



РОССИЙСКИЙ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 2015 / 3

Международный журнал по фундаментальным и прикладным вопросам паразитологии

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере коммуникаций и охране культурного наследия (ПИ № ФС 77-26864 от 12 января 2007 год). Выходит ежеквартально. Распространяется в Российской Федерации и других странах. Статьи рецензируются. Индекс в каталоге агентства «Роспечать» в разделе «Журналы России» в рубрике «Издания Академий наук» – 80269.

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрабина

Адрес редакции: 117218, Россия, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28.

Тел./факс 8 (495) 124-56-55; 8 (495) 124-33-35; E-mail: journal@vniigis.ru

Website <http://vniigis.ru/menu/izdaniya.html> (русский язык)

Website http://vniigis.ru/menu/izdaniya_eng.html (английский язык)

Отпечатано в типографии:

ООО «Научно-издательский центр ИНФРА-М»

127282, Москва, ул. Полярная, д. 31В, стр. 1

Тел.: (495) 280-15-96, 280-33-86; Факс: 280-36-29

E-mail: books@infra-m.ru

<http://www.infra-m.ru>

Тираж 500 экз. Заказ № 0000. Формат 70x108/16. Усл.п.-л.: 9,625.

Журнал входит в Перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикации материалов докторских и кандидатских диссертаций. Зарегистрирован в наукометрических базах данных:

1. Российский индекс научного цитирования (РИНЦ) (http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp?) – соглашение от 02.07.2014
2. SCAB – соглашение о включении журнала в базу данных от 12.06.2014
Ссылка: (Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>).
3. AGRIS (International System for Agricultural Science and Technology) – соглашение о включении журнала в базу данных от 24.06.2015 № ЛП-1/117
3. Naukaru.ru – соглашение №23/15 от 28.01.2015
Naukaru.ru - портал научной периодики, площадка для публикации статей и чтения новых материалов.
Ссылка: <http://naukaru.ru/journal/editorial/Rossiyskiy-parazitologicheskij-gurnal>
4. Google Scholar – соглашение включения в базу данных от 8.04.2015
5. Web of Knowledge (WoS) – заявка на Соглашение включения в базу данных от 23.04.2015
Номер заявки: 150423-0585754
6. Scopus - заявка на Соглашение включения в базу данных от 17.04.2015
Номер подачи заявки: C7A99E94EA6EF70D
ссылка: <http://suggestor.step.scopus.com/progressTracker/index.cfm?trackingID=C7A99E94EA6EF70D>
7. Ulrich's Periodicals Directory – внесены в каталог периодических изданий 27.02.2015
К публикации принимаются статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов.
Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты (расположены на сайте). Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. При полном или частичном использовании материалов ссылка на журнал обязательна.

Графический дизайн оригинал-макета: ©Самойловская Н. ©Муравьева Л.

© «Российский паразитологический журнал»



Редакция

Успенский А.В. – главный редактор, доктор ветеринарных наук, член-корреспондент РАСХН (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Архипов И.А. – зам. главного редактора, доктор ветеринарных наук, профессор (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Самойловская Н.А. – зам. главного редактора, кандидат биологических наук (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Архипова Д.Р. – научный редактор, кандидат биологических наук (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Медведева А.Ю. – переводчик (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Редакционный совет

Василевич Ф.И., академик РАН (Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина)

Горохов В.В., доктор биологических наук, профессор (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Дахно И.С., доктор ветеринарных наук, профессор (Сумской аграрный университет, Украина)

Мовсесян С.О., академик НАН Армении, член-корреспондент РАН (Центр паразитологии ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН)

Начева Л.В., доктор биологических наук, профессор (Кемеровская государственная медицинская академия)

Никитин В.Ф., доктор ветеринарных наук, профессор (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Сафиуллин Р.Т., доктор ветеринарных наук, профессор (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Сергиев В.П., академик РАН (Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского Московского Государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова)

Сулейменов М.Ж., доктор ветеринарных наук (Казахский НИВИ, Казахстан)

Шестеперов А.А., доктор биологических наук, профессор (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор (Институт ветеринарной медицины им. С.Н. Вышелесского, Беларусь)

Bankov I., профессор (Институт экспериментальной патологии и паразитологии Болгарской академии наук, София)

Cabai W., профессор (Институт паразитологии Польской академии наук, Варшава)

Christopher N. Weir, доктор отделения инфекционных болезней и иммунитета института медицинских исследований (Мельбурн, Австралия)

Dubinsky P., профессор (Институт паразитологии Словакской академии наук, Кошице, Словацкая Республика)

Malczewski A., профессор (Институт паразитологии Польской академии наук, Варшава)

Mosaab Adl Aldin Omar Mohammed, доктор отдела паразитологии факультета ветеринарной медицины университета (Кена, Египет)

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

Petko B., профессор (Институт паразитологии Словакской академии наук, Кошице, Словацкая Республика)



RUSSIAN JOURNAL OF PARASITOLOGY

2015 / 3

International Journal of fundamental and applied parasitology

Russian Journal of Parasitology has been registered by the Federal Service for Supervision of Legislation in Mass Communications and Cultural Heritage Protection. Registration certificate PI № FS 77-26864 issued on January 12, 2007.

The Journal is published quarterly. Distributed in the Russian Federation and other countries. Articles are peer-reviewed. Subscription index in the catalogue of agency «Rospechat» in the section «Journals of Russia», heading «Publications of Academy of Sciences» is 80269.

Founder: Federal State Budget Institution «All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin» at Federal Agency of Scientific Organizations of Russia

Address of the Editorial Staff: 117218, Russia, Moscow, Bolshaya Cheremushkinskaya str., 28.
Phone/fax: 8 (495)-124-56-55; 8 (495)-124-33-35
E-mail: journal@vniigis.ru
Website: http://vniigis.ru/menu/izdaniya_eng.html

Printed at:
Limited Liability Company
“Scientific Publishing Centre INFRA-M”
31B Polyarnaya St., Build. 1, Moscow, 127282, Russia
Tel.: (495) 280-15-96, 280-33-86; Fax: 280-36-29
E-mail: books@infra-m.ru
<http://www.infra-m.ru>

Print run: 500 copies. Order No 0000. Format 70x108/16. Volume 9,625.

The journal is included in the List of Periodicals approved by the Higher Attestation Commission (VAK) for publishing of doctoral and post doctoral (PhD) dissertations. Registered in scientometric databases:

1. Russian index of scientific citation (RISC) (http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp?) – agreement dated 02.07.2014
 2. CABI – agreement on the inclusion of the journal into the database from 12.06.2014
Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>.
 3. AGRIS (International System for Agricultural Science and Technology) agreement on the inclusion of the journal into the database from 24.06.2015 No. LP-1/117
 3. Naukaru.ru – Agreement No. 23/15 from 28.01.2015
Naukaru.ru – portal of scientific periodicals, the platform for the publication of articles and reading new materials.
<http://naukaru.ru/journal/editorial/Rossiyskiy-parazitologicheskiy-gurnal>
 4. Google Scholar – Agreement included in the database from 8.04.2015
 5. Web of Knowledge (WoS) – application for an Agreement included in the database from 23.04.2015
Application number: 150423-0585754 Original Request: 150423-0585754
 6. Scopus - application for an Agreement included in the database from 17.04.2015
application number: C7A99E94EA6EF70D
<http://suggestor.step.scopus.com/progressTracker/index.cfm?trackingID=C7A99E94EA6EF70D>
 7. Ulrich's Periodicals Directory included in the directory of periodicals 27.02.2015
- Articles prepared according to the Rules for Authors are accepted for publication.
Submitting articles to the Editorial Staff the authors accept the terms of the Public offer agreement (located on the website).

The author's point of view may not coincide with the opinion of the Editorial Staff.

At full or partial use of materials the reference to the journal is required.

Graphic design of the layout of the journal ©N.Samoylovskaya ©L.Muraveva

© Russian Journal of Parasitology.



Editors:

Uspensky A.V., chief editor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences - RAS (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Arkhipov I.A., deputy chief editor, doctor of veterinary sciences, professor (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Samoylovskaya N.A., deputy chief editor, PhD in biological sciences (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Arkhipova D.R., science editor, PhD in biological sciences (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Medvedeva A.Yu., translator (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Editorial Staff:

Vasilevich F.I., academician RAS (Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin)

Gorohov V.V., doctor of biological sciences, professor (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Dahno I.S., doctor of veterinary sciences, professor (Sumy National Agrarian University, Ukraine)

Movsessyan S.O., academician of the National Academy of Sciences of Armenia Republic, corresponding member of the RAS (Center for Parasitology of the A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the RAS)

Nacheva L.V., doctor of biological sciences, professor (Kemerovo State Medical Academy)

Nikitin V.F., doctor of veterinary sciences, professor (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Safiullin R.T., doctor of veterinary sciences, professor (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia)

Sergiev V.P., academician of the RAS (E.I. Martsynovsky Institute of Medical Parasitology and Tropical Medicine at I.M. Sechenov Moscow Medical Academy)

Suleymenov M.Zh., doctor of veterinary sciences (Kazakh Scientific Research Veterinary Institute, Kazakhstan)

Shestepurov A.A., doctor of biological sciences, professor (All-Russian Scientific Research Institute of Helminthology named after K.I. Skryabin)

Yakubovsky M.V., doctor of veterinary sciences, professor (S.N. Vysheslesky Institute of Experimental Veterinary Medicine, Belorussia)

Bankov I., professor (Institute of Experimental Parasitology and Pathology, Bulgarian Academy of Sciences (BAS) Sofia)

Cabai W., professor (Institute of Parasitology of the Polish Academy of Sciences, Warsaw)

Christopher N. Weir, BSc(BioMed) Ph.D, Division of Infection and Immunity at the Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research (Melbourne, Australia)

Dubinsky P., professor (Parasitological Institute of Slovak Academy of Sciences, Kosice, Slovakia)

Malczewski A., professor (Institute of Parasitology of the Polish Academy of Sciences, Warsaw)

Mosaab Adl Aldin Omar Mohammed, doctor, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, South Valley University (Kena, Egypt)

Moser M., professor, Center for Basic Research in Parasitic Diseases, University San Francisco, California, USA

Petko B., professor (Parasitological Institute of Slovak Academy of Sciences, Kosice, Slovakia)



СОДЕРЖАНИЕ

ФАУНА, МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА ПАРАЗИТОВ

КУЧБОЕВ А. Э., КАРИМОВА Р. Р., РУЗИЕВ Б. Х., САЛАХУТДИНОВ И. Б., ЭГАМБЕРДИЕВ Ш. Ш. Морфологическая и молекулярная характеристика некоторых видов нематод семейства Protostrongylidae Leiper, 1926 7–14

ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЯ ПАРАЗИТОВ

ПАНАЙОТОВА-ПЕНЧЕВА М. С., МОВСЕСЯН С. О., САЛКОВА Д. С., ВОРОНИН М. В. Исследование восприимчивости *Helix pomatia* (Mollusca, Helicidae) к протостронгилидам (Nematoda: Protostrongylidae) при многократном заражении. 15–19

ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МОНИТОРИНГ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

ПАШАЕВ В. Ш., АЛИЕВ Ш. К., КАБАРДИЕВ С. Ш., БИТТИРОВ А. М., БЕГИЕВ С. Ж. Распространение нематоды *Gonguleta caucasica* у диких и синантропных птиц на территории Кабардино-Балкарского высокогорного заповедника 20–22

РЕШЕТНИКОВ А. Д., БАРАШКОВА А. И. База данных «Эпизоотический мониторинг паразитарных болезней животных Якутии», созданная по программе NVU 23–28

СЕРБИНА Е. А., БОНИНА О. М. Динамика очагов нотокотилезов птиц в экосистеме озера Чаны (Западная Сибирь) за последние 80 лет 29–36

САМОЙЛОВСКАЯ Н. А., УСПЕНСКИЙ А. В., НОВОСАД Е. В., ГУЛЮКИН Е. А., МАЛЫШЕВА Н. С., БУРЕНКО А. С., ОРЛОВА И. И., БЕЛОУСОВА И. Н. Гемоспоридиозы сельскохозяйственных, домашних и диких животных на территории Российской Федерации 37–44

ПАТОГЕНЕЗ, ПАТОЛОГИЯ И ЭКОНОМИЧЕСКИЙ УЩЕРБ

БЕКИШ В. Я., ЗОРИНА В. В. Генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при тенидозах 45–52

ОКУЛОВА И. И., ЖДАНОВА О. Б. Патоморфологические изменения в органах дыхания и некоторые аспекты патогенеза при диктиокаулезе лося 53–60

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА

ГАВРИЛИН К. В., БЫЧКОВА Л. И., ДМИТРИЕВА С. Н., ЛИННИК А. В. Лабораторные исследования антипаразитарной активности левамизола при филлометроидозе карпа (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) 61–64

КОСОВСКИ N., GODFREY W., ELKINGTON D., WEIR C. Обзор применения противомаларийных препаратов, примеры лекарственной устойчивости и ее влияние на эффективность программ Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) 65–74

КРЯЖЕВ А. Л., НИКИТИН В. Ф. Эффективность новых антигельминтиков широкого спектра действия при гельминтозах крупного рогатого скота в условиях Вологодской области 75–79

ПЕЛЬГУНОВ А. Н. Разработка новых методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от метацеркарий *Opisthorchis felineus* Rivolta 1884 80–85

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ

БИТТИРОВ А. М., БЕГИЕВ С. Ж., БИТТИРОВА А. А., КАБАРДИЕВ С. Ш., ЭЛЬДАРОВА Л. Х., МУСАЕВ З. Г. Эмбриотропные свойства панаверма плюс на основе фенбендазола и албендазола 86–88

СЕМЕНОВА М. В., КУРОЧКИНА К. Г. Изучение иммуотоксических свойств аверсекта форте и аверсекта комби 89–93

ЯСТРЕБ В. Б., НОВИК Т. С., ДРИНЯЕВ В. А., ЧУКИНА С. И., АВЧУК С. В., ТЕР-СИМОНЯН В. Г., ЛИТВИН А. А. Фармакокинетика аверсектина C₁ и празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения препарата авертель 94–101

ПАРАЗИТЫ РАСТЕНИЙ

МИГУНОВА В. Д., РЯБЧЕНКО Н. Ф. Влияние антагонистических бактерий *Serratia plymuthica* и *Bacillus subtilis* на развитие ризоктониоза на растениях салата 102–105

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

ХУДЯКОВ А. А., САФИУЛЛИН Р. Т. Методические положения по борьбе с кокцидиозами свиней в хозяйствах промышленного типа 106–109



CONTENTS

FAUNA, MORPHOLOGY, SYSTEMATICS OF PARASITES

KUCHBOEV A.E., KARIMOVA R. R., RUZIEV B. H., SALAHUTDINOV I. B., EGAMBERDIEV Sh. Sh. Morphological and molecular characteristics of some nematode species of the family Protostrongylidae Leiper, 1926 7–14

ECOLOGY AND BIOLOGY OF PARASITES

PANAYOTOVA-PENCHEVA M. S., MOVSESYAN S. O., SALKOVA D.S., VORONIN M. V. A study of the susceptibility of *Helix pomatia* (Mollusca, Helicidae) to protostrongylid (Nematoda: Protostrongylidae) and multiple infection 15–19

EPIZOOTOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND MONITORING OF PARASITIC DISEASES

PASHAEV V. Sh., ALIYEV Sh. K., KABARDIEV S. Sh., BITTIROV A. M., BEGIEV S. J. The spread of nematodes *Gongulema caucasica* in wild and synanthropic birds on the territory of Kabardino-Balkaria State High-Mountain Reserve 20–22

RESHETNIKOV A. D., BARASHKOVA A. I. Database «Epizootic monitoring of parasitic diseases of animals in Yakutia» created according NVU program. 23–28

SERBINA E. A., BONINA O. M. Dynamics of foci of bird notocotylidosis in the ecosystem of lake Chany (Western Siberia) in the last 80 years 29–36

SAMOYLOVSKAYA N. A., USPENSKY A. V., NOVOSAD E. V., GULYUKIN E. A., MALYSHEVA N. S., BURYONOK A. S., ORLOVA I. I., BELOUSOVA I. N. Hemosporidiosis of farm, domestic and wild animals on the territory of Russian Federation. 37–44

PATHOGENESIS, PATHOLOGY AND ECONOMIC DAMAGE

BEKISH V. Ya., ZORINA V. V. Genotoxic and cytotoxic effects in host cells at taeniosis 45–52

OKULOVA I. I., ZHDANOVA O. B. Pathomorphological changes in the respiratory organs and some aspects of the pathogenesis of dictyocaulosis in elk 53–60

TREATMENT AND PROPHYLACTIC

GAVRILIN K. V., BYCHKOVA L. I., DMITRIEVA S. N., LINNIK A. V. Laboratory studies of antiparasitic activities of levamisole against philometroidosis in carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) 61–64

KOCOVSKI N., GODFREY W., ELKINGTON D., WEIR C. Reviewing anti-malarial usage and resistance patterns and its effects on World Health Organisation programs. 65–74

KRYAZHEV A. L., NIKITIN V. F. Efficacy of new broad spectrum anthelmintic drugs for treatment of helminthosis in cattle in conditions of Vologda region 75–79

PELGUNOV A. N. Elaboration of new methods for decontamination of fish and fish products from metacercariae of *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884 80–85

PHARMACOLOGY, TOXICOLOGY

BITTIROV A. M., BEGIEV S. J., BITTIROVA A. A., KABARDIEV S. Sh., ELDAROVA L. H., MUSAYEV Z. G. Embryotropic properties of a new composition of fenbendazole and albendazole (Panaverm plus) 86–88

SEMENOVA M. V., KUROCHKINA K. G. The study of immunotoxic properties of aversect forte and aversect combi 89–93

YASTREB V. B., NOVIK T. S., DRINYAEV V. A., CHUKINA S. I., AVCHUK S. V., TER-SIMONYAN V. G., LITVIN A. A. Pharmacokinetics of aversectin C₁ and praziquantel in dog blood after a single subcutaneous injection of avertel 94–101

PARASITES OF PLANTS

MIGUNOVA V. D., RYABCHENKO N. F. The influence of antagonistic bacteria *Serratia plymuthica* and *Bacillus subtilis* on affection of salad plants by *Rhizoctonia solani* 102–105

METHODOLOGICAL REGULATIONS

HUDYAKOV A. A., SAFIULLIN R. T. Methodical guidelines for the struggle against coccidiosis of pigs in factory farms 106–109



Поступила в редакцию 13.01.2015
Принята в печать 27.06.2015

УДК 619:576.895.132
DOI:10.12737/13267

Кучбоев А.Э., Каримова Р.Р., Рузиев Б.Х., Салахутдинов И.Б., Эгамбердиев Ш.Ш. Морфологическая и молекулярная характеристика некоторых видов нематод семейства Protostrongylidae Leiper, 1926 // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 7–14.
Kuchboev A.E., Karimova R.R., Ruziev B.H., Salahutdinov I.B., Egamberdiev Sh.Sh. Morphological and molecular characteristics of some nematode species of the family Protostrongylidae Leiper, 1926. Russian Journal of Parasitology, 2015, V. 3, P. 7–14.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ НЕМАТОД СЕМЕЙСТВА PROTOSTRONGYLIDAE LEIPER, 1926

А.Э. Кучбоев¹, Р.Р. Каримова¹, Б.Х. Рузиев², И.Б. Салахутдинов³, Ш.Ш. Эгамбердиев³

¹ Институт генофонда растительного и животного мира АН РУз 100053, Ташкент, ул. Бошамол, 232, e-mail: a_kuchboev@rambler.ru

² Каршинский государственный университет, Карши, Узбекистан

³ Центр геномики и биоинформатики при АН РУз, МСВХ Уз и ассоциации «Uzpakhtasanoat», Ташкент

Реферат

Цель исследования — проведение морфологической и молекулярно-генетической идентификации и изучение филогенетической взаимосвязи среди видов протостронгилид.

