Также необходимо усиление просветительской работы среди населения неблагополучных регионов для профилактики паразитарных заболеваний, передающихся через рыбу.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства высшего образования и науки России (тема № 122032500063-0 «Изменение, устойчивость и сохранение биологического разнообразия под воздействием глобальных изменений климата и интенсивной антропогенной нагрузки на экосистемы Волжского бассейна»).

ЛИТЕРАТУРА

- Бисерова Л.И. Паразитологические аспекты инвазий чужеродных видов. Труды ВНИРО. 2010; 148:137 – 141.
- Бурякина А.В. Паразитофауна рыб Саратовского водохранилища (фауна, экология): Дис. ... канд. биол. наук. СПб. 1995; 384.
- Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л.: Наука, 1985; 121.
- Гаевская А.В. Мир паразитов человека. I. Трематоды и трематодозы пищевого происхождения. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2015; 410.
- Гаевская А.В. Мир паразитов человека. II. Нематоды и нематодозы пищевого происхождения. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2016; 442.
- Гаевская А.В. Мир паразитов человека. III. Цестоды и цестодозы пищевого происхождения. Севастополь: ООО «Колорит», 2017; 358.
- Жохов А.Е., Пугачева М.Н. Первая находка нематоды *Eustrongylides excisus* (Dorylaimea: Dioctophymatidae) у рыб в Рыбинском водохранилище. Российский журнал биологических инвазий. 2019; 12(3):25 – 28.
- Жохов А.Е., Пугачева М.Н., Молодощникова Н.М., Беречкидзе И.А. Чужеродные виды паразитов рыб в бассейне Волги: обзор данных по числу видов и распространению. Российский журнал биологических инвазий. 2019; 12(1):38 – 55.
- Костицына Н.В., Калачев А.А. Многоклеточные паразиты ерша и окуня из двух водотоков Пермского края с различной антропогенной нагрузкой. Известия Самарского научного центра РАН. 2014; 16(5(1)):69 – 74.
- Минеева О.В. Материалы к фауне многоклеточных паразитов обыкновенного ерша *Gymnocephalus cernuus* Linnaeus, 1758 в Саратовском водохранилище. Российский паразитологический журнал. 2016; 1: 16 – 23.
- Минеева О.В. Паразиты молоди щуки *Esox lucius* Linnaeus, 1758 в Саратовском водохранилище. Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2020; 29(4):62, 63.
- Мошу А. Гельминты рыб водоемов Днестровско-Прутского междуречья, потенциально опасные для здоровья человека. Кишинэу: Есо-ТИРАС, 2014; 88.
- Обыкновенный ерш *Gymnocephalus cernuus* (Linnaeus, 1758). Систематика, морфология, образ жизни и роль ерша в экосистемах (Ред.: Ю.С. Решетников, О.А. Попова). М.: Тов-во научных изданий КМК, 2016; 279.
- Перова С.Н., Пряничникова Е.Г., Тютин А.В. О расширении ареала обитания причерноморского моллюска *Lithoglyphus naticoides* (C. Pfeiffer, 1828) и ассоциированных с ним видов трематод в бассейне Верхней Волги. Биология внутренних вод. 2018; 2:91 – 93.
- Рубанова М.В. Зараженность рыб Саратовского водохранилища метацеркариями *Apophallus muehlingi* (Jägerskiöld, 1899). Lühe. 1909. Известия Самарского научного центра РАН. 2015; 17(4):222 – 225.
- СанПиН 3.3686 – 21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». 28.01.2021; 4.
- Судариков В.Е., Ломакин В.В., Атаев А.М., Семенова Н.Н. Метацеркарии трематод – паразиты рыб Каспийского моря и дельты Волги. Метацеркарии трематод – паразиты гидробионтов России. М.: Наука, 2006; 2:183.
- Тютин А.В., Вербицкий В.Б., Вербицкая Т.И., Медянцева Е.Н. Паразиты гидробионтов-вселенцев в бассейне Верхней Волги. Российский журнал биологических инвазий. 2012; 4:96 – 105.
- Федеральное агентство по рыболовству (Электронный ресурс). (<http://www.fish.gov.ru>). Дата обращения 24.02.2024.
- Hara H., Miyauchi Y., Tahara S., Yamashita H. Human laryngitis caused by *Clinostomum complanatum*. Nagoya J. Med. Sci. 2014; 76(1– 2):181 – 185.
- Park C.-W., Kim J.-S., Joo H.-S., Kim J. A human case of *Clinostomum complanatum* infection in Korea. Korean journal of parasitology. 2009; 47(4):401 – 404.
- WoRMS – World Register of Marine Species (Электронный ресурс). (<http://www.marinespecies.org>). Accessed on 24.02.2024.



ВОСПРОИЗВОДСТВО МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА

ФОЛЛИМАГ®

раствор (ГСЖК - 200 МЕ/мл)

Удобно:

- ✓ **Гарантия бесперебойных поставок:**
 - мы используем собственное сырье
- ✓ **Готовый раствор для применения:**
 - не нужен растворитель
- ✓ **Малые дозы:**
 - стимуляция воспроизводительной функции (2,0 - 2,5 мл)
 - увеличение приплода (3,5 - 4,0 мл)
- ✓ **Высококвалифицированный консалтинг**

Выгодно:

- ✓ **Стоимость** одной обработки для стимуляции воспроизводительной функции 145 - 180 руб.
- ✓ **Увеличение** приплода до 30 %
- ✓ **Разработана методика** для применения в промышленном животноводстве



производство
МОСАГРОГЕН
ветеринарных препаратов



+7(495) 744-0645
www.mosagroen.ru

**ИСКУССТВЕННОЕ ОСЕМЕНЕНИЕ ОВЦЕМАТОК СЕВЕРОКАВКАЗСКОЙ ПОРОДЫ
ТРАНСПОРТИРОВАННОЙ СПЕРМОЙ БАРАНОВ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ****Людмила Савельевна Малахова**, к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник**Арслан Ахметович Омаров**, к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник**Александр Иванович Суров**, д.с.-х.н., директор**Екатерина Дмитриевна Карпова**, к.б.н., старший научный сотрудник*ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»**(Ставропольский край, г. Михайловск)*