Материалы и методы. Гельминтологический материал собирали от диких и домашних полорогих и наземных моллюсков рода *Xeropicta* в предгорно-горных зонах Узбекистана. Морфологию протостронгилид изучали методами Боева (1975) и Anderson (1978). Для определения вида нематод готовили временные препараты, обработанные глицерином. Личинок первой стадии изучали путем исследования проб фекалий животных с учетом длины, формы хвоста и размера тела. Для изучения морфологии личинок третьей стадии протостронгилид отделяли ножки у зараженных моллюсков *Xeropicta candacharica* и помещали их в искусственный желудочный сок, где разрушался чехлик и освобождались инвазионные личинки. После определения видовой принадлежности половозрелых и личиночных стадий нематод материал хранили в отдельных пробирках с дистиллированной водой при низких температурах (–20°C) или в 70%-ном этаноле для молекулярного анализа. В работе использованы микроскопы ML 2000 с цифровой камерой и Olympus CX31. Выделение ДНК, амплификацию и секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе. Филогенетический анализ проводили при помощи программного обеспечения ClustalX 2.0. Филогенетические деревья построены при помощи метода присоединения соседей NJ (Neighbor-Joining method). Для сравнения филогенетического анализа использованы нуклеотидные последовательности ITS-2 участка видов *Protostrongylus rufescens* (EU018485), *P. shiozawai* (AB478249), *Ortostrongylus macrotis* (EU018483), *Cystocaulus ocreatus* (EU018481) и *Umingmakstrongylus pallikuukensis* (AY648409), которые получены из Генбанка (NCBI GenBank).

Результаты и обсуждение. Обнаружены половозрелые нематоды четырех видов протостронгилид: *Protostrongylus rufescens*, *P. hobmaieri*, *Spiculocaulus leuckarti* и *Cystocaulus ocreatus*. ДНК четырех видов половозрелых протостронгилид и личинок была амплифицирована с использованием ITS-2 региона. Размер амплификатов у нематоды *P. rufescens* и *P. hobmaieri* составил 380 пар нуклеотидов (п. н.), *S. leuckarti* — 388, *C. ocreatus* — 399. По результатам филогенетического анализа и сравнения нуклеотидных последовательностей у Carpiinae выявлено 5 видов протостронгилид: *Protostrongylus rufescens*, *P. hobmaieri*,

Protostrongylus sp., *Spiculocaulus leuckarti* и *Cystocaulus ocreatus*. Морфологический и молекулярно-генетический анализ выявленных нематод позволяет провести их точную идентификацию.

Ключевые слова: Protostrongylidae, полорогие, моллюски, DNA, ITS-2, нуклеотидная последовательность.

Введение

Нематоды семейства Protostrongylidae Leiper, 1926 — своеобразная группа нематод, паразитов респираторной системы жвачных и зайцеобразных. В семействе протостронгилид к настоящему времени описано 60 видов, отдельные популяции которых зарегистрированы в Европе, Азии, Америке, Африке и Австралии [1–7]. В Узбекистане у полорогих зарегистрировано 15 видов паразитов [2–4].

В биологическом отношении нематоды семейства Protostrongylidae занимают особое положение среди родственных групп. Они в процессе эволюции на всех стадиях своего развития перешли к обитанию в условиях суши. Половозрелые нематоды паразитируют у наземных млекопитающих, а личинки развиваются в наземных моллюсках, выполняющих роль промежуточных хозяев. В организме этих моллюсков, развиваются личинки второй и третьей стадий [2, 3].

Данные по молекулярному анализу нематод этой группы ограничены. В частности, убедительных фактов, касающихся частичных последовательностей из малой и большой субъединицы рибосомальной ДНК у Protostrongylidae, не обнаружено [8]. Посредством ограниченного анализа последовательностей рибосомальных ДНК 18S и 28S, выделенных из представителей таксонов Strongylida, были выведены различия в монофилии протостронгилид внутри Metastrongylina [9]. Проведены анализы на более низких таксономических уровнях, исследующие как ядерные, так и митохондриальные локусы или конформационный полиморфизм. Уделялось внимание разработке диагностики применения в географически экстенсивных регионах [9–11] или оценке генетического разнообразия видов и популяций [12, 13]. На основе сравнений и сходства последовательностей второго внутреннего транскрибирующего спейсера (ITS-2) были идентифицированы виды 7 родов протостронгилид, эндемичных для Северной Америки [11].

Дифференцированный анализ с использованием молекулярных маркеров (ядерных и митохондриальных) является крайне важным вкладом в изучении полевых коллекций взрослых паразитов и личинок. Корреляция молекулярных последовательностей между взрослыми (подтвержденная сравнительной морфологией) и личиночными стадиями паразитов приведет к первоначальной точной идентификации видов рода *Protostrongylus* и других протостронгилид. К настоящему времени не удалось обнаружить достоверных диагностических морфологических признаков сходства в строении личинок первой стадии (L1 — в фекалиях и окружающей среде) и личинок второй и третьей стадий (L2, L3 — в промежуточном хозяине) [3, 11].

Целью наших исследований было проведение морфологической и молекулярно-генетической идентификации и изучение филогенетической взаимосвязи среди видов протостронгилид.

Материалы и методы

Гельминтологический материал собирали от диких (*Capra sibirica*, *C. falconeri*, *Ovis vignei* и *O. ammon*) и домашних (*C. hircus* и *O. aries*) полорогих и наземных моллюсков *Xeropicta candacharica* в предгорно-горных зонах Наманганской, Ташкентской, Джизакской и Сурхандарьинской областей Узбекистана.

Для изучения морфологии протостронгилид использовали методы Боева [2] и Anderson [7]. Для определения таксономической принадлежности этих нематод готовили временные препараты, обработанные глицерином.

Личинок первой стадии (L1) изучали путём исследования проб фекалий диких и домашних полорогих. При этом учитывали морфологические признаки личинок без дорсального кутикулярного шипа у вершины хвоста (для видов Protostrongylinae) и с шипом (для видов Muelleriinae, Vareststrongylinae и др.), а также длину и форму хвоста и размеры тела.



Для изучения личинок третьей стадии (L3) протостронгилид отделяли ножки у зараженных моллюсков *X. candacharica* и помещали их в искусственный желудочный сок, где разрушался чехлик и освобождались инвазионные личинки.

После определения видовой принадлежности половозрелых и личиночных стадий нематод материал хранили в отдельных пробирках с дистиллированной водой при низких температурах (-20°C) или в 70%-ном этаноле для молекулярного анализа.

В работе использованы микроскопы ML 2000 с цифровой камерой и Olympus CX31.

Для изучения филогенетических взаимодействий протостронгилид использовали частичные нуклеотидные последовательности рибосомальной ДНК (ITS2).

Реакцию ПЦР проводили с использованием геномной ДНК в концентрации 10 нг, 2,5 мкл 10 × Taq буфера, 0,2 мкл дНТФ (нуклеиновые трифосфаты ДНК), 25 Ммоль каждая, 5 пикомоль/мкл праймера, где прямой праймер ITS-2 F (5'-ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT-3') и обратный ITS-2 R (5'-TTAGTTTCTTTTCTCCGCT-3'), 0,2 мкл Taq полимеразы (5 ед./мкл), воды до 25 мкл в следующем температурном режиме: 94°C в течение 30 с, 40 циклов (94°C в течение 10 с, 55°C 30 с, 72°C в течение 30 с) и финальная амплификация: 72°C в течение 10 мин. ПЦР продукты очищали при помощи кита «DNA Clean & Concentrator™-5». Секвенирование осуществляли на автоматическом секвенаторе (ABI 3730xl) в Европейском геномном и диагностическом центре «GATC Biotech AG» (Konstanz, Германия).

Полученные последовательности образцов нематод были исправлены и выравнены при помощи программного обеспечения «Sequencher 4.9». В качестве контролей использовали референтные последовательности из базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Филогенетический анализ проводили при помощи программного обеспечения ClustalX 2.0 [14]. Филогенетические деревья были построены при помощи метода присоединения соседей NJ (Neighbor-Joining method).

Для сравнения филогенетического анализа использовали нуклеотидные последовательности ITS-2 участка видов *Protostrongylus rufescens* (EU018485), *P. shiozawai* (AB478249), *Ortostrongylus macrotis* (EU018483), *Cystocaulus ocreatus* (EU018481) и *Umingmakstrongylus pallikuukensis* (AY648409), которые получены из Генбанка (NCBI GenBank).

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований у домашних и диких животных обнаружены половозрелые нематоды четырех видов протостронгилид: *Protostrongylus rufescens* (Leuckart, 1865), *P. hobmaieri* Cameron, 1934, *Spiculocaulus leuckarti* Schulz, Orlov et Kutass, 1933 и *Cystocaulus ocreatus* (Railliet and Henry, 1908).

Изучено морфологическое строение L1 *Protostrongylus sp.*, выделенных из фекалий коз (рис. 1). Личинки протостронгилид L1 с экскрементами выделяются из организма definitivo хозяина. Они, в общих чертах, очень схожи по морфологии [3, 10]. Тело личинок покрыто двухконтурной, слегка исчерченной кутикулой. Терминально расположенное ротовое отверстие ведет в ротовую капсулу. Пищевод цилиндрический, сзади слегка расширенный. Его длина равна почти половине всей длины личинки.

Длина тела личинок колеблется в пределах 306–380, а ширина — 19–24 мкм (рис. 1). Нервное кольцо окружает пищевод. Ближе к его середине, на вентральной стороне, открывается экскреторное отверстие. Кишечник переходит в тонкий ректум и заканчивается анальным отверстием. Между кишечником и кутикулой, в задней части тела личинки, лежит половой зачаток. Он имеет овальную форму и состоит из двух клеток. Задний конец тела личинки заканчивается заостренным хвостом.

Указанные личинки характеризуются отсутствием дорзального кутикулярного шипа у вершины хвоста. Анализируя морфологические признаки можно констатировать то, что эти личинки принадлежат одному из родов подсемейству Protostrongyliinae Kamensky, 1905. Для подтверждения этого предположения проведены молекулярно-генетические исследования.

На рисунке 2 показана L3 с темно-коричневым ребровидным чехликом, изолированная из моллюска *X. candacharica*. Морфология L3 протостронгилид в промежуточном хозяине коренным образом отличается от L1.

Длина тела L3 — 682–690, ширина — 55–60 мкм (рис. 2).

Дифференциация L3 осуществляется после формирования чехлика. После освобождения от чехлика личинка малоподвижна, а ее внутренняя структура аналогична другим видам инвазионных личинок протостронгилид.

ДНК 4 видов половозрелых протостронгилид и образцов личиночных стадий была амплифицирована с использованием ITS-2 региона. Размер амплификатов анализировали при помощи гель-электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле. Было выявлено, что размер амплификатов у нематоды *P. rufescens* и *P. hobmaieri* составляет 380 пар нуклеотидов (п. н.), *S. leuckarti* — 388, *C. ocreatus* — 399. L3 имеет одинаковый молекулярный размер, аналогичный видам нематод рода *Protostrongylus* и составляет 380 п. н. А L1 домашних коз (без кутикулярного шипика у вершины хвоста) имеет около 400 п. н.

Амплификаты были очищены и секвенированы на генетическом анализаторе. Полученные нуклеотидные последовательности были сравнены с опубликованными последовательностями региона ITS-2 при помощи BLAST международного генетического банка NCBI (blast.ncbi.nlm.nih.gov). Оказалось, что определенная нами последовательность (кроме вида *P. rufescens*) не была ранее депонирована в электронную базу данных GenBank и является новой для нее. Сиквенсы, полученные в ходе исследования, депонированы в NCBI GenBank (табл. 1). Было выявлено что последовательности L3 протостронгилид коррелировали с данными NCBI, так же идентифицирован вид личинок, как *P. rufescens*. Этот факт подтверждает материал, приведенный в филограмме (рис. 3). В то время как для L1 *Protostrongylus* sp., соответствующий вид в Генбанке не найден и он пока аналогичен с родом *Protostrongylus*.



Рис. 1. Микрофотография личинки первой стадии *Protostrongylus* sp. (увеличение 400 ×): а — головной конец; б — пищеводно-кишечный переход; в — нервное кольцо; г — экскреторное отверстие; д — кишечник; е — половой зачаток; ж — анус; з — хвост

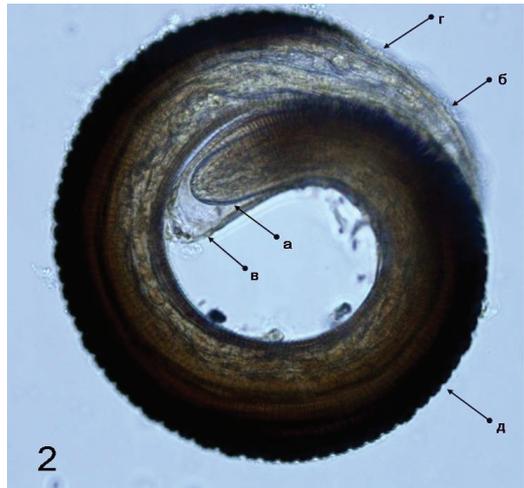


Рис. 2. Личинки третьей стадии протостронгилид, извлеченные из ноги моллюска (увеличение 400 ×): а — головной конец; б — хвостовой конец; в-г — хитинизированные бороздки на головной и хвостовой частях личинки; д — панцирь

Филогенетический анализ проводили сравнением нуклеотидных последовательностей для каждого образца по ITS-2 региону. Филогенетические деревья были построены нами при помощи методов присоединения соседей NJ (Neighbor-Joining method). Данный подход был выбран нами по следующим причинам. Метод NJ является наиболее распространенным дистанционным методом построения деревьев. В методе NJ в кластер объединяются последовательности, дающие наименьшую сумму всех ветвей дерева, т. е. учитывают и длины остальных ветвей. При этом в отличие от UPGMA длины ветвей, выходящих из одного узла, могут быть и не равны между собой. Такой подход позволяет видеть более точные филогенетические отношения [14]. Поэтому для верификации данных мы использовали и метод NJ и бутстрап анализ (1000 репликаций).



Таблица 1

Номера полученных сиквенсов ITS-2 в базе данных NCBI GenBank

Вид нематод	Стадия	Образец	Регистрированные номера в GenBank
<i>Protostrongylus rufescens</i>	Имаго	AK1a	KF811499
<i>P. rufescens</i>	Имаго	AK4	KF811498
<i>P. rufescens</i>	Имаго	AK5	KF811497
<i>P. rufescens</i>	Имаго	AK7a	KF811495
<i>P. rufescens</i>	L3	AK16a	KF811494
<i>P. rufescens</i>	L3	AK17a	KF811493
<i>P. hobmaieri</i>	Имаго	AK8	KF811491
<i>P. hobmaieri</i>	Имаго	AK13	KF811492
<i>P. hobmaieri</i>	Имаго	AK23	KF811490
<i>P. hobmaieri</i>	Имаго	AK26	KF811489
<i>Spiculocaulus leuckarti</i>	Имаго	AK14a	KF811488
<i>Protostrongylus</i> sp.	L1	AK19b	KF811500
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	Имаго	AK2a	KF811487
<i>Metastrongylus elongatus</i>	Имаго	AK29	KF811486

Филогенетический анализ с использованием метода NJ 19 образцов нематод различных видов позволил распределить их на 3 различных кластера (рис. 3). В качестве корневого образца был использован образец *Metastrongylus salmi* (Gedoelst, 1923). Первый кластер представлен образцом *M. salmi* (отличающийся на 18 % от второго и третьего кластеров). Второй кластер представили образцы *P. shiozawai*, *Protostrongylus* sp., *S. leuckarti*, *O. macrotis*, *P. hobmaieri* и *P. rufescens*, оказавшиеся довольно близкими видами на генетическом уровне. Третий кластер включал в себя виды *C. ocreatus* и *U. pallikuukensis*, показывающие также близкое генетическое родство.

Второй кластер также можно разделить на пять различных групп: группа 1 — *P. shiozawai* и *Protostrongylus* sp., показывающие близкое генетическое родство, 2 — *S. leuckarti*, 3 — *O. macrotis*, 4 — представители *P. hobmaieri* и 5 — представители *P. rufescens*.

По результатам проведенных исследований у Carpiinae выявлено 5 видов протостронгилид: *P. rufescens*, *P. hobmaieri*, *Protostrongylus* sp., *S. leuckarti* и *C. ocreatus*. Морфологический и молекулярно-генетический анализ выявленных нематод позволяет провести их точную идентификацию, в том числе эндемичных протостронгилид.

Результаты этих исследований позволяют расширить взгляды по затронутой проблеме и способствуют идентификации географических разновидностей паразитов.

Литература

1. Азимов Д. А., Акрамова Ф. А., Хусанов А., Кучбоев А. Э. Структура и функционирование нематод семейства Protostrongylidae Leiper, 1926 // Докл. АН РУз. — Ташкент, 1998. — №10. — С. 39–41.
2. Боев С. Н. Основы нематодологии. Протостронгилиды. — М.: Наука, 1975. — Т. 25. — 266 с.
3. Контримавичус В. Л., Делямуре С. Л., Боев С. Н. Основы нематодологии. Метастронгилоидеи домашних и диких животных. — М.: Наука, 1976. — Т. 26. — 239 с.
4. Кулмаматов Э. Н., Исакова Д. Т., Азимов Д. А. Гельминты позвоночных горных экосистем Узбекистана. — Ташкент: Фан, 1994. — 151 с.
5. Кучбоев А. Э. Популяционная экология, систематика нематод семейства Protostrongylidae Leiper, 1926 и функционально-метаболические процессы в системе «паразит–хозяин»: Автореф. дис... д-ра биол. наук. — Ташкент, 2009. — 43 с.
6. Рузиев Б. Х. Ассоциативная инвазия протостронгилидами овец и морфо-функциональные взаимоотношения в системе «паразит–хозяин»: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Ташкент, 2008. — 21 с.
7. Anderson R. C., Chabaud A. G., Willmott S. Key to genera of the superfamily Metastrongyloidea. — No. 5. CIN Keys to the nematode parasites of vertebrates. — Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK. — 1978. — P. 1–40.

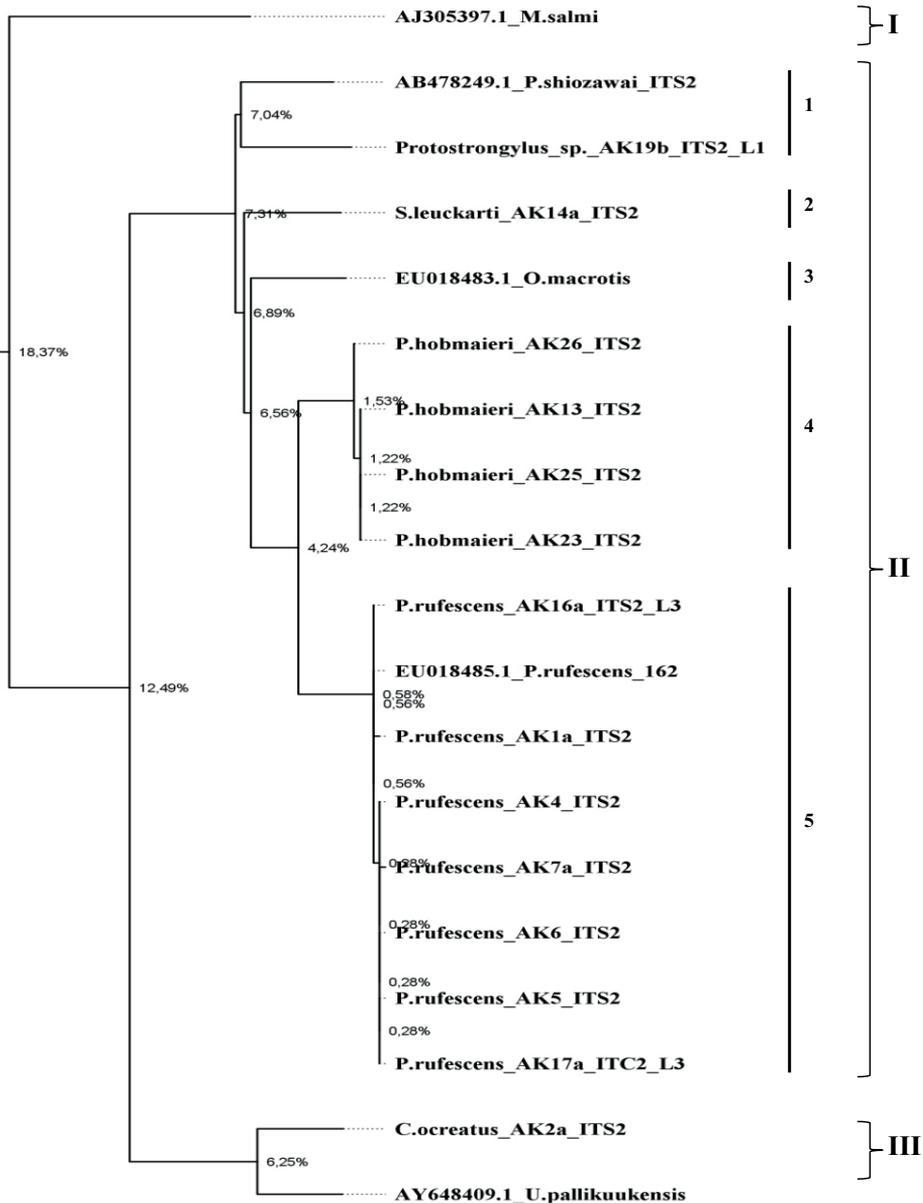


Рис. 3. Укоренённое филогенетическое дерево, построенное при помощи метода NJ (1000 повторений) для 19 образцов нематод различных видов. В качестве корневого вида был использован образец нематод *Metastrongylus salmi*

8. Carreno R. A., Nadler S. A. Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences // J. of Parasitology. — 2003. — Vol. 89. — P. 965–973.

9. Chilton N. B., Huby–Chilton F., Gasser R. B., Beveridge I. The evolutionary origins of nematodes within the order Strongylida are related to predilection sites within hosts // Molecular Phylogenetics and Evolution. — 2006. — Vol. 40. — P. 118–128.

10. Jenkins E. J., Appleyard G. D., Hoberg E. P. et al. Geographic distribution of the muscle-dwelling nematode *Parelaphostrongylus odocoilei* in North America, using molecular identification of first stage larvae // J. of Parasitology. — 2005. — Vol. 91. — P. 574–584.



11. Kutz S. J., Asmundsson I., Hoberg E. P. et al. Veitch A Serendipitous discovery of a novel protostrongylid (Nematoda: Metastrongyloidea) in caribou (*Rangifer tarandus*), muskoxen (*Ovibos moschatus*) and moose (*Alces alces*) from high latitudes of North America based on DNA sequence comparisons // Canadian J. of Zoology. — 2007. — Vol. 85. — P. 1143–1156.
12. Mortenson J. A., Abrams A., Rosenthal B. et al. *Parelaphostrongylus odocoilei* in Columbian black-tailed deer from Oregon // J. of Wildlife Diseases. — 2006. — Vol. 42. — P. 527–535.
13. Asmundsson I., Mortenson J., Hoberg E. P. Muscleworms, *Parelaphostrongylus andersoni* (Nematoda: Protostrongylidae), discovered in Columbia white-tailed deer from Oregon and Washington: Implications for biogeography and host associations // J. of Wildlife Disease. — 2008. — Vol. 44. — P. 16–27.
14. Larkin M. A., Blackshields G., Brown N. P. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. // Bioinformatics. — 2007. — Vol. 23. — P. 2947–2948.

References

1. Azimov D. A., Akramova F. A., Husanov A., Kuchboev A. E. Structure and functioning of nematodes of the family Protostrongylidae Leiper, 1926. *Dokl. AN RUz*. [Proc. of Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan]. Tashkent, 1998, no. 10, pp. 39–41.
2. Boev S. N. *Osnovy nematodologii. Protostrongilidy* [Essentials of Nematodology. Protostrongylids]. Moscow, Nauka, 1975, vol. 25. 266 p.
3. Kontrimavichus V. L., Delyamure S. L., Boev S. N. *Osnovy nematodologii. Metastrongiloidei domashnih i dikih zhivotnyh*. [Essentials of Nematodology. Metastrongylidae in domestic and wild animals.]. Moscow, Nauka, 1976, vol. 26. 239 p.
4. Kulmatov E. N., Isakova D. T., Azimov D. A. *Gel'minty pozvonochnyh gornyh ekosistem Uzbekistana* [Helminthes in vertebrates of mountain ecosystems of Uzbekistan]. Tashkent, Fan, 1994. 151 p.
5. Kuchboev A. E. *Populyatsionnaya ekologiya, sistematika nematod semeistva Protostrongylidae Leiper, 1926 i funktsional'no-metabolicheskiye processy v sisteme «parazit–hozyain»: Avtoref. dis... d-ra biol. nauk*. [Population ecology, systematics of the nematode family Protostrongylidae Leiper, 1926, functional and metabolic processes in host — parasite relationship. Abst. doct. diss... biol.sc.]. Tashkent, 2009. 43 p.
6. Ruziev B. H. *Assosiativnaya invaziya protostrongilidami ovets i morfo-funktsional'nye vzaimootnosheniya v sisteme «parazit–hozyain»: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk*. [Associative protostrongylid infection in sheep, and morphological and functional relationship of “host — parasite” system. Abst. Phd diss... biol. sc.]. Tashkent, 2008. 21 p.
7. Anderson R. C., Chabaud A. G., Willmott S. Key to genera of the superfamily Metastrongyloidea. No. 5. CIH Keys to the nematode parasites of vertebrates. — Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK, 1978, pp. 1–40.
8. Carreno R. A., Nadler S. A. Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. *J. of Parasitology*, 2003, vol. 89, pp. 965–973.
9. Chilton N. B., Huby–Chilton F., Gasser R. B., Beveridge I. The evolutionary origins of nematodes within the order Strongylida related to predilection sites within hosts. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, vol. 40, pp. 118–128.
10. Jenkins E. J., Appleyard G. D., Hoberg E. P. et al. Geographic distribution of the muscle-dwelling nematode *Parelaphostrongylus odocoilei* in North America, using molecular identification of first stage larvae. *J. of Parasitology*, 2005, vol. 91, pp. 574–584.
11. Kutz S. J., Asmundsson I., Hoberg E. P. et al. Veitch A Serendipitous discovery of a novel protostrongylid (Nematoda: Metastrongyloidea) in caribou (*Rangifer tarandus*), muskoxen (*Ovibos moschatus*) and moose (*Alces alces*) from high latitudes of North America based on DNA sequence comparisons. *Canadian J. of Zoology*, 2007, vol. 85, pp. 1143–1156.
12. Mortenson J. A., Abrams A., Rosenthal B. et al. *Parelaphostrongylus odocoilei* in Columbian black-tailed deer from Oregon. *J. of Wildlife Diseases*, 2006. vol. 42, pp. 527–535.
13. Asmundsson I., Mortenson J., Hoberg E. P. Muscleworms, *Parelaphostrongylus andersoni* (Nematoda: Protostrongylidae), discovered in Columbia white-tailed deer from Oregon and Washington: Implications for biogeography and host associations. *J. of Wildlife Disease*, 2008, vol. 44, pp. 16–27.
14. Larkin M. A., Blackshields G., Brown N. P. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 2007, vol. 23, pp. 2947–2948.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13267

Article history:

Received 13.01.2015

Accepted 27.06.2015

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF SOME NEMATODE SPECIES OF THE FAMILY PROTOSTRONGYLIDAE LEIPER, 1926

Kuchboev A.E.¹, Karimova R.R.¹, Ruziev B.H.², Salahutdinov I.B.³, Egamberdiev Sh.Sh.³

¹ Institute of plants and animals genofond at Academy of Sciences of Uzbekistan, 100053, Tashkent, 232 Bogishamol St., e-mail: a_kuchboev@rambler.ru

² Karshi State University, Karshi, Uzbekistan

³ Center of Genomics and Bioinformatics at Academy of Sciences of Uzbekistan, Ministry of Agriculture and Water Resources and the Association «Uzpahtasanoat», Tashkent

Abstract

Objective of research: conducting morphological and molecular-genetic identification and studying phylogenetic relations between protostrongylids.

Materials and methods: helminthological material was collected from wild (*Capra sibirica*, *C. falconeri*, *Ovis vignei* and *O. ammon*) and domestic hollow horned ruminants (*C. hircus* and *O. aries*), and land mollusks of the family Xeropicta in the piedmont and mountain area of Uzbekistan. The morphology of protostrongylids was studied using the methods of Boev (1975) and Anderson (1978). To identify the nematode type we used temporary preparations treated with glycerol. The first-stage larvae were investigated by examination of fecal samples from animals taking into account the length, tail form and body size. To study the morphology of the third-stage protostrongylid larvae the feet of infected mollusks *Xeropicta candacharica* were separated and placed into the artificial gastric juice where the cap was destroyed and the infected larvae were eliminated. After determination of species belonging of mature and larval nematodes the material was stored in separate test-tubes with distilled water under the low temperature (-20°C) or in 70 % Ethanol for the molecular analysis. We used microscopes ML 2000 with a digital camera and Olympus CX3. DNA extraction, amplification and sequencing were performed with an automated sequencer. Phylogenetic analysis was conducted using the software Clustal X 2.0. Phylogenetic trees were created by the Neighbor-Joining method. Nucleotide sequences ITS-2 regions of species *Protostrongylus rufescens* (EU018485), *P. shiozawai* (AB478249), *Ortostrongylus macrotis* (EU018483), *Cystocaulus ocreatus* (EU018481) and *Umingmakstrongylus pallikuukensis* (AY648409) received from the NCBI GenBank were used in phylogenetic analysis.

Results and discussion: Four species of adult protostrongylid nematodes: *Protostrongylus rufescens*, *P. hobmaieri*, *Spiculocaulus leuckarti* and *Cystocaulus ocreatus* were determined. DNA from four species of mature protostrongylids and larvae was amplified by using ITS-2 regions. Amplificate dimension of nematodes *P. rufescens* and *P. hobmaieri* was 380 base pairs (b.p.), *S. leuckarti* — 388, *C. ocreatus* — 399 b.p. According to the results of phylogenetic analysis and comparison of nucleotide sequences, five protostrongylid species were found in animals of the Caprinae subfamily: *P. rufescens*, *P. hobmaieri*, *Protostrongylus sp.*, *S. leuckarti* and *C. ocreatus*. The morphological and molecular-genetic analysis of detected nematodes enables the precise identification.

Keywords: Protostrongylidae, hollow-horned, mollusks, DNA, ITS-2, nucleotide sequence.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 02.03.2015
Принята в печать 15.04.2015

УДК 619:616.995.132:576.894
DOI:10.12737/13268

Панайотова-Пенчева М.С., Мовсесян С.О., Салкова Д.С., Воронин М.В. Исследование восприимчивости *Helix pomatia* (Mollusca, Helicidae) к протостронгилидам (Nematoda: Protostrongylidae) при многократном заражении // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 15–19.
Panayotova-Pencheva M.S.¹, Movsesyan S.O.^{2,3}, Salkova D.S.¹, Voronin M.V.² a Study of the susceptibility of *Helix pomatia* (Mollusca, Helicidae) to protostrongylid (Nematoda: Protostrongylidae) and multiple infection // Russian journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 15–19.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОСПРИИМЧИВОСТИ *HELIX POMATIA* (MOLLUSCA, HELICIDAE) К ПРОТОСТРОНГИЛИДАМ (NEMATODA: PROTOSTRONGYLIDAE) ПРИ МНОГОКРАТНОМ ЗАРАЖЕНИИ

М.С. Панайотова-Пенчева¹, С.О. Мовсесян^{2,3}, Д.С. Салкова¹, М.В. Воронин²

¹ Институт по экспериментальной морфологии, патологии и антропологии с музеем БАН София, ул. акад. Г. Бончева, бл. 25, e-mail: marianaspr@abv.bg

² Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН 119071, Москва, Ленинский проспект, 33, e-mail: movsesyan@list.ru

³ Институт зоологии НЦЗиГ НАН РА, 0014, Ереван, ул. П. Сеевака 7

Реферат

Цель исследования — изучение восприимчивости моллюсков вида *Helix pomatia* к протостронгилидам при многократном заражении.

Материалы и методы. Экспериментальное заражение моллюсков вида *H. pomatia* (Mollusca, Helicidae) протостронгилидами (Nematoda: Protostrongylidae) осуществляли последовательно 4 раза через каждые 14–20 сут. Через 2 недели после каждого очередного заражения часть моллюсков вскрывали с целью определения экстенсивности и интенсивности инвазии (ИИ), коэффициента внедрения личинок в моллюсков, стадии развития в моллюсках. Личинок протостронгилид получали из ноги моллюска, которую отсекали и исследовали под микроскопом компрессорным методом. Полученные результаты обработали статистически, используя программу Statistica 7.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что после каждого нового заражения ИИ и коэффициент внедрения повышаются. Данные исследований показали, что моллюски остаются восприимчивыми к инвазии протостронгилидами в условиях многократного заражения. После 3 и 4-го заражений относительное число внедрившихся в моллюсков личинок меньше, по сравнению с 1 и 2-м инвазированием. Это означает, что у хозяина существуют механизмы, ограничивающие увеличение интенсивности инвазии протостронгилидами в условиях повторяющихся заражений.

Ключевые слова: *Helix pomatia*, протостронгилиды, экспериментальное заражение, чувствительность к повторному заражению.

Introduction

Protostrongylidae (Nematoda) are widely distributed parasites infecting ruminants, lagomorphs and carnivores and causing high economic damage. Various species from this family have been found at Europe, Asia, Africa and Australia [5]. They are biohelminths having mollusks, mainly land snails (Gastropoda: Pulmonata) as intermediate hosts. Infection of these intermediate hosts is performed by stage 1 larvae from feces of a definitive host. During development in a mollusk



organism, larvae transform after 2 molting into infective stage 3 larvae. After being swallowed by definitive hosts they develop into adult forms.

There are a lot literature data of studies of mollusks' susceptibility to infections and formation of immunity in these invertebrates which play highly important part in various helminths' life cycles. Particularly interesting are studies of protective reactions' mechanisms of gastropods in cases of trematode infections where they play part of intermediate hosts. This aspect is analyzed in depth in fundamental works of Ataev, Polevshchikov [1], Ataev, Dyachkov, Polevshchikov [2], Be'er [3], Be'er, Voronin [4]. These works present results of comparative immunological analysis of protective reactions of gastropods, e. g. *Biomphalaria glabrata*, *Lymnaea stagnalis* to infection with trematodes *Schistosoma mansoni*, *Trichobilharzia ocellata*, *Opisthorchis felineus*, etc.

Main factors of cell immunity of mollusks according to most authors are: a) phagocytosis removing remains of degrading parasites and taking part in encapsulation; b) leukocytosis, i. e. fast increase in leukocytes and amoebocytes numbers in response to helminths' presence; c) nacrezation in response to parasites' irritating effect, such as with pearl formation; d) incapsulation when cell elements concentrate and form capsule around alien body. It was a common opinion for a long time that protective reactions of invertebrates have antigene-nonspecific character, which was based on a point of view of absence of molecules of immunoglobulin suprafamily in invertebrates. However, studies of latter years have shown that haemocytes of mollusks playing the leading part in their immunity have a full complex of features characteristic for any phagocyte taking part in reactions of inborn immunity in multicellular animals regardless of their organization levels [2]. Also a presence of immunoglobulin-like molecules and mRNA receptor to adrenocorticotropic vertebrate hormone have been demonstrated, showing a long history and high evolutionary conservatism of immunity mechanisms.

Resistance of mollusks to infection with these parasites is as a rule specific at population level and may be characterized with a specific (non-zero) level of infection with parasites from local populations and with low level of mortality of the infected mollusks. It should be also noted that compatibility between various dems of mollusks and trematodes developed in the course of their coevolution may be broken under effects of changing environment factors. In such cases there is a possibility of development of temporary or pseudoresistance [3] to trematode infection which should be taken into consideration in studies of mollusk immunity.