Воспроизводство овец в хозяйствах разных форм собственности должно базироваться на организации и проведении искусственного осеменения, к выбору способа которого следует подходить с учетом конкретных условий. По ряду причин не все КФХ и ЛПХ могут приобретать дорогостоящих высокоценных производителей, обеспечивать им соответствующее содержание, кормление и уход. Авторы оценили возможность и эффективность фронтального искусственного осеменения овцематок Северокавказской породы с синхронизированным половым циклом транспортированной спермой баранов производителей разных пород: Иль-де-Франс (ИДФ), Шароле (Ш), Мериноланд (МЛ) и Северокавказская (СК). Установили, что оплодотворяющая способность транспортированной спермы производителей разных генотипов достаточно высокая. Максимальной она оказалась у баранов Иль-де-Франс (70,0 %) против 63,3 %, 66,7 % и 60,0 % у производителей пород Шароле, Мериноланд и Северокавказская соответственно. Наибольшую плодовитость выявили у овцематок, осемененных транспортированной спермой барана Шароле – 147,4 %, что на 8,5 %, 4,5 % и 2,4 % выше по сравнению с особями, обработанными спермой производителей Северокавказской, Иль-де-Франс и Мериноланд пород. **Ключевые слова:** овцематки, бараны, сперма, оплодотворяемость, осеменение, порода.

**The results of artificial insemination of sheep of the north caucasian breed
with transported sperm of rams of different genotypes****L.S. Malakhova**, PhD in Agriculture, Leading researcher**A.A. Omarov**, PhD in Agriculture, Leading researcher**A.I. Surov**, PhD in Agriculture, Director**E.D. Karpova**, PhD in Biology, Senior researcher*North Caucasian Federal Scientific Agrarian Center**(Stavropol region, Mikhailovsk)*

Reproduction of sheep, regardless of the form of ownership, should be based on the organization and conduct of artificial insemination. The choice of a particular method of insemination in sheep farming should be approached taking into account the specific conditions of management. For a number of reasons, not all farms and private farms can afford to purchase expensive high-value producers, ensure their appropriate maintenance, feeding and care throughout the year. The aim of the work is to determine the effectiveness of frontal artificial insemination of North Caucasian sheep with a synchronized sexual cycle by transported sperm from Ile-de-France (IDF), Charolais (Sh), Merinoland (ML) and North Caucasian (SK) sheep producers. The results of the conducted studies have shown a relatively high fertilizing ability of the transported sperm of sheep producers of different genotypes. The fertilization rate of ewes inseminated with transported sperm of the IDF sheep was 70,0 %, which is 6,7 and 3,3 % more than in ewes inseminated with sperm from rams Sh and ML. The fertilization rate of ewes inseminated with transported sheep sperm was 60 %. The highest fertility was characterized by ewes inseminated with transported sperm of sheep Sh – 147,4 %, which is 8,5; 4,5 and 2,4 % more than ewes inseminated with transported sperm of sheep SK, IDF and ML. **Key words:** ewes, rams, sperm, fertility, insemination, breed.

DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.46-49

В Ставропольском крае до 75 % овцеводства сосредоточено в крестьянско-фермерских и личных подсобных хозяйствах (КФХ и ЛПХ). Основная задача товаропроизводителей независимо от форм собственности – увеличить продуктив-

ность животных, повысить количество производимой продукции и снизить ее себестоимость. Важная составляющая этого процесса – воспроизводство, повысить эффективность которого могут вспомогательные репродуктивные тех-

нологии – искусственное осеменение маток спермой высокоценных производителей, охлажденной до температуры тающего льда и транспортированной к месту использования. Результативность такого подхода значительно повысится, если синхронизировать половую охоту у овцематок [2, 3, 7].

В настоящее время в РФ нет генофонда высокопродуктивных мясных пород овец, отвечающих современным требованиям, – полицикличность, многоплодие, скороспелость, высокая энергия роста и отличные мясные качества. Использование баранов-производителей зарубежной селекции для создания поголовья мясных овец методом промышленного скрещивания с овцематками отечественных пород очень актуально. В эксперименте мы использовали баранов-производителей, которые по основным показателям продуктивности соответствовали требованиям класса элита.

При существующей системе, основанной на естественной продолжительности полового цикла овец, случка обычно длится 35 – 40 дней (два половых цикла), иногда затягивается до 60 дней. Это приводит к растянутому окоту и получению разновозрастных ягнят, совместное выращивание которых до отбивки – чрезвычайно трудное и сложное дело, особенно на небольших фермах ЛПХ и КФХ. Считают, что одной из причин высокого отхода новорожденных ягнят служит именно растянутый окот [4 – 6]. Длительность полового цикла у овец в среднем 16 суток, в половой сезон охоту проявляют 6 – 8 % овец в день. Не сложно подсчитать, что в небольших отарах численностью 100 – 200 голов ежедневно в охоте всего 6 – 12 овцематок. В таких ситуациях необходимо использовать вспомогательные репродуктивные технологии.

Цель нашей работы – определить эффективность фронтального искусственного осеменения овец с синхронизированным половым циклом транспортированной спермой баранов разных генотипов.

Материалы и методы. Исследования провели в ЛПХ Мاستенаненко Грачевского района Ставропольского края в половой сезон 2023 г. на 120 овцематках Северокавказской породы (четыре группы по 30 голов) 3 – 4-летнего возраста массой тела 55 – 60 кг. Всем животным дважды, с интервалом 11 дней, без учета стадии полового цикла вводили препарат ПГФ 2α (Магэстрофан, производства АО «Мосагроген») в дозе 125 мкг по активнодействующему веществу клопростенолу. Через 48 и 60 ч после второго применения препарата провели фронтальное искусственное осеменение овец без выявления у них полового охоты баранами-пробниками. Овцематок осеменяли цервикально свежеполученной и транспортированной спермой баранов различных генотипов – **Северокавказской** мясошерстной породы (СК), выведена в племзаводе «Восток» Ставропольского края; **Иль-де-Франс** (ИДФ), одна из наиболее популярных мясных пород французской селекции; **Шароле** (Ш) – мясошерстная порода французской селекции и **Мериноланд** (МЛ) – мясной меринос, мясошерстная порода немецкой селекции. Все бараны, у которых получали сперму в нашем эксперименте, имели выраженные мясные формы, живая масса равнялась соответственно 95,5 кг; 101,7; 113,6 и 125,5 кг.