So, in mechanisms of formation of gastropode response to parasite infections both cell and humoral factors play an important part.

Recently, several experimental studies of complex relationships inside «parasite–host» systems, including «Protostrongylidae–mollusks» system were performed [7–10, 13]. Our team had also performed some studies in this area [6, 11, 12]. However, there are still no such studies or precise data on establishment of immunity in intermediate hosts after being infected with Protostrongylidae. So, this work had been performed to study a character of susceptibility of *Helix pomatia* mollusks to Protostrongylidae in repetitive infections conditions. A choice of intermediate host was based on preliminary data about its susceptibility to infections with small lung nematodes. Also, it had proved itself the most appropriate object for work in experimental conditions [11].

Materials and methods

The experiment used juvenile mollusks from species *Helix pomatia* (Mollusca, Helicidae). To exclude mollusks naturally infected with Protostrongylidae they were collected from locations free from ruminants' grazing. Larvae of stage 1 were taken from sheep and goat feces. For active stage 1 larvae feces probes were studied using Vaida method. Eighty specimens of mollusks collected have been infected. Four consecutive infections were performed after each 14–20 days. After each 2 weeks after each consecutive infection 20 mollusk specimens were dissected and infection parameters analyzed. The mollusks' experimental infections were performed as follows: feces with highly active larvae were placed into a glass jar. Mollusks remained in the feces for 1,5 hr. Then they were kept in glass aquariums on soil at 20–25 °C. High air humidity in aquariums was provided for through regular water spraying; mollusks were fed with grass and



leaves. Before dissection, their length and weight were measured. Protostrongylidae larvae were obtained from mollusk foot which was diced and studied under microscope using compression method. Numbers of larvae in each mollusk foot were counted and their stage of development noted. For higher reliability of the results obtained the so-called infestation coefficient (numbers of larvae per 1 g of muscle mass) was used. Statistical processing of the results was performed using Statistica 7 (Star Soft, Inc).

Results and discussion

Total weight of mollusks from the 1st group (single infection) before dissection was 26,94 g, total parasite load was 5927 larvae and infestation coefficient — 220 larvae per 1 g. The same parameters for 2nd, 3rd and 4th groups were, respectively: weight — 34,03 g, parasite load — 8680 larvae, infestation coefficient — 255 larvae/g; 30,3 g, 9692 larvae, 320 larvae/g; 32,93 g, 10667 larvae and 324 larvae/g. Graphical representation of these results can be seen at Fig. 1. It shows that weights of mollusks from all groups have no significant differences. However, parasite load and infestation coefficient increase after each subsequent infection. Basing on the results obtained we may reach a conclusion that the mollusks are sensitive to subsequent infection and, so, do not gain full immunity.

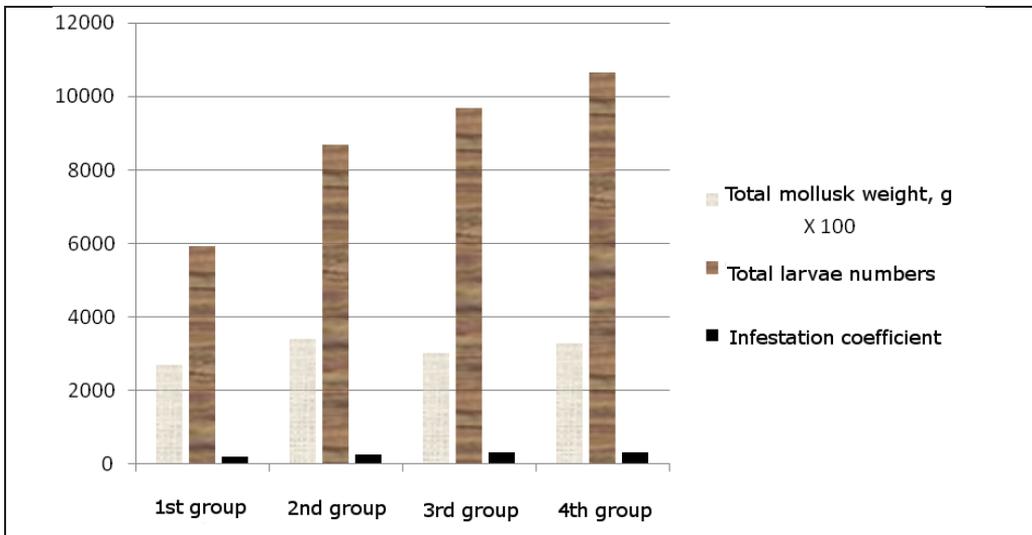


Fig. 1. Results of experimental infections of *Helix pomatia* mollusks with Protostrongylidae

However, there are some nuances here. Development of the larvae inside mollusks from the 1st group (single infection) have led to formation of stage 2 larvae (Fig. 2). The development inside mollusks of the 2nd group produced helminths of stage 2 and stage 3 (Fig. 3) in about equal numbers. After 3rd and 4th infections we have found mostly stage 3 larvae (Fig. 4).

Decrease of numbers of larvae at «fresh» stages after subsequent infections means that after 3rd and 4th infections relative numbers of the larvae infesting the mollusks are less than that after 1st and 2nd ones. These results prove that the mollusk host studied has mechanisms able to partially restrict intensity of Protostrongylidae infestation in conditions of subsequent infections. These data are in accord with those in works of Ataev [2, 3] and Be'er [4] and literature data given in these for other mollusk species and trematode parasites.

An interesting fact should be noted here: after compression of significant part of mollusks from 3rd and 4th groups we have found inside them an aggregation of specific darkly colored cells around stage 3 larvae (Fig. 5). Such host reaction may be explained as a start of encapsulation, restriction and elimination of the parasites. It was seen 1,5 months post infection.

Conclusions

An analysis of the data obtained allows us to propose that experiments performed show a complexity of relationships inside «parasite–host» system, for further clarification of which subsequent studies are necessary.

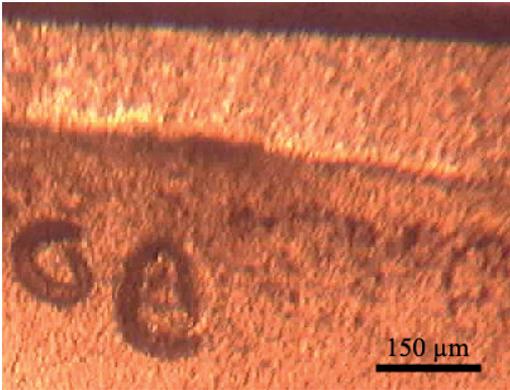


Fig. 2. The foot of *Helix pomatia* experimentally infected with Protostrongylidae (compression; stage 2 larvae)

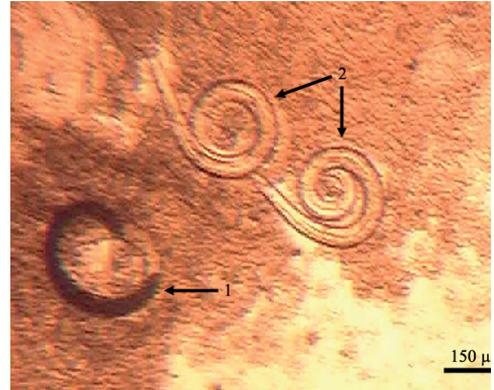


Fig. 3. The foot of *Helix pomatia* experimentally infected with Protostrongylidae (compression; 1 — stage 2 larvae; 2 — stage 3 larvae)

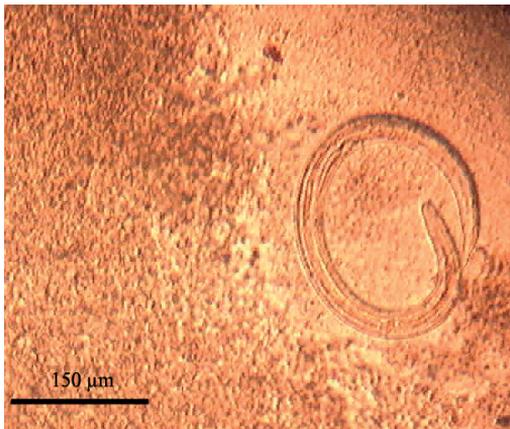


Fig. 4. The foot of *Helix pomatia* experimentally infected with Protostrongylidae (compression; stage 3 larvae)

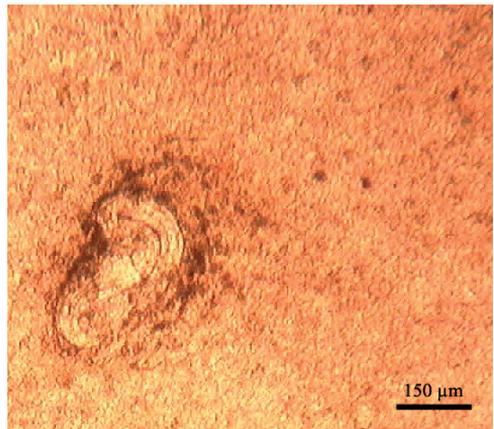


Fig. 5. The foot of *Helix pomatia* experimentally infected with Protostrongylidae (compression; stage 3 larva and an aggregation of host cells around it)

Acknowledgements

This work is performed in a framework of scientific cooperation project between Bulgarian Academy of Science and Russian Academy of Science (2012–2014).

References

1. Ataev G. L., Polevshchikov A. V. Zashchitnye reaktzii bryukhonogikh molluskov. 1. Kletochnye reaktzii // Rossijskij parazitologicheskij zhurnal. — 2004. — 38 (4). — p. 342–351. Russian.
2. Ataev G. L., Dyachkov I. S., Polevshchikov A. V. Sravnitelno-immunologicheskij analiz zashchitnykh reaktzij bryukhonogikh molluskov // Izvestiya Rossijskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta im. A. I. Herzena. — 2005. — 13 (5). — p. 265–282. Russian.
3. Be'er S. A. Biologiya vzbuditelya Opisthokhoza. — Moscow: Nauka, 2005. Russian.
4. Be'er S. A., Voronin M. V. Biologiya vzbuditel' Schistosomozov. — Moscow: KMK Ltd, 2011. Russian.
5. Contrimavychus V. L., Delyamure S. L., Boev S. N. Osnovy nematodologii. v. 26; Metastrongyloidea domashnikh i dikikh zhivotnykh. — Moscow: Nauka, 1976. Russian.



6. Panayotova–Pencheva M., Movsesyan S., Boykhchyan G. Spetsifichnost v sisteme «parasit–hozyain» (Protostrongylidae–mollusks) // In: Materialy mezhdunarodnoj nauchnoj konferentsii «Biologicheskoye raznoobrazie I problemy okhrany fauny Kavkaza», September 26–29; Yerevan, Armenia. — 2011. — p. 234–240. Russian.
7. Jenkins E. J., Kutz S. J., Hoberg E. P., Polley L. Bionomics of larvae of *Parelaphostrongylus odocoilei* (Nematoda: Protostrongylidae) in experimentally infected gastropod intermediate hosts // Journal of Parasitol. — 2006. — 92 (2). — p. 298–305.
8. Kuligowska I. Investigations on the biology of nematodes *Elaphostrongylus cervi* and epizootiology of elaphostrongylosis // Wiadomości parazytologiczne. — 2009. — 55 (1). — p. 67–68.
9. Kuligowska I., Demiaszkiewicz A. W. The way of penetration of first stage larvae of *Elaphostrongylus cervi* (Nematoda, Protostrongylidae) to the intermediate host and their development to the invasive stage // Wiadomości parazytologiczne. — 2009. — 55 (3). — p. 223–225.
10. Montresor L. C., Vidigal T. H. D. A., Mendonça C. L. G. F., Fernandes A. A., De Souza K. N., Carvalho O. S., Caputo L. F. G., Mota E. M., Lenzi H. L. *Angiostrongylus costaricensis* (Nematoda: Protostrongylidae): Migration route in experimental infection of *Omalonyx* sp. (Gastropoda: Succineidae) // Parasitol. Res. — 2008. — 103 (6). — p. 1339–1346.
11. Panayotova–Pencheva M. Experimental infections of terrestrial snails with lungworms of the genera *Muellerius* and *Elaphostrongylus* (Nematoda: Protostrongylidae) // Experimental Pathology and Parasitology. — 2006. — 92. — p. 3–11.
12. Panyotova–Pencheva M. Role of some snails species distributed in Bulgaria as intermediate hosts of small lungworms (Nematoda: Protostrongylidae) // Comptes rendus de l'Academie Bulgare des Science. — 2011. — 64 (3). — p. 389–394.
13. Tunholi–Alves V. M., Tunholi V. M., Gôlo P., Lima M., Garcia J., Maldonado Jr. A., Pontes E. G., Bittencourt V. R. E. P., Pinheiro J. Effects of infection by larvae of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda, Metastrongylidae) on the lipid metabolism of the experimental intermediate host *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) // Parasitol. Res. — 2013. — 112 (5). — p. 2111–2116.



ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МОНИТОРИНГ
ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Поступила в редакцию 01.07.2014

Принята в печать 19.04.2015

УДК 619:616.995.595

DOI:10.12737/13269

Пашаев В.Ш., Алиев Ш.К., Кабардиев С.Ш., Биттиров А.М., Бегиев С.Ж. Распространение нематоды *Gongulema caucasica* у диких и синантропных птиц на территории Кабардино-Балкарского высокогорного заповедника // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 20–22.

Pashaev V.Sh., Aliyev Sh.K., Kabardiev S.Sh., Bittirov A.M., Begiev S.J. The spread of nematodes *Gongulema caucasica* in wild and synanthropic birds on the territory of Kabardino-Balkaria State High-Mountain Reserve. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 20–22.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ НЕМАТОДЫ *GONGULEMA CAUCASICA* У ДИКИХ И СИНАНТРОПНЫХ ПТИЦ НА ТЕРРИТОРИИ КАБАРДИНО-БАЛКАРСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ЗАПОВЕДНИКА

В.Ш. Пашаев¹, Ш.К. Алиев¹, С.Ш. Кабардиев², А.М. Биттиров³, С.Ж. Бегиев³

¹Дагестанский государственный педагогический университет, 367003, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. М. Ярагского, д. 57, e-mail: vagidpashaev@mail.ru

²Прикаспийский зональный НИВИ, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, д. 88, e-mail: pznivi05@mail.ru

³Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова, 360030, Россия, Кабардино-Балкарская республика, г. Нальчик, Ватутина, д. 9/68, e-mail: bam_58@mail.ru

Реферат

Вид *Gongulema caucasica* является распространенной нематодой воробьиных птиц на территории Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника, что создает условия для заражения гонгулемозом домашних кур в регионе.

Цель исследования — изучение распространения нематоды *Gongulema caucasica* у диких и синантропных птиц Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника.

Материалы и методы. Исследование гельминтов диких и синантропных птиц проводили на территории Кабардино-Балкарского высокогорного заповедника.

В течение 2011–2014 гг. собраны и исследованы 71 тушка диких и синантропных птиц.

Результаты и обсуждение. В результате гельминтологических вскрытий органов и тканей диких и синантропных птиц нематода *Gongulema caucasica* обнаружена у 6 особей 7 видов отряда Воробьинообразные (обыкновенная каменка, воробей полевой, коноплянка, снегирь, чекан луговой, трясогузка, яблник) на территории Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника. Основным местом локализации нематод *G. caucasica* является пищевод и реже железистый желудок.

Ключевые слова: Кабардино-Балкарский высокогорный заповедник, дикие птицы, нематода *Gongulema caucasica*, распространение.

Введение

Гельминты диких птиц на территории Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника практически не изучены. При этом изучение гельминтофауны диких птиц представляет научный и практический интерес, так как они имеют ряд общих гельминтозов с домашними птицами и могут для них являться источниками инвазии. Одним из таких видов является *Gongulema caucasica* — паразит птиц из класса нематода, распространенный по всему миру [1].



На территории России отмечен в Краснодарском крае и Самарской области [2]. Гонгулемозом могут поражаться как молодые, так и взрослые особи. При сильной интенсивности инвазии у зараженного поголовья наблюдают слабость, отставание в развитии, истощение и гибель [3].

Цель настоящего исследования — изучение распространения нематоды *Gonguleta caucasica* у диких и синантропных птиц Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника.

Материалы и методы

Исследование гельминтов диких и синантропных птиц проводили на территории Кабардино-Балкарского высокогорного заповедника.

В течение 2011–2014 гг. собраны 71 тушка диких и синантропных птиц. К отряду Воробьинообразные принадлежали виды: ворон (2), обыкновенная каменка (3), серая мухоловка (4), чекан луговой (5), грач (5 особей), певчий дрозд (2), черный дрозд (4), садовая славка (3), большая синица (7), лазоревка (1), пухляк (1), воробей полевой (4), воробей домовый (7), зяблик (3), коноплянка (1), снегирь (4), трясогузка (2 особя), 5 крякв из отряда Гусеобразных, 8 перепелов из отряда Курообразные.

Исследовали также птиц, погибших от естественных причин на территории Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника. Все птицы подвергнуты полному гельминтологическому вскрытию по Скрябину [3].

Результаты и обсуждение

В результате гельминтологических вскрытий органов и тканей диких и синантропных птиц *G. caucasica* обнаружена у 7 видов отряда Воробьинообразные (обыкновенная каменка, воробей полевой, коноплянка, снегирь, чекан луговой, трясогузка, зяблик) на территории Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника. Основным местом локализации нематод *G. caucasica* является пищевод и реже железистый желудок.

Экстенсивность инвазии *G. caucasica* у птиц (обыкновенная каменка, воробей полевой, коноплянка, снегирь, чекан луговой, трясогузка и зяблик) составила, в среднем, 17,4 % при интенсивности инвазии 4–48 экз./особь (в среднем, 26,0 экз./особь).

Заключение

Вид *Gonguleta caucasica* является умеренно распространенной нематодой воробьиных птиц на территории Кабардино-Балкарского биосферного высокогорного заповедника, что создает условия для заражения гонгулемозом домашних кур в регионе.

Литература

1. Скрябин К.И., Соболев А.А., Ивашкин В.М. Спирураты животных и человека и вызываемые ими заболевания / Под ред. К. И. Скрябина. — М.: Наука, 1965. — 572 с.
2. Кириллов А.А., Кириллова Н.Ю., Смагина О.А. Гельминты воробьинообразных (Passeriformes) и ракшеобразных (Coraciiformes) птиц Самарской Луки // Известия Самарского научного центра РАН. — 2012. — Т. 14, № 1. — С. 163–167.
3. Дубинина М.Н. Паразитологическое исследование птиц. — Ленинград: Наука, 1971. — 140 с.

References

1. Skryabin K.I., Sobolev A.A., Ivashkin V.M. Spiruraty animals and humans and they cause diseases / edited by Skryabin K. I. — M.: Nauka, 1965 — 572 p. (Fundamentals nematodologii. T. XIV, Part 2: Akuarioidei).
2. Kirillov A.A., Kirillova N.Ju., Smagina O.A. Worms passerine (Passeriformes) and coraciiformes (Coraciiformes) birds *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra RAN* [News of Samara Scientific Center RAS], 2012, vol. 14. no. 1, pp. 163–167.
3. Dubinina M.N. *Parazitologicheskoe issledovanie ptits* [Parasitological study of birds]. Leningrad, Nauka, 1971, 140 p.



Russian Journal of Parasitology

DOI 10.12737/13269

Article history:

Received 01.07.2014

Accepted 19.04.2015

THE SPREAD OF NEMATODES *GONGULEMA CAUCASICA* IN WILD
AND SYNANTHROPIC BIRDS ON THE TERRITORY OF KABARDINO-BALKARIA STATE
HIGH-MOUNTAIN RESERVE

Pashaev V.Sh.¹, Aliyev Sh.K.¹, Kabardiev S.Sh.², Bittirov A.M.³, Begiev S.J.³

¹Dagestan State Pedagogical University, 367003, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, 57 M.Yaragsky St., e-mail: vagidpashaev@mail.ru

²Prikaspiisk Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, 88 Dahadaev St., e-mail: pznivi05@mail.ru

³Kabardino-Balkar State Agrarian University named after V.M. Kokov, 360030, Russia, Kabardino-Balkaria Republic, Nalchik, 9/68 Vatutin St., e-mail: bam_58@mail.ru

Abstract

Gongulema caucasica is the most common nematode species of passerine birds on the territory of Kabardino-Balkarian State High-Mountain Reserve which may cause the infestation of chicken with gongulemosis in this region.

Materials and methods: Wild and synanthropic birds on the territory of Kabardino-Balkarian State High-Mountain Reserve were examined for presence of helminths. 71 carcasses of wild and synanthropic birds were collected in the period 2011–2014.

Results and discussion: As a result of the post-mortem helminthological examination of organs and tissues of wild and synanthropic birds the nematodes *Gongulema caucasica* have been detected in 6 birds of 7 species of passerine birds (common wheatear, tree sparrow, linnet, bullfinch, whinchat, wagtail, chaffinch) living on the territory of Kabardino-Balkaria State High-Mountain Reserve. Nematodes *Gongulema caucasica* can be mainly localized in esophagus and rarely in forestomach.

Keywords: Kabardino-Balkaria State High-Mountain Reserve, wild birds, nematode *Gongulema caucasica*, spread.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МОНИТОРИНГ
ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Поступила в редакцию 13.04.2015
Принята в печать 24.08.2015

УДК 619:576.89
DOI:10.12737/13270

Решетников А.Д., Барашкова А.И. База данных: «Эпизоотический мониторинг паразитарных болезней животных Якутии», созданная по программе NVU // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 23–28.

Reshetnikov A.D., Barashkova A.I. Database «Epizootic monitoring of parasitic diseases of animals in Yakutia» created according NVU program. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 23–28.

БАЗА ДАННЫХ «ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ ЯКУТИИ», СОЗДАННАЯ ПО ПРОГРАММЕ NVU

А.Д. Решетников, А.И. Барашкова

Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, 677001, Россия, Якутск,
ул. Бестужева–Марлинского, 23/1, e-mail: yniicx@mail.ru, adreshetnikov@mail.ru

Реферат

По результатам многолетних исследований коллектива лаборатории паразитологии ГНУ ЯНИИСХ, Решетниковым А.Д. и др., создана база данных по эпизоотическому мониторингу паразитарных болезней сельскохозяйственных и диких животных, человека и рыб Якутии, представляющая совокупность самостоятельных материалов, выполненных в разные годы при выполнении докторских, кандидатских, аспирантских исследований, а также при выполнении плана НИОКР ГНУ ЯНИИСХ СО РАСХН в 2000–2010 гг.

Ключевые слова: база данных, гельминты, насекомые, животные, рыбы, паразитарные болезни, мониторинг.

Введение

Паразиты сельскохозяйственных, домашних и диких животных, птиц, рыб и человека представляют значительный интерес для ветеринарии, здравоохранения и охотничьего хозяйства. Они являются возбудителями опасных заболеваний, нередко общих человеку и животным. Однако данные о паразитах и вызываемых ими болезнях Якутии, представляющие совокупность самостоятельных материалов, выполненных в разные годы, рассеяны в различных изданиях, многие из которых мало или совсем недоступны для практических работников, так как эти издания выходили небольшими тиражами и стали библиографической редкостью. Перед авторами была поставлена цель составить базу данных по эпизоотическому мониторингу паразитарных болезней животных Якутии.

Материалы и методы

База данных «Эпизоотический мониторинг паразитарных болезней животных Якутии» создана по программе Nvu в форме HTML-документа и соответствует международному стандарту ISO 8879 [22, с. 1]. При этом использована совокупность самостоятельных материалов, выполненных авторами: заведующим лабораторией паразитологии, д. в. н., профессором Решетниковым А.Д., д. в. н., профессором Исаковым С.И., д. в. н. Коколовой Л.М., к. б. н. Платоновым Т.А., к. б. н., Барашковой А.И., м. н. с. Верховцевой Л.А., аспирантами Апсолиховой О.Д. и Семеновой К.Е. в разные годы при выполнении докторских, кандидатских, аспирантских и договорных исследований, а также плана НИОКР ГНУ ЯНИИСХ СО РАСХН за 2000–2010 гг.

База состоит из краткого и развернутого введения, эпидемиологии эхинококкоза, распространенности гельминтозоонозов среди животных в Якутии (25 животных), эпизоотологических карт распространения гельминтозоонозов по природно-климатическим зонам Якутии, данных по зараженности паразитами промысловых видов рыб реки Лена, мониторинга зараженности лигулезом плотвы и ельца в Вилюйском водохранилище, микоспориозом карповых видов рыб в Центральной Якутии, болезней животных, вызываемых членистоногими, 10 таблиц, 5 рисунков, 7 оригинальных фотографий. Описание составляет 50 страниц компьютерного текста, включая реферат, структурную схему и библиографический список.

Результаты и обсуждение

Начало изучения гельминтов Якутии было положено профессором С. А. Грюнером, приехавшим в Якутскую область в начале XX века. В статье «Финноз северного оленя» он описывает финны, найденные у павшего северного оленя в г. Якутске. В сердце было обнаружено 27 финн, в мышцах левой и правой передней конечности — по 9, левой задней конечности — 2, шее — 6, спине — 5 и языке — 3. В мышцах правой задней конечности и в межреберных мышцах финны обнаружены не были. Автором была обнаружена во внутренних органах северного оленя личиночная стадия *Echinococcus granulosus* Batsch, 1786 (Цит.: по К. И. Скрябину) [26, с. 1–88].

В 1931 г. в Якутии работала 100-я союзная гельминтологическая экспедиция, было учтено 7 видов гельминтов домашних животных. Систематическое изучение фауны гельминтов сельскохозяйственных, охотничье-промысловых и домашних животных было начато с 1951 г. Наиболее крупными работами в области гельминтологии были монографии Н. М. Губанова «Гельминтофауна промысловых млекопитающих Якутии» [10, с. 128–135.], где зарегистрировано 125 видов гельминтов и М. Г. Сафронова «Гельминты и гельминтозы животных Якутии» [25, с. 5–16]. По эхинококкозу и альвеококкозу Якутии С. И. Исаковым выполнена докторская диссертация на тему «Эхинококкоз и альвеококкоз животных в Якутской-Саха ССР (эпизоотология и меры борьбы)» [13, с. 1–42]. М. В. Андреевой [1, с. 1–19] изучены «Анолоцефалидозы лошадей в условиях республики Саха (Якутия) (биология, эпизоотология и меры борьбы)», Л. М. Коколовой [16, с. 1–48] — «Эпизоотология, эпидемиология и меры борьбы с гельминтозоонозами в Якутии» (докторская диссертация), Л. Г. Козловой [15, с. 1–16] — «Эпизоотология гельминтозов свиней», Г. Г. Колесовой [17, с. 1–18] — «Особенности экологии и меры борьбы с тизаниейозом и мониезиозами» и З. Г. Татариновой [27, с. 1–18] — «Паразиты якутских лошадей и ветеринарно-санитарная оценка мяса».

В 1948 г. участниками экспедиции ВНИОРХ, которую возглавлял О. Н. Бауер [8, с. 157–174], удалось исследовать 26 видов рыб. Полным паразитологическим вскрытиям было подвергнуто 509 рыб. Исследования проводили на промыслах Титары и Мостах, на участке Якутск — устье Вилюя. С 1953 по 1957 г. 290 и 302-я союзные гельминтологические экспедиции в бассейне среднего и нижнего течения р. Лена и ее притоков — Алдана, Вилюя и Тюнга исследовали 1831 экземпляр рыб, относящихся к 27 видам. Н. М. Губанов, В. А. Однокурцев, О. С. Находкина [11, с. 105–113] описывают от рыб Вилюйского водохранилища 11 видов моногениид, 11 видов цестод и 2 вида скребней. А. В. Калашникова [14, с. 1–18] в диссертационном исследовании изучила фауну, биоэкологию, зараженность рыб возбудителями микоспориозов, вывела показатели ветеринарно-санитарной экспертизы при этих инвазиях. Фауну и экологию дифиллоботриид среднего течения реки Лены исследовал Т. А. Платонов [19, с. 1–21]. Ремнецов карповых рыб озер Центральной Якутии и Вилюйского водохранилища (распространение, биологию и меры профилактики) изучила О. Д. Апсолихова [2, с. 1–22].

Оводовые инвазии крупного рогатого скота — гиподерматозы изучены В. М. Дмитриевым [12, с. 1–19]. Особенности экологии возбудителей цефеномиоза и эдемагеноза северных оленей в Якутии, вызываемый ими экономический ущерб исследованы З. С. Прокопьевым [20, с. 1–18]. Токсикологию хлорофоса применительно к лошадям впервые в Советском Союзе выполнил П. И. Николаев [18, с. 1–20]. Эколого-фенологические закономерности оводов лошадей и основных компонентов гнуса, нападающих на сельскохозяйственных животных, исследовал А. Д. Решетников [23, с. 347–350; 24, с. 1–220] и А. И. Барашкова [3, с. 1–129; 4, с. 1–15; 5, с. 65–72; 6, с. 15–19; 7, с. 36–39]. Итогом работы стала докторская



диссертация А. Д. Решетникова [21, с. 1–34] по двукрылым насекомым — оводам лошадей, комарам, слепням, мошкам и мокрецам.

Научно-исследовательская работа по протозоозным болезням молодняка сельскохозяйственных животных в Якутии проводилась И. И. Бочкаревым. Он выполнил докторскую диссертацию по эймериозу и криптоспоридиозу телят [9].

По результатам многолетних исследований коллектива лаборатории паразитологии ГНУ ЯНИИСХ (Решетникова А. Д., Исакова С. И., Коколовой Л. М., Платонова Т. А., Барашковой А. И., Верховцевой Л. А., Апсолиховой О. Д. и Семеновской К. Е.) выполнена база данных по эпизоотическому мониторингу паразитарных болезней сельскохозяйственных и диких животных, человека и рыб Якутии, представляющая совокупность самостоятельных материалов, выполненных в разные годы при выполнении докторских, кандидатских, аспирантских исследований, а также при выполнении плана НИОКР ГНУ ЯНИИСХ СО РАСХН за 2000–2010 гг.

Литература

1. Андреева М. В. Анолоцефалидозы лошадей в условиях Республики Саха (Якутия) (Биология, эпизоотология и меры борьбы): автореф. дис. ... канд. вет. наук. — М.: МГАВМиБ им. К. И. Скрябина, 1992. — 19 с.
2. Апсолихова О. Д. Ремнецы карповых рыб озер Центральной Якутии и Вилюйского водохранилища (распространение, биология и меры профилактики): автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М.: ВИГИС, 2010. — 22 с.
3. Барашкова А. И. Биоэкологические основы защиты табунных лошадей от слепней (Diptera, Tabanidae) в Центральной Якутии: дис. ... канд. биол. наук. — Тюмень: ВНИИВЭА, 2003. — 129 с.
4. Барашкова А. И. Биоэкологические основы защиты табунных лошадей от слепней (Diptera, Tabanidae) в Центральной Якутии: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Тюмень: ВНИИВЭА, 2003. — 15 с.
5. Барашкова А. И., Павлова Р. П., Решетников А. Д. Фауна слепней Центральной Якутии // Тр. Всерос. ин-та гельминтол. — М.: Типография Россельхозакадемии, 2005. — Т. 41. — С. 65–72.
6. Барашкова А. И. Видовой состав и экология слепней Северо-Восточной Якутии // Тр. Всерос. ин-та гельминтол. — М.: Типография Россельхозакадемии, 2006. — Т. 43. — С. 15–19.
7. Барашкова А. И. Суточная активность слепней на востоке Центральной Якутии // Тр. Всерос. ин-та гельминтол. — М.: Типография Россельхозакадемии, 2007. — Т. 45. — С. 36–39.
8. Бауер О. Н. Паразиты рыб р. Лены // Известия ВНИИОРХ. — 1948. — Т. 27. — С. 157–174.
9. Бочкарев И. И. Криптоспоридиоз. Эпизоотология, симптомокомплекс болезни, ультраструктура *Cryptosporidium parvum*, особенности развития хозяин-паразит-клетка-эмбрион, принципы лечения и профилактика: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — СПб., 1996. — 39 с.
10. Губанов Н. М. Гельминтофауна промысловых млекопитающих Якутии. — М.: Наука, 1964. — 164 с.
11. Губанов Н. М., Одноурцев В. А., Находкина О. С. Возрастная и сезонная зараженность рыб Вилюйского водохранилища моногенетическими сосальщиками // Фаунистические ресурсы Якутии. — Якутск, 1974. — С. 105–113.
12. Дмитриев В. М. Гиподерматоз крупного рогатого скота и меры борьбы с ним в Якутской АССР: автореф. дис. ... канд. вет. наук. — Якутск, 1966. — 19 с.
13. Исаков С. И. Эхинококкоз и альвеококкоз животных в Якутской Саха ССР (эпизоотология и меры борьбы): дис. ... д-ра вет. наук в форме науч. докл. — М., 1991. — 42 с.
14. Калашникова А. В. Распространенность микоспоридиозов в Республике Саха и ветеринарно-санитарная оценка рыб при этих заболеваниях: автореф. дис. ... канд. вет. наук. — М., 1998. — 18 с.
15. Козлова Л. Г. Аскариоз и эзофагостомоз свиней в Центральной Якутии (распространение, экология и меры борьбы): автореф. дис. ... канд. вет. наук. — Якутск: ЯГСХА, 2004. — 16 с.
16. Коколова Л. М. Эпизоотология, эпидемиология и меры борьбы с гельминтозоонозами в Якутии: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. — М.: ВИГИС, 2007. — 48 с.
17. Колесова Г. Г. Анолоцефалатозы крупного рогатого скота в Центральной Якутии и меры борьбы с ними: автореф. дис. ... канд. вет. наук. — Якутск: ЯГСХА, 2007. — 18 с.
18. Николаев П. И. Изучение токсичности хлорофоса и амидофоса для лошадей: автореф. дис. ... канд. вет. наук. — М., 1973. — С. 1–20.
19. Платонов Т. А. Дифиллоботрииды (Diphyllobothriidae) среднего течения реки Лены (фауна, экология и меры борьбы): автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Тюмень: ВНИИВЭА, 2002. — 21 с.
20. Прокопьев З. С. Эдемагеноз и цефеномиоз северных оленей в тундровой зоне Республики Саха (Якутия) (фенология, экология и меры борьбы): автореф. дис. ... канд. вет. наук. — Тюмень: ВНИИВЭА, 2004. — 18 с.



21. Решетников А. Д. Гастрофилезы лошадей и гнус в условиях Республики Саха (Якутия) (фауна, экология, фенология, регуляция численности и меры борьбы): автореф. ... д-ра вет. наук. — М.: МГАВМиБ, 2000. — 34 с.
22. Решетников А. Д., Барашкова А. И. и др. Эпизоотический мониторинг паразитарных болезней животных Якутии: свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2014621492 Российской Федерации. № 2014620794; заявл. 16.06.14; опубл. 20.11.2014. 1 с.
23. Решетников А. Д. Татаринова З. Г. Влияние эндопаразитов на ветеринарно-санитарную оценку жеребятины и конины // Сб. матер. науч.-практ. конф., посвящ. 45-летию Якутского научно-исслед. ин-та с.-х. (ЯНИИСХ) СО РАСХН и 85-летию со дня рождения д-ра вет. наук, проф. М. Г. Сафронова (Якутск, 26–27 декабря 2001 г.) «Роль сельскохозяйственной науки в стабилизации и развитии агропромышленного производства Крайнего Севера». — Новосибирск, 2003. — С. 347–350.
24. Reshetnikov A. D., Vasilevich F. I. Diptera: Gasterophilidae, Culicidae, Tabanidae, Ceratopogonidae, Simuliidae in conditions of the Sakha Republic (Yakutia) of Russian Federation (Fauna, ecology, phenology, control of number): Monograph. Moscow, Publishing house of the Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Scryabin, 2003. — 220 p.
25. Сафронов М. Г. Гельминты и гельминтозы животных Якутии. — Новосибирск, 1994. — 112 с.
26. Скрябин К. И. Глистные инвазии северного оленя. — М.—Л.: Сельхозгиз, 1931. — 88 с.
27. Татаринова З. Г. Паразитозы якутских лошадей и ветеринарно-санитарная оценка мяса: автореф. дис. ... канд. вет. наук. — Якутск: ЯГСХА, 2004. — 18 с.