После получения эякулята оценивали его качество и разбавляли в соотношении 1:2 при температуре 28 °С глюкозоцитратно желточной средой (ГЦЖ) собственного приготовления. Затем смесь расфасовывали в полиэтиленовые пробирки, закрывали пробками и помеща-

ли в термос с температурой тающего льда 4 °С. В термосе сперму транспортировали к месту использования.

Новорожденных ягнят с точностью до 0,05 кг взвешивали при рождении и наблюдали за ними до 2-месячного возраста.

Экспериментальные данные обрабатывали биометрическими методами [4] с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

Результаты исследований и обсуждение. Сперма баранов всех пород была нормальной консистенции, светло-кремового цвета. Наибольший объем эякулята регистрировали у животных породы Иль-де-Франс – $1,5 \pm 0,03$ мл и Мериноланд – $1,4 \pm 0,02$ мл (табл. 1). У производителей Шароле и Северокавказской породы этот показатель был меньше – $1,3 \pm 0,01$ мл и $1,2 \pm 0,04$ мл со-

Таблица 1

Качество спермы баранов-производителей

Показатель	Порода баранов-производителей			
	Иль-де-Франс	Шароле	Мериноланд	Северокавказская
Объем эякулята, мл	$1,5 \pm 0,03$	$1,3 \pm 0,01$	$1,4 \pm 0,02$	$1,2 \pm 0,04$
Подвижность спермиев, баллы	$8,6 \pm 0,05$	$8,5 \pm 0,03$	$8,3 \pm 0,12$	$8,0 \pm 0,09$
Концентрация спермиев, млрд/мл	$3,3 \pm 0,20$	$3,0 \pm 0,11$	$3,4 \pm 0,12$	$2,9 \pm 0,05$

Таблица 2

Репродуктивные показатели овцематок, осемененных спермой баранов разных генотипов

Показатель	Порода баранов-производителей			
	Иль-де-Франс	Шароле	Мериноланд	Северокавказская
Осеменено овцематок, гол.	30	30	30	30
Объягнилось овцематок, гол.	21	19	20	18
Оплодотворяемость, %	70,0	63,3	66,7	60,0
Плодовитость, %	142,9	147,4	145,0	138,9

Таблица 3

Новорожденный молодняк и его сохранность до 2-месячного возраста

Показатель	Потомство			
	ИДФ х СК	Ш х СК	МЛ х СК	СК х СК
Получено ягнят, гол.	30	28	29	25
В том числе:				
ярок, гол/%	14/46,7	15/53,6	14/48,3	13/52,0
баранчиков, гол/%	16/53,3	13/46,4	15/51,7	12/48,0
Масса тела при рождении, кг				
Ярочки	$4,4 \pm 0,25$	$4,2 \pm 0,19$	$4,5 \pm 0,16$	$3,8 \pm 0,18$
Баранчики	$5,3 \pm 0,32$	$4,9 \pm 0,14$	$5,1 \pm 0,20$	$4,5 \pm 0,12$
Сохранность, %	100,0	100,0	100,0	100,0

ли в термос с температурой тающего льда 4 °С. В термосе сперму транспортировали к месту использования.

Новорожденных ягнят с точностью до 0,05 кг взвешивали при рождении и наблюдали за ними до 2-месячного возраста.

Экспериментальные данные обрабатывали биометрическими методами [4] с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

Результаты исследований и обсуждение. Сперма баранов всех пород была нормальной консистенции, светло-кремового цвета. Наибольший объем эякулята регистрировали у животных породы Иль-де-Франс – $1,5 \pm 0,03$ мл и Мериноланд – $1,4 \pm 0,02$ мл (табл. 1). У производителей Шароле и Северокавказской породы этот показатель был меньше – $1,3 \pm 0,01$ мл и $1,2 \pm 0,04$ мл со-

Таблица 1

Качество спермы баранов-производителей

Показатель	Порода баранов-производителей			
	Иль-де-Франс	Шароле	Мериноланд	Северокавказская
Объем эякулята, мл	$1,5 \pm 0,03$	$1,3 \pm 0,01$	$1,4 \pm 0,02$	$1,2 \pm 0,04$
Подвижность спермиев, баллы	$8,6 \pm 0,05$	$8,5 \pm 0,03$	$8,3 \pm 0,12$	$8,0 \pm 0,09$
Концентрация спермиев, млрд/мл	$3,3 \pm 0,20$	$3,0 \pm 0,11$	$3,4 \pm 0,12$	$2,9 \pm 0,05$

Таблица 2

Репродуктивные показатели овцематок, осемененных спермой баранов разных генотипов

Показатель	Порода баранов-производителей			
	Иль-де-Франс	Шароле	Мериноланд	Северокавказская
Осеменено овцематок, гол.	30	30	30	30
Объягнилось овцематок, гол.	21	19	20	18
Оплодотворяемость, %	70,0	63,3	66,7	60,0
Плодовитость, %	142,9	147,4	145,0	138,9

Таблица 3

Новорожденный молодняк и его сохранность до 2-месячного возраста

Показатель	Потомство			
	ИДФ х СК	Ш х СК	МЛ х СК	СК х СК
Получено ягнят, гол.	30	28	29	25
В том числе:				
ярок, гол/%	14/46,7	15/53,6	14/48,3	13/52,0
баранчиков, гол/%	16/53,3	13/46,4	15/51,7	12/48,0
Масса тела при рождении, кг				
Ярочки	$4,4 \pm 0,25$	$4,2 \pm 0,19$	$4,5 \pm 0,16$	$3,8 \pm 0,18$
Баранчики	$5,3 \pm 0,32$	$4,9 \pm 0,14$	$5,1 \pm 0,20$	$4,5 \pm 0,12$
Сохранность, %	100,0	100,0	100,0	100,0

ответственно. Сравнительно высокой подвижностью отличалась сперма баранов Шароле и Иль-де-Франс, а более концентрированным оказался эякулят от Мериноланда и Иль-де-Франс. Концентрация спермиев – важный качественный показатель спермы, от него зависит возможная степень ее разбавления и соответственно количество маточного поголовья, которое можно осеменить.