References

1. Andreeva M. V. *Anoplocefalidozy loshadej v usloviyah Respubliki Saha (Yakutia) (Biologiya, ehpizootologiya i mery bor'by)*. Avtoref. Kand. Diss. [Anoplocefalidosis in horses in the conditions of the Republic of Sakha (Yakutia) (Biology, an epizootology and struggle measures. Summary of Doct. Diss.]. Moscow, 1992. 19 p.
2. Apsolihova O. D. *Remnecy karpovyh ryb ozer Central'noj Yakutii i Vilyujskogo vodohranilishcha (rasprostranenie, biologiya i mery profilaktiki)*. Avtoref, Kand, Diss. [Cestodes of the family Ligulidae in fish lakes of the Central Yakutia and Vilyuy Reservoir (distribution, biology and measures of prevention). Summary of PhD. Diss.] Moscow, 2010. 22 p.
3. Barashkova A. I. *Bioekologicheskie osnovy zashchity tabunnych loshadej ot slepnej (Diptera, Tabanidae) v Central'noj Yakutii*. Kand, Diss. [Bioecological basis for the protection of horses from gadflies (Diptera, Tabanidae) in the Central Yakutia. PhD. Diss.]. Tyumen, 2003. 129 p.
4. Barashkova A. I. *Bioehkologicheskie osnovy zashchity tabunnych loshadej ot slepnej (Diptera, Tabanidae) v Central'noj Yakutii*. Avtoref. Kand. Diss. [Bioecological basis for the protection of horses from gadflies (Diptera, Tabanidae) in the Central Yakutia. Summary of PhD Diss.]. Tyumen, 2003. 15 p.
5. Barashkova A. I., Pavlova R. P., Reshetnikov A. D. Fauna of gadflies of the Central Yakutia. *Trudy VIGIS* [Proc. of VIGIS], 2005, vol. 41, pp. 65–72.
6. Barashkova A. I. Species structure and ecology of gadflies of Northeast Yakutia. *Trudy VIGIS* [Proc. of VIGIS]. 2006, vol. 43, pp. 15–19.
7. Barashkova A. I. Daily activity of gadflies in the East of the Central Yakutia. *Trudy VIGIS* [Proc. of VIGIS]. 2007. — Т. 45. — pp. 36–39.
8. Bauer O. N. Fish parasites in the Lena River. *Izvestiya VNIORH* [Bulletin of VNIORH], 1948, vol. 27, pp. 157–174.
9. Bochkarev I. I. Kriptosporidioz. Eizootologiya, simptomokompleks bolezni, ul'trastruktura *Cryptosporidium parvum*, osobennosti razvitiya hozyain-parazit-kletka-embriion, principy lecheniya i profilaktika. Avtoref. Dokt. Diss. [Cryptosporidiosis. Symptom-complex of the illness, ultrastructure of *Cryptosporidium parvum*, feature of development owner-parasite-cage-embryo, principles of treatment and prevention. Summary of Doct. Diss.]. St. Petersburg, 1996. — 39 p.
10. Gubanov N. M. *Gel'mintofauna promyslovyh mlekopitayushchih Yakutii* [Gelmintofauna of commercial mammals in Yakutia]. Moscow, Nauka, 1964. 164 p.
11. Gubanov N. M., Odnokurcev V. A., Nahodkina O. S. Age-related and seasonal infestation of fish by Monogeneoidea in the Vilyuy Reservoir *Trudy Instituta biologii "Faunisticheskie resursy Yakutii"* [Proc. of Institute of biology "Faunistic resources of Yakutia"]. Yakutsk, 1974. pp. 105–113.
12. Dmitriev V. M. *Gipodermatoz krupnogo rogatogo skota i mery bor'by s nim v Yakutskoj ASSR*. Avtoref. Kand, Diss. [Hypodermatosis in cattle and measures of struggle against it in the Yakut -Sakha Autonomous Soviet Socialist Republic. PhD. Diss.]. Yakutsk, 1966. 19 p.
13. Isakov S. I. *Ehkhinokokkoz i al'veokokkoz zhivotnyh v Yakutskoj-Saha SSR (ehpizootologiya i mery bor'by)*. Avtoref. Dokt. Diss. [Echinococcosis and alveococcosis in animals in the Yakut-Sakha Soviet Socialist Republic (epizootology and measures of struggle). Summary of Doct. Diss.]. Moscow, 1991. 42 p.
14. Kalashnikova A. V. *Rasprostranennost' miksosporidiozov v Respublike Saha i veterinarno-sanitarnaya otsenka ryb pri etih zabolevaniyah*. Avtoref. Kand. Diss. [Prevalence of mixosporidiosis in the Republic of



Sakha and the veterinary and sanitary assessment of fish at this disease. Summary of PhD. Diss.]. Moscow, 1998. 18 p.

15. Kozlova L. G. *Askarioz i ehzofagostomoz svinej v Central'noj Yakutii (rasprostranenie, ehkologiya i mery bor'by)*. Avtoref, Kand, Diss. [Ascariosis and esofagostomosis in pigs in the Central Yakutia (distribution, ecology and measures of struggle). Summary of PhD. Diss.]. Yakutsk, 2004. 16 p.

16. Kokolova L. M. *Epizootologiya, ehpidemiologiya i mery bor'by s gel'mintozoonozami v Yakutii*. Avtoref. Dokt. Diss. [Epizootology, epidemiology and measures of struggle against zoonotic helminth infection in Yakutia. Summary of Doct. Diss.]. Moscow, 2007. 48 p.

17. Kolesova G. G. *Anoplocefalyatozy krupnogo rogatogo skota v Central'noj Yakutii i mery bor'by s nimi*. Avtoref, Kand, Diss. [Anoplocephalatoses in cattle in Central Yakutia and measures of struggle against it. Summary of PhD. Diss.]. Yakutsk, 2007. 18 p.

18. Nikolaev P. I. *Izuchenie toksichnosti hlorofosa i amidofosa dlya loshadej*. Avtoref. Kand. Diss. [Studying of toxicity of chlorophos and amidophos used for treatment of horses. Summary of PhD. Diss.]. Moscow, 1973. 20 p.

19. Platonov T. A. *Difillobotriidy (Diphyllobothriidae) srednego techeniya reki Leny (fauna, ehkologiya i mery bor'by)*. Avtoref. Kand. Diss. [Diphyllobothriidae in the middle watercourse of Lena (fauna, ecology and measures of struggle). Summary of PhD. Diss.]. Tyumen, 2002. 21 p.

20. Prokop'ev Z. S. *Ehdemagenoz i cefenomioz severnyh oleney v tundrovoj zone Respubliki Saha (Yakutiya) (fenologiya, ekologiya i mery bor'by)*. Avtoref, Kand, Diss. [Edemagenosis and cefenomiozis reindeers in a tundra zone of the Republic of Sakha (Yakutia) (phenology, ecology and measures of fight). Summary of PhD. Diss.]. Tyumen, 2004. 18 p.

21. Reshetnikov A. D. *Gasterofilezy loshadej i gnus v usloviyah Respubliki Saha (Yakutiya) (fauna, ehkologiya, fenologiya, regulyaciya chislennosti i mery bor'by)*. Avtoref. Dokt. Diss. [Horse gasterofilosis and gnats in the conditions of the Republic of Sakha (Yakutia) (fauna, ecology, phenology, regulation of number and measures of struggle). Summary of Doct. Diss.]. Moscow, 2000. 34 p.

22. Reshetnikov A.D., Barashkova A.I., e.a. *Epizooticheskij monitoring parazitarnykh boleznej zhivotnykh Yakutii* [Epizootic monitoring of parasitic diseases in animals of Yakutia]. Certificate RF, no. 2014621492, 2014.

23. Reshetnikov A. D. Tatarinova Z. G. Influence of endoparasites on a veterinary and sanitary assessment of horse meat. *Sb. mater. nauchno-prakt. konf. posvyashch. 45-letiyu Yakutskogo nauchno-issled. in-ta s.-h. (YANIISKH) SO RASKHN i 85-letiyu so dnya rozhdeniya doktora vet. nauk, professora, zaslužennogo veterinarnogo vracha YAASSR, direktora YANIISKH (1960–1988 gg.) M.G. Safronova "Rol' sel'skohozyajstvennoj nauki v stabilizacii i razviii agropromyshlennogo proizvodstva Krajnego Severa"* [Proceedings of the scientific and practical conference devoted to the 45 anniversary of the Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (YSRIA) RAAS and to the 85 anniversary of the birth of doctor of veterinary sciences, professor, director of YaNIISH (1960–1988) M. G. Safronov «Role of agricultural science in stabilization and development of agro-industrial production of Far North»]. Novosibirsk, 2003, pp. 347–350.

24. Reshetnikov A. D., Vasilevich F. I. *Diptera: Gasterophilidae, Culicidae, Tabanidae, Ceratopogonidae, Simuliidae in conditions of the Sakha Republic (Yakutia) of the Russian Federation (Fauna, ecology, phenology, control of number): Monograph*. Moscow, Publishing house of Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, 2003. 220 p.

25. Safronov M. G. *Gel'minty i gel'mintozy zhivotnykh Yakutii* [Helminths and helminthosis in animals of Yakutia]. Novosibirsk, 1994. 112 p.

26. Skryabin K. I. *Glistnye invazii severnogo olenya* [Helminth infections in reindeer]. Moscow–Leningrad, Sel'hozgiz Publ., 1931. 88 p.

27. Tatarinova Z. G. *Parazitozhi yakutskikh loshadej i veterinarno-sanitarnaya ocenka myasa*. Avtoref. Kand. Diss. [Parasitic diseases in Yakut horses and veterinary and sanitary assessment of meat. Summary of PhD. Diss.]. Yakutsk, 2004. 18 p.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13270

Article history:

Received 13.04.2015

Accepted 24.08.2015

**DATABASE «EPIZOOTIC MONITORING OF PARASITIC DISEASES OF ANIMALS
IN YAKUTIA» CREATED ACCORDING NVU PROGRAM**

A.D. Reshetnikov, A.I. Barashkova

Yakut Scientific Research Institute of Agriculture

677001, Russia, Yakutsk, Bestuzheva-Marlinskovo Str., 23/1,

e-mail: yniicx@mail.ru, adreshetnikov@mail.ru

Abstract

According to the results of a long-term research conducted by the staff of the Laboratory of Parasitology at FSBSI Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (Reshetnikov A.D. et al.) a database of epizootic monitoring for parasitic diseases in farm and wild animals, humans and fish of Yakutia has been created. The a.m. database is a set of independent materials collected in different years for the purpose of doctoral, master, postgraduate research as well as for the Research and Development plan of Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (2000–2010).

Keywords: database, helminths, protozoa, insects, animals, fish, epizootology, insecticides, anthelmintics, repellents, parasitic diseases, monitoring.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 19.01.2015
Принята в печать 14.03.2015

УДК 619:616.995.122
DOI:10.12737/13271

Сербина Е.А., Бонина О.М. Динамика очагов нотокотилезов птиц в экосистеме озера Чаны (Западная Сибирь) за последние 80 лет // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 29–36.
Serbina E.A.¹, Bonina O.M.² Dynamics of foci of bird notocotylidosis in the ecosystem of Lake Chany (Western Siberia) in the last 80 years. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 29–36.

ДИНАМИКА ОЧАГОВ НОТОКОТИЛЕЗОВ ПТИЦ В ЭКОСИСТЕМЕ ОЗЕРА ЧАНЫ (ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ) ЗА ПОСЛЕДНИЕ 80 ЛЕТ

Е.А. Сербина¹, О.М. Бонина²

¹ Институт систематики и экологии животных СО РАН, 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11, e-mail: serbina_elena_an@mail.ru

² Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии, 630501, Новосибирская обл., Новосибирский р-н, п. Краснообск, e-mail: olga-bonina@mail.ru

Реферат

Цель исследования — анализ динамики очагов нотокотилезов у птиц в экосистеме озера Чаны в Западной Сибири за последние 80 лет.

Материалы и методы. Гельминтологические исследования моллюсков-битиниид и птиц проводили в бассейне оз. Чаны в 1996–2013 гг. Методом неполного гельминтологического вскрытия исследовали кишечники 172 птиц, относящихся к 17 видам. Сбор моллюсков-битиниид проводили вручную в летний период. Всего собрано свыше 9 000 экз. моллюсков, относящихся к видам *Bithynia tentaculata* и *B. troscheli*. Компрессорным методом определяли зараженность моллюсков церкариями трематод с последующим расчетом экстенсивности и интенсивности инвазии, индекса обилия.

Результаты и обсуждение. Из 17 видов птиц мариты нотокотилид зарегистрированы у 7 видов. Установлена различная степень зараженности разных видов птиц нотокотилидами. Экстенсивность инвазии составила лысухи 70,5 %, кряквы 57,1, чирка-трескунка 42,8, красноголовой чернети 54,5 % при интенсивности инвазии соответственно 35,6; 8,0; 19,3 и 5,5 экз. При исследовании птиц в районе оз. Чаны в 1934–1938 гг. нотокотилиды обнаружены у 15 из 90 видов птиц. Анализ динамики нотокотилидозов птиц в экосистеме оз. Чаны за последние 80 лет показал, что зараженность птиц увеличилась с 23 % в 30-е годы прошлого века до 31 % в 70-е годы и до 60 % в наших исследованиях. За последние 80 лет 22 вида птиц исполняли роль окончательных хозяев. Обнаружение марит трематод сем. Notocotylidae разными исследователями во все годы обследований и ежегодное наличие партерит у моллюсков сем. Bithyniidae указывает на наличие стабильного очага нотокотилидоза в экосистеме оз. Чаны. Зараженность околотовных птиц в регионе за последние годы увеличилась более чем в два раза.

Ключевые слова: *Notocotylidae*, *Bithynia tentaculata*, *B. troscheli*, околотовные птицы, озеро Чаны, Западная Сибирь.

Введение

Нотокотилидозы — это гельминтозные болезни животных, вызываемые паразитированием у них марит трематод сем. Notocotylidae Lühe, 1909. Наиболее полные сведения о трематодах этого семейства представлены в монографии Филимоновой [11]. На террито-

рии России и сопредельных стран нотокотилиды зарегистрированы у 63 видов птиц [3]. Локализуясь в слепой кишке птиц, мариты этого семейства могут нанести вред их здоровью и значительный экономический ущерб птицеводческим хозяйствам. У больных птиц при нотокотилидозах отмечают вялость, бледность видимых слизистых оболочек, слабую реакцию на происходящее; они часто лежат, глаза закрыты или полузакрыты; отмечают непровольное выделение жидкого кала. У тяжело больных регистрируют шаткую походку, отказ от корма, жажду. Больные птицы с такими признаками погибают на 6–7-е сутки. Продолжительность болезни составляет 8–9 сут, смертность — до 45 %. Нотокотилидозы проявляются клинически при интенсивности инвазии от 100 экз. и более [1].

В пресноводных экосистемах нотокотилиды в качестве промежуточных хозяев используют брюхоногих моллюсков (*Gastropoda*) как переднежаберных (*Prosobranchia*), так и легочных (*Pulmonata*) [11]. Широкое распространение паразит *Notocotylidae* отмечено у битиниид Палеарктики [8].

Благоприятные условия для возникновения природных очагов нотокотилидозов наблюдаются в местах скопления большого числа водных и околоводных птиц. В Сибири такие условия существуют во многих водоемах, например, в крупнейшем в Западной Сибири озере Чаны. Оно расположено в центральной части Барабинской степи (54°30′–55°09′ с. ш. и 76°48′–78°12′ в. д.). Бассейн оз. Чаны представляет собой бессточную систему. Основное питание оз. Чаны получает за счет стока рек Каргат и Чулым. Озеро Чаны имеет сложную конфигурацию и состоит из двух частей: Большие Чаны и Малые Чаны, соединенных между собой узкой протокой. Все плесы озера имеют обширное водное зеркало с постепенным нарастанием глубины от берега, большие мелководные пространства имеют глубины до 1,5 м. Мелководья, занимающие до 80–90 % площади акватории богаты водной растительностью и обилием фауны беспозвоночных [14], что создает благоприятные условия для обитания огромного числа водоплавающих птиц. В районе оз. Чаны зарегистрировано 94 вида птиц, из них 70 видов гнездятся [12]. Оз. Чаны лежит на путях сезонного пролета птиц, гнездящихся на севере. Весной и, особенно, осенью на его водоемах останавливаются для кормежки большие караваны пролетных птиц. Ранее гельминтологические исследования птиц в экосистеме оз. Чаны проведены Быховской–Павловской [2], Пересадыко [5] и Ятченко [13], Сербиной, Бониной [10], которые находили марит сем. *Notocotylidae* у околоводных птиц. Партегенетические стадии нотокотилид обнаружены у лимнеид [4, 6] и у битиниид из бассейна оз. Малые Чаны [9].

Цель настоящего исследования — проанализировать динамику очагов нотокотилидозов в экосистеме оз. Чаны за последние 80 лет.

Материалы и методы

Гельминтологические исследования моллюсков-битиниид и птиц проведены в бассейне оз. Чаны в 1996–2013 гг. (табл. 1). Птицы для исследования добыты охотниками в устьях рек Чулым и Каргат, впадающих в оз. Малые Чаны, оз. Фадиха, оз. М. Чаны — залив Золотые Россыпи.

Были исследованы методом неполного гельминтологического вскрытия кишечника 172 птиц, относящихся к 17 видам 5 отрядов: **Charadriiformes** (ржанкообразные) — хохотунья (*Larus cachinnans*) (3 экз.), черноголового хохотуна (*L. ichthyaetus*) (1 экз.), озерной чайки (*L. ridibundus*) (7 экз.), шилоклювки (*Recurvirostra avosetta*) (1 экз.), **Podicipediformes** (поганки) — большой поганки (*Podiceps cristatus*) (4 экз.), серощекой поганки (*P. grisegena*) (4 экз.), черношейной поганки (*P. nigricollis*) (2 экз.), **Anseriformes** (пластинчатоклювые, или гусеобразные) — кряквы *Anas platyrhynchos* (7 экз.), кряквы домашней (*Anas platyrhynchos домашняя*) (1 экз.), серой утки (*A. strepera*) (3 экз.), чирка-трескунка (*A. querquedula*) (7 экз.), широконоски (*A. clypeata*) (2 экз.), красноглазая чернети *Authya ferina* (12 экз.), свиязи (*A. penelope*) (1 экз.), **Ciconiiformes** (голенастые) — большой выпи (*Botaurus stellaris*) (3 экз.), **Gruiformes** (журавлеобразные) — лысухи *Fulica atra* (113 экз.), погоньша *Porzana porzana* (1 экз.). Видовую принадлежность птиц определяли сотрудники Института систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН — кандидаты биологических наук А. П. Яновский и А. К. Юрлов. При определении марит трематод использовали монографии Филимоновой [11] и Быховской–Павловской [3].



1. Число обследованных моллюсков и птиц в бассейне оз. Чаны
в 1994–2007 и 2012–2013 гг.

Место исследования	Год	Исследовано		
		<i>B. tentaculata</i>	<i>B. troscheli</i>	Птиц*
Устье р. Каргат	1994	0	697	
	1995	30	468	15
	1996	12	544	23
	1997	4	465	46
	1998	3	246	5
	1999	7	540	12
	2000	2	338	17
	2002	8	1074	7
	2003	18	1338	10
	2004	114	1224	5
	2005	216	933	5
	2006	3	112	16
	2007	4	49	11
	2012	174	115	
2013	58	106		
р. Каргат (п. Верх Каргат)	1995	76	0	
оз. М. Чаны — залив Золотые Россыпи (д. Широкая Курья)	1996	0	17	
	1997	0	76	
	2003	0	6	
оз. М. Чаны — мыс Черненький	2013	0	16	
	Все годы	729	8364	
	Итого	9093		172

* Птицы для исследования добыты охотниками в устьях рек Чулым и Каргат, оз. Фадиха, оз. М. Чаны — залив Золотые Россыпи.