Оплодотворяющая способность транспортированной спермы баранов-производителей разных генотипов была достаточно высокая (табл. 2). Максимальной она оказалась при использовании спермы баранов Иль-де-Франс 70,0 %, что на 6,7 %, 3,3 % и 10,0 % больше, чем в случае применения эякулята производителей других пород.

Длительность суягности у овцематок всех групп колебалась от 147 до 153 дней, у ягнят двоен, как правило, эмбриональный период развития был на 2 – 3 дня короче. Пол молодняка на сроки плодоношения не влиял. Самыми плодовитыми оказались овцематки, осемененные транспортированной спермой барана Шароле (147,4 %), что на 2,4 %, 4,5 и 8,5 % больше по сравнению с матками, обработанными спермой баранов пород Мериноланд, Иль-де-Франс и Северокавказская.

Достоверность происхождения потомства от производителей разных пород подтверждена по группам крови, полиморфным белкам и ферментам в лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ».

Ярочки с наибольшей массой тела рождались от баранов породы Мериноланд и Иль-де-Франс – 4,5 и 4,4 кг против 4,2 кг и 3,8 кг от производителей Шароле и Северокавказской пород. Более крупные баранчики оказались потом-

ками Иль-де-Франс – 5,3 кг, они превосходили таковые потомков Мериноланд, Шароле и Северокавказской пород на 3,8 %, 7,5 и 15,1 %. (табл. 3). Сохранность полученного потомства до 2-месячного возраста была 100,0 %.

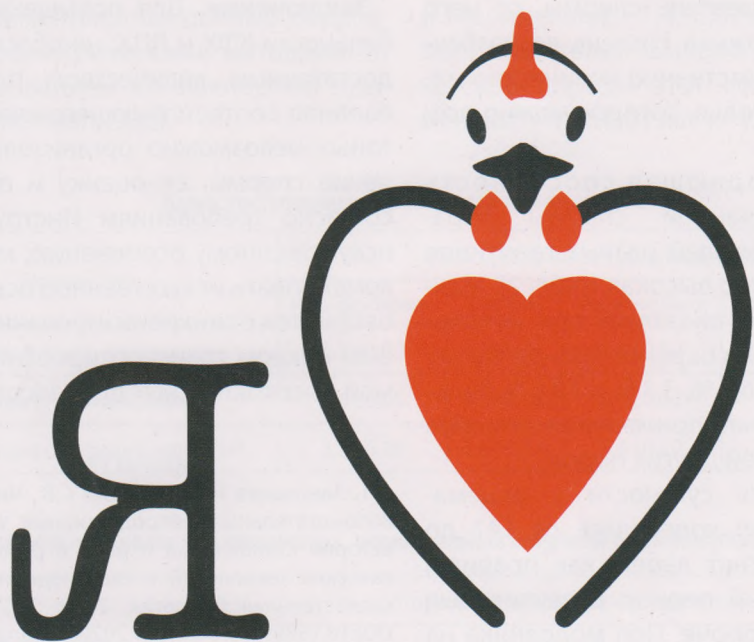
Заключение. Для повышения рентабельности КФХ и ЛПХ, не обеспеченных достаточным количеством племенных баранов соответствующего класса, в которых невозможно организовать получение спермы, ее оценку и обработку согласно требованиям Инструкции по искусственному осеменению, можно рекомендовать искусственное осеменение овцематок с синхронизированным половым циклом транспортированной спермой высококлассных производителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зиновьева Н.А., Полябин С.В., Чинаров Р.Ю. Вспомогательные репродуктивные технологии: история становления и роль в развитии генетических технологий в скотоводстве. Сельскохозяйственная биология. 2020; 55(2):225 – 242. DOI:10.15389/agrobiology.2020.2.225rus
2. Малахова Л.С., Омаров А.А., Суров А.И., Грига О.Э., Карпова Е.Д. Эффективность фронтального искусственного осеменения овцематок ташлинской породы с синхронизированным половым циклом. Ветеринария. 2023; 6:41 – 44.
3. Малахова Л.С., Омаров А.А., Суров А.И., Карпова Е.Д. Эффективность гонадотропного препарата Фоллимаг для повышения оплодотворяемости и плодовитости мериносовых овец. Ветеринария. 2023; 9:47 – 49.
4. Меркурьева Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1970; 424.
5. Омаров А.А., Малахова Л.С., Скорых Л.Н., Коваленко Д.В. Продуктивные и воспроизводительные особенности баранов и маток создаваемого скороспелого типа мясошерстных овец. Сборник научных трудов ВНИИОК. 2016; 1(9):140 – 144.
6. Суров А.И., Омаров А.А., Малахова Л.С., Карпова Е.Д. Репродуктивные особенности овец разных генотипов и энергия роста полученного потомства. Зоотехния. 2022; 9:28 – 31.
7. Суров А.И., Сердюков В.Н., Малахова Л.С., Омаров А.А., Мальцев Э.А. Эффективность применения гонадотропинов в овцеводстве. Ветеринария. 2016; 6:41 – 43.

Ceva

IBird®



ЗДОРОВЫХ
ЦЫПЛЯТ

Севак IBird®: контроль инфекционного
бронхита кур с первого дня жизни

ООО «Сева Санте Анималь»

109428, г. Москва, Рязанский пр-т, д. 16

Тел. (495) 729-59-90, факс (495) 729-59-93



ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ

ГИСТОПАТОЛОГИИ ЖАБР У БЫЧКА-КРУГЛЯКА (*NEOGOBIOUS MELANOSTOMUS*, PALLAS, 1814) И БЫЧКА-ГОЛОВАЧА (*NEOGOBIOUS ILJINI* VASILJEVA, VASILJEV, 1996) КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Александр Константинович Минеев, д.б.н., главный научный сотрудник, mineev7676@mail.ru
Институт экологии Волжского бассейна РАН – филиал ГБУН Самарского
федерального исследовательского центра РАН (г. Тольятти, Россия)

Представлены результаты исследования (2005 – 2013 гг.) гистологического состояния жаберного аппарата у 122 особей двух массовых видов бычковых рыб Куйбышевского водохранилища: бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814) и бычка-головача (*Neogobius iljini* Vasiljeva, Vasiljev, 1996). Стандартными гистологическими методиками изучили восемь типов обнаруженных патологий жабр. Зафиксировали превышение от нормы численности рыб с этими нарушениями, что указывает на неблагополучие экологических условий водоема. Доля особей с гистопатологиями жаберных структур достигала высоких значений. Выявленные изменения имели разную степень тяжести для рыб. Преобладали повреждения необратимого характера и угрожающие жизни бычков – дисплазия и искривление ламелл, инфильтрация клеток крови. Разнообразие обнаруженных гистопатологий жабр и регулярность их проявления у значительной части популяций бычков является, возможно, следствием воздействия антропогенных факторов. **Ключевые слова:** Куйбышевское водохранилище, бычок-кругляк, бычок-головач, гистопатологии жабр.

Histopathology of the gill in the goby-round (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814) and the roundhead goby (*Neogobius iljini* Vasiljeva, Vasiljev, 1996) of the Kuibyshev reservoir

A.K. Mineev, PhD in Biology, Chief researcher, mineev7676@mail.ru
Institute of Ecology of the Volga Basin of the RAS – branch of the Samara Federal Research Center of the RAS
(Togliatti, Russia)

The results of a study (2005 – 2013) of the histological state of the gill apparatus in 122 individuals of two massive species of goby fish of the Kuibyshev reservoir are presented: the goby-round (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814) and the roundhead goby (*Neogobius iljini* Vasiljeva, Vasiljev, 1996) are presented. Using standard histological techniques, eight types of detected histopathologies of gills were studied. An excess of normal fish occurrence rates was recorded for most of the detected gill disorders in populations, which is one of the signs of their disadvantage in the environmental conditions of the reservoir. The proportion of individuals with histopathologies of the gill structures reached high values. The revealed pathologies had different degrees of severity for fish. Irreversible and life-threatening injuries of fish prevailed: dysplasia and curvature of lamellae, infiltration of blood cells. The variety of detected histopathologies of gills and the regular nature of the manifestation of these disorders in a significant part of the populations of gobies is a possible consequence of the impact of anthropogenic factors. **Key words:** Kuibyshev reservoir, goby-round, roundhead goby, histopathology of the gill.

DOI:10.30896/0042-4846.2024.27.6.51-56

Гистологические патологии в тканях внутренних органов рыб свидетельствуют о хроническом характере негативных воздействий на отдельную особь и популяцию в целом. Эти изменения являются интегральным результатом разнообразных биохимических и физиологических преобразований в организме [13, 15]. Гистологический метод не всегда позволяет достаточно точно диагностировать заболевание, однако

он дает ответ о глубине патологического процесса на тканевом и клеточном уровне. Органы внешне здоровых рыб на тканевом уровне могут оказаться на различных стадиях патологии, что позволяет определить степень поражения популяции [7]. Морфопатологические исследования волжских рыб, проведенные ранее, показали, что состояние органов и тканей связано с условиями среды обитания, характером распре-

ления загрязняющих веществ по акватории водоема и особенностями экологии изученных видов [2].

Установлено, что на фоне сочетания большого количества загрязняющих веществ в Волге изменения в отдельно взятых органах некоторых видов рыб (в частности, стерляди) носят неспецифический характер и сопровождаются в некоторых случаях тератогенным и канцерогенным эффектами [3]. Широкий спектр морфофункциональных отклонений в жабрах, почках и гонадах половозрелой стерляди проявлялся как защитно-приспособительными адаптивными реакциями, так и патологическими процессами (некрозы в жабрах, почках, резорбции и деформации половых клеток). При этом изменения в эпителии жабр (увеличение клеточных элементов в первичном и вторичном эпителии, рост числа слизистых клеток, предохраняющих жабры от прямого воздействия растворенных в воде токсикантов) оценивали как неспецифические адаптивные реакции на тканевом уровне [3].

Доказано, что в условиях техногенного воздействия наиболее серьезные изменения претерпевают жабры, непосредственно контактирующие с токсикантом [5]. При этом гипертрофия структур изначально имеет приспособительное значение, направленное на компенсацию функций поврежденного органа или системы. Так, увеличение высоты жаберного эпителия, являющееся определяющим фактором гипертрофии филламентов, отчасти нейтрализует воздействие токсикантов на жаберные структуры. Поэтому регистрируемые у рыб некротические процессы и неоплазия жабр относятся к разряду необратимых, восстановление их структуры и функции невозможно, а развивающиеся параллельно с ними гипертрофия,

гиперплазия и инкапсуляция являются функциональными основами компенсаторно-приспособительных реакций, позволяющих организму перейти на новый уровень функционирования и выжить в изменяющихся условиях среды обитания [11].

Бычковые виды рыб в Куйбышевском водохранилище чужеродные. За счет короткого жизненного цикла (достижение половой зрелости на втором году жизни, две кладки икры за сезон, частая смена поколений при продолжительности жизни 4 – 5 лет) они составили успешную конкуренцию аборигенным карповым и окуневым видам, достигли высокой численности и биомассы в литорали практически всех волжских водохранилищ [9, 10]. Являясь хищниками-бентофагами, изучаемые виды бычков успешно конкурируют за кормовую базу с литоральными видами (ерш, окунь, большинство частиковых карповых). Кроме того, они стали составлять основу рациона аборигенных хищников – судака, щуки, берша, налима и сома, успешно встроившись в пищевые цепи волжских водохранилищ и преобразовав аборигенную ихтиопаразитофауну [6, 10]. Оба вида при высокой численности характеризуются сходством экологии: биотопами, пищевыми предпочтениями, особенностями нереста.

Цель работы – впервые исследовать гистопатологии жаберного аппарата у бычковых видов рыб-вселенцев Куйбышевского водохранилища и изучить возможность использования данных видов рыб в качестве индикаторов состояния здоровья всей ихтиофауны водоема.

Материалы и методы. Анатомические и гистологические исследования жаберного аппарата рыб осуществляли в 2005 – 2013 гг. в акватории средней и нижней части Куйбышевского водохранилища на станциях п. Тетюши

(54°93'1896" N, 48°86'2516" E), п. Ундоры (54°59'0636" N, 48°55'5509" E'), ниже г. Ульяновска (54°28'5960" N, 48°43'1837" E'), Новодевиченском плесе, с. Подвалье (53°60'3763" N, 48°93'6464" E') и г. Тольятти, верхний бьеф плотины (53°44'8011" N, 49°44'2903" E). Работу провели на самых распространенных видах рыб-вселенцев – бычок-кругляк и бычок-головач. Они водятся повсеместно в литорали Куйбышевского водохранилища и их можно считать индикаторами экологического состояния водоема. Особей с определенными параметрами вылавливали в 2005 г. набором ставных сетей с размером ячеи от 10 мм до 25 мм, мальковой волокушей длиной 10 м и размером ячеи 5 мм, а также крючковыми снастями в 2006 – 2013 гг. (табл. 1).

Возраст рыб определяли по отолитам, размер и массу – по стандартной методике [8]. Жабры рыб изымали у живых особей на месте вылова и фиксировали в смеси Бродского – 9:3:1 (96%-ный этиловый спирт, 40%-ный формалин, ледяная уксусная кислота). Обезжизнение и уплотнение гистологического материала производили по стандартной методике [4] в этиловом спирте возрастающей концентрации, смеси 100%-ного спирта и бензола, чистом бензоле и парафин-бензоле. После этого образцы заливали в парафин. Серийные гистологические срезы (не толще 8 микрон) изготавливали на санном микротоме МКБ-10, окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике и заключали в канадский бальзам [8]. Всего сделали и проанализировали 136 серийных препаратов жабр. Снимки гистопатологий выполнены окулярной цифровой

микрофотокамерой Levenhuk C-Series C510 NG.

Полученные данные обработали статистически с применением программ Excel 2010 и Statistica 12.

Результаты исследований и обсуждение. Известно, что при загрязнении воды тяжелыми металлами на жабрах образуются опухоли и язвы, а сами жабры редуцируют и приобретают бледную окраску [12]. Одинаковые дегенеративные изменения ламелл (жаберные лепестки второго порядка) – увеличение числа хлоридных клеток, некротические процессы, поражения жаберного эпителия – фиксировали у рыб при воздействии различных загрязнителей, таких как нимакс (препарат на основе растительного сырья) [16] и нитрат свинца [17]. Органические загрязнители, в частности, линдан (γ -НСН), вызывал в жабрах рыб расширение кровеносных сосудов, гиперплазию и отслоение эпителия ламелл, их укорочение (недоразвитие), слияние или некроз [18]. Подобные нарушения в строении жабр нами зафиксированы у бычков Куйбышевского водохранилища. Изменения структуры жабр могут быть успешно использованы как биомаркеры, которые отражают чувствительность рыб к стрессовым факторам окружающей среды [14, 19].

В Куйбышевском водохранилище, по данным 2005 – 2013 гг., превышение предельно допустимых концентраций (ПДК) основных загрязнителей составило: трудноокисляемые вещества (ХПК, по химическому потреблению кислорода) – в 5/2 раза (превышение max ПДК/среднегодового ПДК); легкоокисляемые вещества (БПК₅, по биологиче-

Таблица 1

Возраст и размерно-весовые характеристики рыб

Вид	Число особей, экз.	Возраст, лет	Min – max размер, мм	Min – max вес, г
Бычок-кругляк	65	2+... 4+	47 – 163	12 – 41
Бычок-головач	57	2+ ... 4+	58 – 181	14 – 53

скому потреблению кислорода) – в 4/2; нефтепродукты – в 5/2; фенолы – в 6/2; сульфаты – в 5/2; нитраты и нитриты – в 5/2,2; Mn – в 5/2; Cu – в 5/2,3 раза; класс качества воды – 3 А, Б [1].

Нами установлено, что в сложившихся экологических условиях встречаемость рыб обоих видов с различными гистопатологиями жаберного аппарата достигла высоких значений – среди бычка-кругляка их было $68,3 \pm 5,91$ %, бычка-головача – $68,4 \pm 6,21$ %. И в том, и в другом случае особи с патологией составляли основу популяции. Всего обнаружено восемь типов гистопатологий жабр (табл. 2).

У кругляка регистрировали все восемь патологий, у головача не было рыб с очагами разрастания покровного эпителия ламелл (рис. 4, а) и дисплазией сосудов филамента (рис. 2, а). Последнюю, без некроза окружающих тканей, зафиксировали только у двух особей кругляка. При этом в покровных тканях кровеносных сосудов и паренхимы филамента наблюдали скопления разрушенных клеток, характерных для того вида ткани, в котором был очаг. У наибольшего количества особей обоих видов (более трети) отмечали дисплазию ламелл – наиболее тяжелую необратимую патологию (рис. 1, в). При этом в очагах дисплазии (некроза) наблюдали скопления разрушенных клеток.

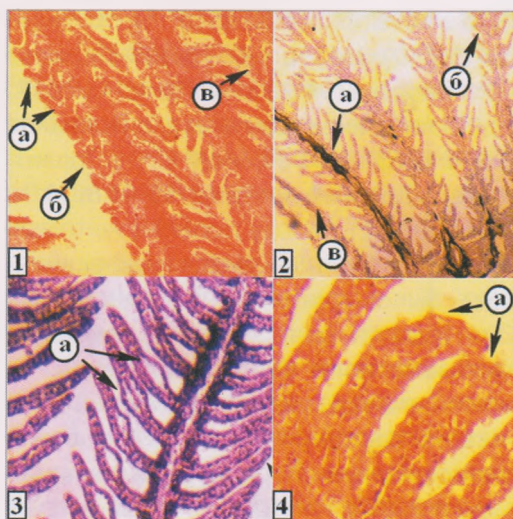


Рис. 1 – 4. Гистопатологии жабр: 1, а – искривление ламелл, 1, б – срастание ламелл, 1, в – дисплазия ламелл ($\times 40$); 2, а – некроз сосуда филамента, 2, б – инфильтрация ламелл, 2, в – отсутствие ламелл ($\times 20$); 3, а – отслоение эпителия ламелл (десквамация) ($\times 80$); 4, а – разрастание эпителия ламелл (эпителиальные клетки расположены в 2 – 3 слоя) ($\times 100$)

Данная гистологическая картина свидетельствует о критическом состоянии отдельных особей. Однако, при дисплазии жаберных лепестков второго порядка состояние ткани самого филамента может полностью соответствовать норме.

У 28,6 % особей кругляка и 26,3 % головача выявили искривление ламелл, которые в норме должны быть относительно прямыми (рис. 1, а). В случае патологии появляются ярко выраженные угловатые изгибы и волнообраз-

Таблица 2

Доля особей с разной гистопатологией жаберного аппарата

Тип патологии	Доля особей, %	
	бычок-кругляк	бычок-головач
Искривление ламелл	$28,6 \pm 5,74$	$26,3 \pm 5,88$
Инфильтрация ламелл	$26,9 \pm 5,64$	$22,8 \pm 5,61$
Дисплазия ламелл	$34,9 \pm 6,05$	$31,6 \pm 6,21$
Отслоение (десквамация) эпителия ламелл	$9,5 \pm 3,73$	$7,0 \pm 3,14$
Разрастание эпителия ламелл	$4,8 \pm 2,70$	–
Отсутствие ламелл	$4,8 \pm 2,70$	$3,5 \pm 2,46$
Сращения ламелл	$6,4 \pm 3,09$	$3,5 \pm 2,46$
Дисплазия сосуда филамента	$3,2 \pm 2,23$	–

ные деформации. Участки филамента с искривлениями могут состоять всего из одного или нескольких деформированных жаберных лепестков, либо быть достаточно обширными и занимать всю поверхность филамента. Инфильтрацию ламелл (рис. 2, б) также отмечали у обоих видов рыб, количество особей с этой патологией достигало 26,9 % (кругляк) и 22,8 % (головач). На гистосрезе это выглядит как вздутие ламеллы, капилляр сильно расширен, иногда до шарообразного состояния и наполнен клетками крови. Часто кровяные клетки локализируются за границей покровного эпителия, образуя наружные сгустки. При этом нет разрастания соединительной ткани или каких-либо других гистологических нарушений. Сама патология капилляра зачастую вызвана негативными внешними воздействиями (интоксикацией, резкими перепадами температуры, давления или кислородного режима) и предшествует дисплазии окружающих тканей.

Отслоение покровного эпителия (десквамация), наблюдаемое у 9,5 % кругляка и 7,0 % головача, выражается в том, что между капилляром ламеллы и ее покровным эпителием образуется полость, заполненная интерстициальной жидкостью (рис. 3, а). Подобная картина может локализоваться на каком-либо участке либо быть на всем протяжении филамента. Это, как правило, зависит от степени неблагоприятного воздействия окружающей среды на жаберный аппарат. У единичных особей кругляка и головача обнаружили отсутствие ламелл (рис. 2, в), когда на поверхности филамента встречаются участки с полным отсутствием одного или нескольких жаберных лепестков второго порядка. Данные участки покрыты обычным покровным эпителием, тогда как в норме филамент должен быть равномерно по-

крыт ламеллами от основания до апикальной части. Срастание ламелл (рис. 1, б), когда несколько лепестков срастаются полностью или частично (в основном, в апикальной части), редко фиксировали у обоих видов.

Обнаруженные многочисленные патологии на уровне анатомического и гистологического строения жабр у двух видов бычков Куйбышевского водохранилища, по нашему мнению, являются результатом воздействия окружающей среды, в том числе и антропогенных факторов [5]. Выявленные патологии жабр могут быть показателем степени воздействия токсических и биологических агентов.

Закключение. Гистопатологии жаберного аппарата у бычка-кругляка и бычка-головача в Куйбышевском водохранилище встречаются у 68,3 % и 68,4 % особей соответственно. Считаем, что это является следствием хронического антропогенного воздействия на акваторию водохранилища, а также одним из факторов, определяющих ухудшение качественных показателей кормовых объектов хищных промысловых видов рыб.

Работа выполнена в рамках бюджетной темы № 122032500050-0 «Изменение, устойчивость и сохранение биологического разнообразия под воздействием глобальных изменений климата и интенсивной антропогенной нагрузки на экосистемы Волжского бассейна».

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный доклад о состоянии и охране окружающей среды Ульяновской области в 2012 году. Ульяновск: Изд-во «Корпорация технологий продвижения», 2013; 131 с.
2. Васильев А.С., Запруднова Р.А., Буйневич А.В. Мониторинг состояния популяций леща верхневолжских водохранилищ. Всеросс. науч.-практ. конф. «Экологические проблемы уникальных природных и антропогенных ландшафтов». Ярославль: Ярославский государственный университет, 2004; 192 – 197.

3. Лепилина И.Н., Романов А.А. Гистоморфологические нарушения у волжской стерляди в современных экологических условиях. Экология. 2005; 2:157 – 160.

4. Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А., Микulin А.Е., Пьянова С.В., Полуэктова О.Г. Гистология для ихтиологов: Опыт и советы. М.: ВНИРО, 2009; 112.

5. Минеев А.К. Современное морфофизиологическое состояние массовых видов рыб в экологических условиях водоемов и водотоков бассейна Средней и Нижней Волги: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Тольятти, 2017; 37 с.

6. Минеева О.В., Семенов Д.Ю. Первые сведения о паразитах *Neogobius iljini* (Perciformes, Gobiidae) Средней Волги. Российский журнал биологических инвазий. 2021; 3:32 – 44.

7. Моисеенко Т.И. Водная экотоксикология: монография. М.: Наука, 2009; 400 с.

8. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М.: Пищевая промышленность, 1966; 376 с.

9. Семенов Д.Ю. Роль чужеродных видов в питании хищных рыб Куйбышевского водохранилища. Поволжский экологический журнал. 2009; 2:148 – 157.

10. Семенов Д.Ю. Особенности популяционной структуры чужеродных видов рыб Куйбышевского водохранилища. Российский журнал биологических инвазий. 2011; 4(2):151 – 159.

11. Шарова Ю.Н., Лукин А.А. Патологии рыб, развивающиеся в условиях техногенного воздействия, и

стереотипность ответных реакций. Междунар. конф. «Экологические проблемы северных регионов и пути их решения». Апатиты КНЦ РАН, 2004; 87 – 89.

12. Bolotova N.L., Konovalov A.F. Morpho-pathologic analysis of zander (*Stizostedion lucioperca* L.) in Beloe Lake. Int. Ver. Theor. Und angew. Limnol., 2003; 28(3):1609 – 1612.

13. Heath A.G. Water Pollution and Fish Physiology. L. Lewis Publ., 2002; 506.

14. Hinton D.E., Lauren D.G. Integrative histopathological approaches to detective effects of environment stressors on fish. N.Y. Publ. Amer. Fish. Soc. 1990; 51 – 66.

15. Lawrens A.J., Arukwe A., Moor M. Molecular-cellular processes and the physiological response to pollution. Effects of Pollution on Fish. N.Y. Blackwell Sci. 2003; 83 – 133.

16. Lazaras Asha D., Mishra P.K., Khasdeo K. Histopathological study of neomax induced gills of *Rasbora daniconius*. J. Exp. Zool. India, 2004; 7 (2):361 – 364.

17. Ortiz J.B., Gonzalez de Canales M.L., Sarasquete C. Histopathological changes induced by lindane (γ -HCH) in various organs of fishes. Sci. Mar. 2003; 67(1):53 – 61.

18. Parashar R.S., Banerjee T.K. Toxic impact of lethal concentration of lead nitrate on the gills of air-breathing catfish (*Heteropneustes fossilis* Bloch). Ver. Arh. 2002; 72(3):167 – 183.

19. Wrona F.G., Cash K.J. The ecosystem approach to environment assessment: moving from theory to practice. J. Aquat. Ecosyst. Health. 1996; 5:89 – 97.

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

**Напоминаем вам, что подписка на 2-е полугодие 2024 г.
в местных отделениях связи продолжается**

**Индекс журнала «Ветеринария»
по каталогу ООО «УП УРАЛ-ПРЕСС» – 70130; подписка онлайн
и по каталогу в АО «Почта России» – индекс ПИЗ96.**

На сайте Научной электронной библиотеки – eLIBRAR.RU

**подписаться и приобрести электронную версию журнала
или отдельной статьи.**

«Ветеринария»

с услуг почты:

5 мес – 3180 руб.

я коллегия и редакция

СОВРЕМЕННЫЕ РЕШЕНИЯ для птицеводства и животноводства



ДАНЛЕН
Оборудование
для профессионалов



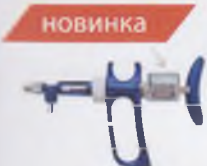
www.danlen.ru



дозатрон.рф

Шприцы **SOCOREX** Швейцария

НОВИНКА



Ультралегкий
Socorex ULTRA 1810



Счетчик
инъекций
Abacus™
для модели
ULTRA 1810



Socorex FIXED
с фиксированным
объемом



Иглы Luer Lock

Удлинитель для свиней и КРС:
гибкие и жесткие (20 см, 30 см)

Медикаторы **DOSATRON** Франция



D25RE5
10 - 2 500 л/ч
1 - 5 %



DIA4RE
5 - 2 500 л/ч
1 - 4 %



Бак-миксер
Tashia, 125 л

Вакцинация

Автоматические вакциноматы



Вакцинация
до 3000 цыплят в час

НОВИНКА



INOVACC — до 1200 голов
взрослой птицы в час



Италия



Аэрозольная
вакцинация

Распылители

GLORIA
Германия



Искусственное осеменение



imv
TECHNOLOGIES
Франция

Дебикеры



Увлажнение



IDROBASE

Италия

Весы



BRORING
Германия

Ловушки

летающих
насекомых



MOEL
Италия

ООО «ДАНЛЕН» + info@danlen.ru

Санкт-Петербург, Цветочная ул., 25А, оф. 605

+7 (812) 336-94-36 + 336-95-52 + 336-95-42



KARIZOO

Уристоп

40 мг/мл фенилпропаноламина

Сироп для перорального применения



В 1 мл содержится 40,28 мг фенилпропаноламина (50 мг фенилпропаноламина гидрохлорида).

Показания: уристоп назначают стерилизованным (после овариоэктомии / овариогистерэктомии) сукам при недержании мочи, связанном с функциональной недостаточностью сфинктера уретры.

Способ применения: перорально ежедневно, в дозе 0,1 мл препарата на 5 кг массы тела животного 3 раза в сутки с кормом (эквивалентно суточной дозе 0,06 мл на 1 кг массы тела животного).

Форма выпуска: 50 мл и 100 мл.

Производитель: Laboratorios Karizoo, S.A., Испания

Официальный эксклюзивный дистрибьютор в странах ЕАЭС:
ГК НЕВА-ВЕТ, тел. (812) 596-39-62, e-mail: shop@vetapteka.ru



Отпускается по рецепту ветеринарного врача.
Перед применением ознакомьтесь с инструкцией.
Номер регистрационного свидетельства в РФ: 6303-10-18 ЗПХ-Ф.