В 1994–2007 и 2012–2013 гг. с целью выявления уровня зараженности первых промежуточных хозяев партенитами нотокотилид проведены сборы моллюсков семейства Bithyniidae в бассейне оз. Чаны. Моллюски были исследованы из реки Каргат (в среднем течении, около п. Верх-Каргат — 76 экз.; в устье — 8902 экз.) и из оз. М. Чаны (115 экз.) (табл. 1). Учет численности моллюсков из приустьевых участков р. Каргат (бассейн оз. Чаны) проводили 1–3 раза в декаду с июля по сентябрь 1994 г., с мая по сентябрь (1995–2000 гг. и 2002–2005 гг.), в июне 2006–2007 гг. и 2012 г., в июне–июле 2013 г. Остальные сборы носили разовый характер. Моллюсков собирали вручную с 4–6 площадок площадью 0,25 м² на глубине от 0,1 до 0,7 м. Собранных моллюсков доставляли в лабораторию, где определяли их видовую принадлежность. Обследованные моллюски сем. Bithyniidae относятся к двум видам: *Bithynia tentaculata* L. (1758) и *B. troscheli* (Paasch, 1842). Методом прижизненной диагностики выявляли зараженных моллюсков со «зрелыми» церкариями. Всех собранных моллюсков размещали отдельно в прозрачные ячейки иммунологических планшетов вместимостью 3–5 мл, которые предварительно заливали речной профильтрованной водой и оставляли на 1–2 ч. Затем воду в ячейках просматривали, не извлекая моллюсков, под 16-кратным увеличением бинокля, после чего моллюсков пересаживали в ячейки с чистой водой. Наблюдения проводили в течение не менее 24 ч. Видовую принадлежность партенит определяли только при наличии зрелых церкарий, в случае обнаружения трематоды на более ранних стадиях развития их дифференцировали до семейства (реже — до рода).

По результатам компрессорных вскрытий моллюсков и птиц рассчитывали экстенсивность инвазии (ЭИ), интенсивность инвазии (ИИ), индекс обилия (ИО), стандартную ошибку (SE). Статистическая обработка материала проведена с использованием пакета программ Statistica и Excel.

Результаты и обсуждение

Заражение моллюсков-битиниид трематодами сем. Notocotylidae.

Оценка зараженности моллюсков сем. Bithyniidae в бассейне оз. Чаны, проведенная на основании 9093 вскрытий показала, что уровень их инвазированности трематодами сем. Notocotylidae составил 0,64 %. Зараженные моллюски были зарегистрированы во все годы исследования, за исключением 1994, 2006 и 2007 гг. (рис. 1). Их отсутствие в выборке битиниид может быть связано с сезонностью обследования, поскольку в указанные годы обследования моллюсков проведены в отдельные летние месяцы, а не в течение всего весенне-летнего периода. Однако, можно предполагать, что нотокотилиды присутствовали в исследуемой экосистеме, поскольку их мариты были найдены у птиц и в эти годы. Обследованные моллюски сем. Bithyniidae относятся к двум видам: *Bithynia tentaculata* L., (1758) и *B. troscheli* (Paasch, 1842). Оба вида моллюсков, найденные в экосистеме оз. Чаны, были отмечены первыми промежуточными хозяевами трематод сем. Notocotylidae. В разные годы их уровень заражения партенитами нотокотилид в устьевой части реки Каргат варьировал от 1,72 до 16,7 % *B. tentaculata* и от 0,19 до 0,92 % *B. troscheli* (рис. 1). Средняя многолетняя экстенсивность инвазии битиниид в устье р. Каргат составила 0,62 %.

Численное соотношение *B. tentaculata* и *B. troscheli* в выборке составило 1 : 12. Это может быть связано с тем, что моллюски *B. troscheli* предпочитают биотопы с илистыми грунтами, богатыми органикой, заросшими рогозами и тростником. Именно такие биотопы характерны для устья реки Каргат и оз. М. Чаны. Моллюски *B. tentaculata* собраны на проточных участках устья реки Каргат и в ее среднем течении. Несмотря на то, что *B. tentaculata* встречалась гораздо реже и в некоторые годы они были представлены единичными экземплярами, однако уровень заражения был на порядок выше (3,866 и 0,384 % соответственно; $\chi^2 = 67,27$, $P < 0,001$).

В среднем течении реки Каргат (у пос. Верх-Каргат) сбор моллюсков проведен один раз. Однако уровень зараженности составил 5,26 %. В оз. Чаны обследованы битинииды из залива Золотые Россыпи и с мыса Черненького. Уровень зараженности составил 0,87 %. Следует отметить, что в среднем течении р. Каргат партениты Notocotylidae обнаружены у *B. tentaculata*, а в оз. М. Чаны у *B. troscheli*, однако семейство Bithyniidae в этих местах были представлены только этими видами моллюсков. В бассейне оз. Чаны партениты сем. Notocotylidae обнаружены и у легочных моллюсков сем. Lymnaeidae [4, 6]. Все зараженные особи найдены в оз. Фадиха. Уровень их зараженности партенитами нотокотилид был низким: 0,1 % *Lymnaea saridalensis* Mozley, 1934 и 0,2 % *L. tumida* Linnaeus, 1758.

Заражение окончательных хозяев трематодами сем. Notocotylidae.

Из 17 видов 5 отрядов околотовных птиц, обследованных нами, мариты нотокотилид обнаружены у представителей 7 видов двух отрядов: гусеобразных — красноголовой чернети, кряквы, чирка-трескунка, широконоски, серой утки и журавлеобразных — лысухи и погоныша. Большинство обнаруженных трематод были неполовозрелыми, поэтому не идентифицированы до вида. Показатели зараженности отдельных видов птиц трематодами сем. Notocotylidae приведены в таблице 2. Различия в зараженности разных видов птиц нотокотилидами возможно, связаны с особенностями их питания. Так, например, птенцы кряквы и серого гуся преимущественно растительноядные виды. Гусята с первого дня жизни кормятся на влажных лугах недалеко от водоема, и высока вероятность попадания в их организм адолескарий нотокотилид, находящихся на стеблях и листьях водных растений. Аналогична ситуация и с утятами, которые с первых дней жизни кормятся, главным образом, ряской. В отличие от них, поганки и выпи питаются водными беспозвоночными, моллюсками земноводных и рыб. Поэтому последние виды птиц либо не отмечены хозяевами нотокотилид, либо эти виды трематод встречаются у них крайне редко. Отсутствие зараженности ржанкообразных может быть следствием малого объема выборки птиц этого отряда. Журавлеобразные были заражены достоверно выше, чем гусеобразные (70,8 и 51,7 %, соответственно, $t = 3,24$; $DF = 146$; $P < 0,05$).



2. Показатели зараженности околотовдных птиц маридами сем. *Notocotylidae* в экосистеме озера Малые Чаны

Вид хозяина	ЭИ, %	Интенсивность инвазии, экз.		ИО
		средняя	max	
Лысуха	70,5	35,61	1118	25,12
Погоньш	1 из 1	1	1	1
Кряква	57,14	8,0	17	4,57
Чирок-трескунок	42,86	19,33	47	8,29
Широконоска	1 из 2	21	21	10,5
Красноголовая чернеть	54,55	5,50	16	3,0
Серая утка	1 из 3	5	5	1,7

Первые сборы марида трематод у птиц в районе оз. Чаны проведены в 1934, 1936–1938 гг. [2]. Из 90 видов исследованных птиц нотокотилиды обнаружены у представителей 15 видов трех отрядов: журавлеобразные — лысуха и курочка-крошка; гусеобразные — серый гусь, чирок-трескунок, чирок-свибун, широконоска, серая утка, шилохвость, кряква, красноглавая чернеть, гоголь, савка; ржанкообразные — чибис, турухтан и круглоносый плаунчик. Интенсивность заражения гусеобразных маридами нотокотилид достигала 250 экз., ржанкообразных — до 25, а журавлеобразных — до 15 экз. марида. Уровень зараженности журавлеобразных (35,8 %) был достоверно выше зараженности ржанкообразных (12,2 %; $t = 3,9$; $DF = 261$; $P < 0,05$). Зараженность журавлеобразных и гусеобразных (22,4 %) не имеет достоверных различий ($t = 1,43$; $DF = 494$; $P > 0,05$). То же можно сказать и о гусеобразных и ржанкообразных ($t = 1,34$; $DF = 594$; $P > 0,05$) (рис. 2.).

В 1973–1975 гг. в районе оз. Чаны гельминтофауну куликов (отряд ржанкообразные) изучала Пересадыко [5], а диких утиных птиц семейства гусеобразных — Ятченко [13]. Из 26 видов ржанкообразных, у 4 видов обнаружены трематоды сем. *Notocotylidae* с интенсивностью инвазии от 1 до 26 экз. При исследовании гельминтофауны 15 видов диких утиных птиц в районе оз. Чаны нотокотилиды зарегистрированы у 13 видов (хохлатая чернеть, шилохвость, кряква, широконоска, гоголь, чирок трескунок и свибун, луток, свиязь, красноглавая чернеть, серая утка, турпан и пеганка). Наиболее часто нотокотилиды отмечены у красноглавой чернети (58,5 %) и шилохвости (54,8 %). Максимальная интенсивность инвазии отмечена у хохлатой чернети (175 экз.), этот показатель был также высок у широконоски (45 экз.) и шилохвости (28 экз.). Анализ показателей экстенсивности инвазии гусеобразных и ржанкообразных, различающийся почти на порядок (40,6 и 4,8 % соответственно), не выявил достоверных различий ($t = 1,55$; $DF = 951$; $P > 0,05$).

Начиная с 1934 г. окончательными хозяевами нотокотилид в экосистеме оз. Чаны зарегистрированы 22 вида околотовдных птиц. Это составляет 34,9 % от всех видов птиц, отмеченных в качестве дефинитивных хозяев нотокотилид в России и сопредельных странах [3]. Из них только 5 видов гусеобразных (чирок-трескунок, широконоска, серая утка, кряква и красноглавая чернеть) зарегистрированы в течение всего анализируемого периода.

Анализ динамики очага нотокотилидозов птиц в экосистеме оз. Чаны за последние 80 лет показал, что общий уровень зараженности увеличился от 23 % (30-е годы) к 31 % (70-е годы) и до 60 % (наши исследования). Различия по инвазированности птиц нотокотилидами, зарегистрированные в 30-е и 70-е годы, и в 70-е и нашими исследованиями не показали значимых различий ($t = 0,67$; $DF = 1627$; $t = 1,37$; $DF = 834$; $P > 0,05$). Зараженность журавлеобразных и гусеобразных в последние годы достоверно возросла по сравнению с 30-ми годами прошлого века ($t = 3,42$; $DF = 194$; $t = 2,11$; $DF = 446$; $P < 0,05$). У показателей зараженности ржанкообразных, наоборот, отмечена тенденция к снижению.

Проведенный анализ сведений о нотокотилидозах в экосистеме оз. Чаны за последние 80 лет показал, что 22 вида околотовдных птиц исполняли роль окончательных хозяев. Поскольку марида трематод сем. *Notocotylidae* обнаружены разными исследователями, во все

годы обследования, а также практически ежегодное наличие их партеногенетических поколений у моллюсков сем. Bithyniidae может служить подтверждением наличия стабильного очага нотокодилеза в экосистеме оз. Чаны. Экстенсивность инвазии околородных птиц в экосистеме оз. Чаны за последние годы увеличилась более чем в два раза.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг. Проект № VI.51.1.7.

Литература

1. Алиев Ш. К. Эколого-фаунистическая и эпизоотологическая характеристика охотничье-промысловых птиц Северного Кавказа: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 2006. — 50 с.
2. Быховская–Павловская И. Е. Фауна сосальщиков птиц Западной Сибири и ее динамика // Паразитол. сб. ЗИН АН СССР. — М.–Л., 1953. — Т. XV. — С. 5–116.
3. Быховская–Павловская И. Е. Трематоды птиц фауны СССР. — М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1962. — 135 с.
4. Водяницкая С. Н., Юрлова Н. И. Партениты и церкарии трематод из моллюска *Lymnaea saridalensis* (Gastropoda, Pulmonata) в бассейне озера Чаны (юг Западной Сибири) // Сиб. экол. журнал. — 2013. — № 1. — С. 17–25.
5. Пересадык Л. В. Трематоды куликов юга Западной Сибири // Сб. раб. «Экология и морфология гельминтов Западной Сибири». — Новосибирск: Наука, 1979. — С. 114–130.
6. Растяженко Н. М., Юрлова Н. И. Зараженность моллюска *Lymnaea tumida* партенитами трематод в бассейне озера Чаны (Юг Западной Сибири) // Тез. докл. науч. конф. «Актуальные проблемы современной териологии». — Новосибирск: Сибрегион Инфо, 2012. — С. 206.
7. Сербина Е. А. Церкарии трематод в моллюсках семейства Bithyniidae (Gastropoda: Prosobranchia) из бассейна оз. Малые Чаны (юг Западной Сибири) // Сиб. экол. журнал. — 2004. — № 4. — С. 457–462.
8. Сербина Е. А. Разнообразие диксенных жизненных циклов трематод обнаруженных у моллюсков семейства Bithyniidae (Gastropoda: Prosobranchia) // Рос. паразитол. журнал. — 2013. — № 3. — С. 49–57.
9. Сербина Е. А. Роль битинид (Gastropoda: Prosobranchia: Bithyniidae) в распространении Notocotylidae в экосистемах Западной Сибири // Матер. докл. V Съезда Паразитол. о-ва при РАН. — Новосибирск, 2013. — С. 173.
10. Сербина Е. А., Бонина О. М. Видовой состав трематод семейства Notocotylidae в экосистеме озера Чаны // Матер. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. уч. — Новосибирск, 2014. — С. 99–101.
11. Филимонова Л. В. Трематоды фауны СССР. Нотокотилиды. — М.: Наука, 1985. — 128 с.
12. Янушевич А. И., Золотарева О. С. Водоплавающая дичь Барабы. — Новосибирск: Изд-во АН СССР, 1947. — 80 с.
13. Ятченко Н. И. Гельминты диких утиных птиц юга Западной Сибири // Сб. раб. «Экология и морфология гельминтов Западной Сибири». — Новосибирск: Наука, 1979. — С. 157–189.
14. Kipriyanova L. M., Yermolaeva N. I., Bezmaternykh D. M. et al. Changes in the biota of Chany Lake along a salinity gradient // Hydrobiologia. — 2007. — V. 576, №1. — P. 83–93.

References

1. Aliev Sh. K. *Ekologo-faunisticheskaya i epizootologicheskaya harakteristika ohotnich'e-promyslovykh ptits Severnogo Kavkaza: Aftoref, dokt. diss.* [Ecologo-faunistic and epizootological characteristics of game birds in the North Caucasus. Abstr. doct. thesis in biol.]. Moscow, 2006. 50 p.
2. Byhovskaya–Pavlovskaya I. E. Fauna of bloodsucking insects feeding on birds in Western Siberia and its dynamics. *Parazitol. sb. ZIN AN SSSR* [Proceedings of the Zoological Institute of the Academy of Sciences of the USSR]. Moscow — Leningrad, 1953, vol. XV, pp. 5–116.
3. Byhovskaya–Pavlovskaya I. E. *Trematody ptits fauny SSSR* [Trematodes in birds of the fauna of the USSR]. Moscow — Leningrad, Academy of Sciences of the USSR, 1962. 135 p.
4. Vodyanitskaya S. N., Jurlova N. I. Partenitae and Cercariae of trematodes in snails *Lymnaea saridalensis* (Gastropoda, Pulmonata) from the basin of the Chany Lake (south of Western Siberia). *Sib. ekol. Zhurnal* [Siberian Journal of Ecology], 2013, no. 1, pp. 17–25.
5. Peresad'ko L. V. Trematodes in sandpipers in the south of Western Siberia. Sb. rab. «Ekologija i morfologija gel'mintov Zapadnoj Sibiri» [Proceedings «Ecology and morphology of helminthes in Western Siberia»]. Novosibirsk, Nauka. 1979, pp. 114–130.
6. Rastyazhenko N. M., Yurlova N. I. Infestation of the snail *Lymnaea tumida* with trematodes Partenitae in the basin of the Chany Lake (south of Western Siberia). Tez. dokl. nauch. konf. «Aktual'nye problemy sovremennoj teriologii». [Abstracts for scientific conf. «Current issues of modern technology»]. Novosibirsk, Sibregion Info, 2012, 206 p.
7. Serbina E. A. Cercariae of trematodes in snails of the family Bithyniidae (Gastropoda: Prosobranchia) from the basin of the lake Small Chany (south of Western Siberia). *Sib. ekol. Zhurnal* [Siberian Journal of Ecology], 2004, no. 4, pp. 457–462.



8. Serbina E. A. Variety of dixenic life cycles of trematodes found in snails of the family Bithyniidae (Gastropoda: Prosobranchia). *Ros. parazitol. zhurnal*. [Russian Journal of Parasitology], 2013, no. 3, pp. 49–57.
9. Serbina E. A. The role of snails Bithyniidae (Gastropoda: Prosobranchia: Bithyniidae) in distribution of the family Notocotylidae in ecosystems of Western Siberia. *Mater. dokl. V S'ezda Parazitol. o-va RAN* [Proceedings of the V Congress of Russian Society of Parasitologists of RAS]. Novosibirsk, 2013, 173 p.
10. Serbina E. A., Bonina O. M. Species composition of trematodes Notocotylidae in the ecosystem of Lake Chany. *Mater. Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uch.* [Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical conference (with international participation)]. Novosibirsk, 2014. pp. 99–101.
11. Filimonova L. V. *Trematody fauny SSSR. Notokotilidy*. [Trematodes in the fauna of the USSR. Notocotylides]. Moscow, Nauka, 1985. 128 p.
12. Yanushevich A. I., Zolotareva O. S. *Vodoplavajushhaja dich' Baraby* [Waterfowl in Baraba]. Novosibirsk, Academy of Sciences of the USSR, 1947. 80p.
13. Yatchenko N. I. Helminthes in wild dabbling ducks in the south of Western Siberia. *Sb. rab. «Ekologija i morfologija gel'mintov Zapadnoj Sibiri»* [Proceedings «Ecology and morphology of helminthes in Western Siberia»]. Novosibirsk, Nauka, 1979, pp. 157–189.
14. Kipriyanova L. M., Yermolaeva N. I., Bezmaternykh D.M. et al. Changes in the biota of Chany Lake along a salinity gradient. *Hydrobiologia*, 2007, vol. 576, no. 1, pp. 83–93.

Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13271

Article history:

Received 19.01.2015

Accepted 14.03.2015

DYNAMICS OF FOCI OF BIRD NOTOCOTYLIDOSIS IN THE ECOSYSTEM OF LAKE CHANY (WESTERN SIBERIA) IN THE LAST 80 YEARS

Serbina E.A.¹, Bonina O.M.²

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals (ISEA) RAS, 630091, Novosibirsk, 11 Frunze St., e-mail: serbina_elena_an@mail.ru

²Institute of Experimental Veterinary of Siberia and the Far East, Russian Academy of Agricultural Sciences, 630501, Novosibirsk region, Krasnoobsk, e-mail: olga-bonina@mail.ru

Abstract

Objective of research: to perform the analysis of dynamics of bird notocotylidosis foci in the ecosystem of Lake Chany in Western Siberia in the last 80 years.

Materials and methods: Helminthological examinations of snails of the family Bithyniidae and birds were conducted in the basin of Lake Chany in 1996–2013. The intestines of 172 birds belonging to 17 species were examined using the method of incomplete helminthological autopsy.

The collection of snails of the family Bithyniidae was carried out manually in the summer season. All together 9 000 examples of snails belonging to *Bithynia tentaculata* and *B. troscheli* were collected.

The infestation rate for cercariae in the snails was detected by the compressor method with the following calculation of extensity and intensity of infection and the index of abundance.

Results and discussion: Marites of trematodes of the family Notocotylidae were registered in 7 of 17 species. Different rate of infestation by the family Notocotylidae of various bird species was determined.

The extensity of infection was in baldicoot — 70,5 %, mallard — 57,1, garganey — 42,8, red headed duck — 54,5 % by the intensity of infection 35,6; 8,0; 19,3 and 5,5 examples, respectively.

During scientific investigation about birds in the area of Lake Chany in 1934–1938 notocotylides were found in 15 of 90 bird species. The analysis of dynamics of bird notocotylidosis in the ecosystem of Lake Chany (Western Siberia) in the last 80 years revealed that the bird infestation

had increased from 23 % in the 30s of the last century up to 31 % in the 70s, and up to 60 % in our today's research. In the last 80 years 22 bird species served as primary hosts.

The detection of marites of the family Notocotylidae by different scientists in all the years of research and the annual presence of parthenitas in snails of the family Bithyniidae indicates on the constant focus of notocotylidosis in the ecosystem of Lake Chany. The infestation of semi-aquatic birds has been increased more than twice in the last years.

Keywords: Notocotylidae, *Bithynia tentaculata*, *B. troscheli*, semi-aquatic birds, Lake Chany, Western Siberia.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)

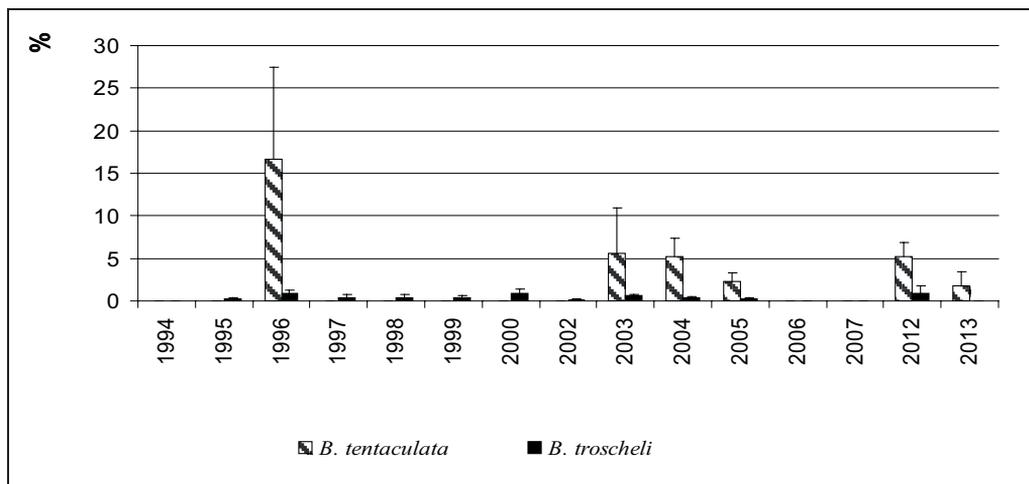


Рис. 1. Многолетняя динамика зараженности моллюсков сем. Bithyniidae трематодами сем. Notocotylidae в бассейне оз. Чаны, 1994–2013 гг.

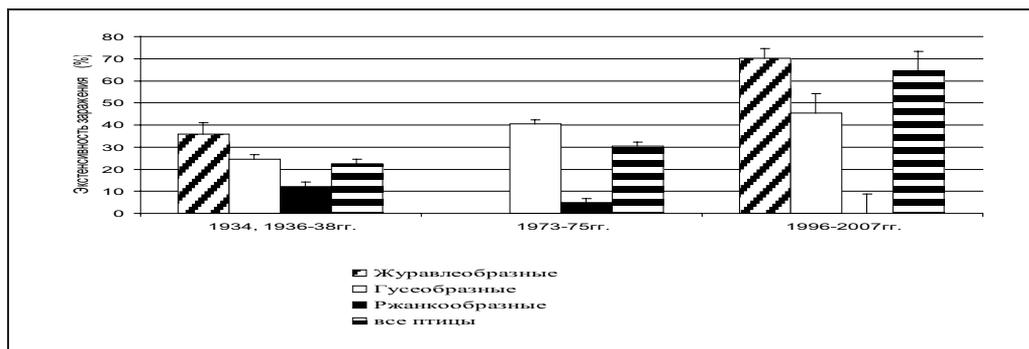


Рис. 2. Динамика зараженности птиц нотокотилидами в бассейне оз. Чаны в разные годы



ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МОНИТОРИНГ
ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Поступила в редакцию 03.03.2015
Принята в печать 01.09.2015

УДК 619:616.993
DOI:10.12737/13267

Самойловская Н.А., Успенский А.В., Новосад Е.В., Гулюкин Е.А., Малышева Н.С., Буренок А.С., Орлова И.И., Белоусова И.Н. Гемоспориозы сельскохозяйственных, домашних и диких животных на территории Российской Федерации // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 37–44.

Samoylovskaya N.A., Uspensky A.V., Novosad E.V., Gulyukin E.A., Malysheva N.S., Buryonok A.S., Orlova I.I., Belousova I.N. Hemosporidiosis of farm, domestic and wild animals on the territory of Russian Federation. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 37–44.

ГЕМОСПОРИДИОЗЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ, ДОМАШНИХ И ДИКИХ ЖИВОТНЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*Н.А. Самойловская¹, А.В. Успенский¹, Е.В. Новосад², Е.А. Гулюкин³, Н.С. Малышева⁴,
А.С. Буренок¹, И.И. Орлова¹, И.Н. Белоусова¹*

¹ *Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: samoylovskaya@vniigis.ru, director@vniigis.ru,*

² *РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1*

³ *Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко, 109428, г. Москва, Рязанский проспект, к. 1, д. 24*

⁴ *Курский государственный университет, 305000, г. Курск, ул. Радищева, д. 33.*

Реферат

Цель работы — анализ эпизоотической ситуации по протозойным кровепаразитарным болезням домашних и диких животных в Российской Федерации.

Материалы и методы. Формы ветеринарной отчётности, литературные источники.

Результаты и обсуждение. В статье обобщены и проанализированы данные об эпизоотической ситуации по протозойным кровепаразитарным болезням животных в субъектах РФ. Показано, что для достоверной оценки эпизоотической ситуации необходимо объединение научно-исследовательских институтов и ветеринарной службы с целью разработки системы мониторинга с учётом рекомендаций МЭБ (Международное Эпизоотическое бюро).

Ключевые слова: пироплазмидозы, бабезиоз, анаплазмоз, тейлериоз, нутталлиоз, кровепаразитарные заболевания, инвазионные заболевания, крупный рогатый скот, овцы, собаки.

Введение

Кровепаразитарные болезни (гемоспориозы) животных — группа широко распространённых кровепаразитарных болезней домашних и диких млекопитающих, птиц, рыб и земноводных (известны случаи заражения и человека); вызываются одноклеточными организмами пироплазмидами. Экономический ущерб складывается из гибели животных (смертность 30–60%), снижения продуктивности, значительных затрат на проведение профилактических и лечебных мероприятий. Возбудители пироплазмидозов паразитируют внутри эритроцитов или других клетках кроветворной системы животных; в окрашенных препаратах имеют округлую, грушевидную, парногрушевидную, амёбовидную и др. формы.

Животным каждого вида присущи свои специфические возбудители. Для этих болезней характерными клиническими признаками являются: высокая температура, анемичность/желтушность слизистых оболочек, частые сердцебиение и дыхание, нарушения функции

желудочно-кишечного тракта. У всех животных наблюдают гемоглобинурию. К этой группе заболеваний относятся анаплазмоз, бабезиоз и др.

Гемоспоридиозы домашних животных широко распространены практически во всех странах мира и наносят колоссальный вред сельскому хозяйству. Практически все заболевания из этой группы отнесены МЭБ к категории опасных [3, 5]. Так бабезиозы крупного рогатого скота наносят значительный ущерб животноводству во всех странах мира, который определяется не только падежом животных, но и резким снижением продуктивности. Например, через 8—15 дней после заражения у коров резко падают удои молока. Значительные трудности возникают при комплектовании хозяйств привозным скотом с целью улучшения породного или племенного состава стада в связи с носительством паразитов.

Бабезиоз (пироплазмоз) собак — природно-очаговое трансмиссивное кровепаразитарное заболевание, вызываемое простейшим паразитом *Babesia (Piroplasma) canis*.

Babesia canis имеет широкое распространение по всему земному шару. Ее размеры составляют: округлых одиночных форм — 2,1...4,5 мкм, парных грушевидных — 3,1...5,6 x 1,4...1,7 мкм. Различают многообразие форм паразита: округлая, амёбовидная, веретеновидная, анаплазмозидная, грушевидная и другие. Все формы могут различно ассоциироваться в одном эритроците. Диагностической формой считается парная грушевидная форма, которая образует острый угол, а ее размеры больше или равны радиусу эритроцита [17].

Заболевание обладает ярко выраженной весенней и осенней сезонностью. Соответственно в динамике паразитирования иксодовых клещей регистрируются две волны бабезиоза собак: весенне-летняя и летне-осенняя. Пики приходится на май и сентябрь. Пики заболевания совпадают с пиками активности иксодовых клещей с небольшим опозданием в 5...7 дней (инкубационный период) [4, 8, 20].

Результаты и обсуждение

Пироплазмидозы имеют наибольшее распространение в южных регионах СНГ, несколько меньшее в центральных районах России, Белоруссии, государствах Прибалтики, западной части Украины и других государствах. Возникают эти болезни в теплое время года, обусловленное активной фазой развития клещей-переносчиков [11, 12].

Бабезиоз (=пироплазмоз) крупного рогатого скота (Возбудитель: *Babesia bigemina* (= *Piroplasma bigeminum*) **Smith et Kilborne, 1889**) распространен в южных и юго-восточных зонах России. Животные заражаются в основном на пастбищах через клещей *Boophilus calcaratus*, иногда *Rhipicephalus bursa* и *Haemaphysalis punctata*. В зависимости от переносчика болезнь может проявляться весной, летом и осенью. За исследуемый период пироплазмоз устойчивые очаги пироплазмоза крупного рогатого скота регистрировались на территории Северо-Кавказского ФО (Чеченская Республика и Республика Дагестан) и Южного ФО (Республика Адыгея, Краснодарский край, Волгоградская и Ростовская области). Так например в 2007-2008 гг. больные животные были зарегистрированы в Сибирском ФО (Алтайский край, Томская область). Подавляющее большинство заболевших животных (1...3 тыс. голов ежегодно) приходится на Чеченскую Республику.

Северный бабезиоз крупного рогатого скота (Возбудитель: *Babesia divergens* **Mac Fadyean et Stockman, 1911**) распространен в северо-западных и центральных регионах России. Переносчики — клещи *Ixodes ricinus* и реже *I. persulcatus*. Болезнь регистрируют в основном летом и осенью. Случаи заболевания животных без летального исхода регистрировались в 2010-2012 гг. только в Калининградской области.

Южный бабезиоз крупного рогатого скота (Возбудитель: *Babesia bovis* **Babes, 1888**) распространен в южных и юго-восточных регионах страны. Переносчик — *Boophilus calcaratus*. Зачастую болезнь протекает в виде смешанной с пироплазмозом и анаплазмозом инвазии. Первая вспышка наблюдается летом, вторая — осенью. Согласно данным ветеринарной отчетности, бабезиоз крупного рогатого скота в последние годы не наносит существенного экономического ущерба животноводству РФ. Единичные очаги заболевания были зарегистрированы в Южном (Ростовская область), Центральном (Липецкая и Калужская области) и Приволжском ФО (Республика Мордовия). Наибольшее число заболевших животных (349 голов) наблюдалось в 2008 году, в котором случаи заболевания были также отмечены в Красноярском крае Сибирского ФО. Данных о гибели заболевшего скота нет.



Пироплазмоз овец и коз (Возбудитель: *Piroplasma ovis Lestoquard, 1925*) регистрируется с весны до осени. Основным переносчик — *Rh. bursa* (также *Haemaphysalis otophila*). Бабезиоз овец и коз (Возбудитель: *Babesia (=Babesiella) ovis Babes, 1892*) регистрируют весной и летом, обычно совместно с пироплазмозом. Основным переносчик — клещ *Rh. bursa*. Болеют также архар, муфлон, лань и благородный олень, которые могут являться резервуаром возбудителя в природных очагах. Вспышки пироплазмидозов овец и коз ежегодно регистрируют на территории Северо-Кавказского ФО (Чеченская Республика и Республика Дагестан) и Южного ФО (Ростовская область). Подавляющее большинство заболевших животных (400...3900 голов ежегодно) приходится на Чеченскую Республику.

Пироплазмоз лошадей (Возбудитель: *Piroplasma (=Babesia) caball Nuttall et Strickland, 1910*) регистрируют весной, реже летом и осенью. Основным переносчик — клещи рода *Dermacentor*. За исследуемый период вспышки пироплазмоза лошадей регистрировались на территории Северо-Кавказского ФО (Чеченская Республика) и Южного ФО (Ростовская область). Также в 2007 году заболели 89 лошадей в Алтайском крае и в 2008 году в Новосибирской области Сибирского ФО. И 3 животных заболели в Калининградской области в 2009 году.

Нутталлиоз лошадей (Возбудитель: *Nuttallia equi Laveran, 1901*) в клинической практике часто встречается в форме смешанной инвазии с пироплазмозом, диагностировать которую можно только при нахождении в мазках крови одновременно типичных форм пироплазм (соединенных попарно под острым углом грушевидных) и нутталлий (в виде мальтийского креста). Переносчиками нутталлий являются клещи *Dermacentor pictus*, *D. marginatus*, *D. silvarum*, *D. nuttalli*, *Hyalomma marginatum*, *H. scupense*, *Rhipicephalus bursa*, *Rh. turanicus*. Болезнь регистрируют в основном весной и летом. В средней зоне страны нутталлиоз обнаруживают вслед за пироплазмозом, а на юге — одновременно. Очаги нутталлиоза исторически зарегистрированы в центральных областях России, в Поволжье, Сибири, Забайкалье, на Дальнем Востоке. Энзоотической зоной считаются Северный Кавказ, Ставрополье, Калмыкия. Однако согласно ветеринарной отчетности за последние 6 лет случаи нутталлиоза лошадей были зарегистрированы только в 4 населенных пунктах Ростовской области и в 2007 году. Всего заболело 10 животных, павших не было.

Тейлериоз крупного рогатого скота (Возбудитель: *Theileria annulata Dschunkowsky et Luhs, 1904*) переносят клещи *Hyalomma anatolicum*, *H. detritum*, реже *H. scupense*. Территория РФ традиционно считается благополучной по тейлериозу. Однако в 2012 году в Ростовской области были зарегистрированы вспышки заболевания в 11 населенных пунктах. Заболели 126 животных без летального исхода.

Анаплазмоз рогатого скота — трансмиссивная лихорадочная болезнь, протекающая с явлениями анемии и истощения, вызываемая внутриэритроцитарными паразитами из рода *Anaplasma (Rickettsia)*. Возбудитель — *Anaplasma marginale Theiler, 1910*. Это круглые, размером 0,2-1,2 мкм включения в эритроцитах. Переносчики анаплазм — кровососущие членистоногие и насекомые. К *A. marginale* также восприимчивы крупный рогатый скот, зебу, буйволы, олени, лоси, косули, антилопы. анаплазм от больных животных к здоровым возможен также при нарушении ветеринарно-санитарных норм во время проведения ветеринарно-зоотехнических мероприятий (взятие крови одной иглой, биркование и др.). За исследуемый период неблагополучными по анаплазмозу были субъекты Центрального (Калужская, Брянская, Рязанская области), Северо-Западного (Калининградская область) и Приволжского ФО (Кировская область).

Кровепаразитарные заболевания (анаплазмоз, бабезиоз, пироплазмоз) крупного рогатого скота регистрируются в Кировской области с 2005 года.

В 2012 году, согласно данных КОГКУ «Кировская областная ветеринарная лаборатория», по результатам мониторинга из 10 276 проб крови анаплазмоз выделен в 29 пробах. Средний процент заражения крупного рогатого скота анаплазмозом составляет 0,3%. В результате исследований анаплазмоз обнаружен в Сунском, Пижанском, Богородском и Кильмезском районах. В двух районах области (Богородский и Кирово-Чепецкий) регистрировался бабезиоз (пироплазмоз). Средний процент заражения бабезиозом составляет 0,15%. От пироплазмоза наблюдался падеж коров.

По результатам мониторинговых исследований на анаплазмоз за 4 месяца 2013 года из 4 376 проб крови крупного рогатого скота на анаплазмоз выявлено 26 положительных.

Средний процент поражения по области составляет 0,6%. Заболевание зарегистрировано в Сунском, Малмыжском, Пижанском районах [21]. (Таблица 1).

Бабезиоз собак постоянно регистрируется на территории Российской Федерации. По данным многих авторов, на долю данного заболевания приходится от 14 до 18% от общего количества собак, которым были оказаны ветеринарные услуги [2, 4, 8]. (Таблица 2).

В настоящее время бабезиоз собак зарегистрирован практически во всех регионах России. Причем эпизоотологические характеристики данного заболевания за последние десятилетия изменились. Раньше бабезиоз собак назывался «лесной болезнью», так как животные подвергались нападению инвазированных клещей исключительно во время прогулок за городом. В последние годы ситуация резко изменилась. Действительно, если в 1960-70 годы собаки заражались пироплазмозом на дачах, в лесу, на охоте и пр., то в конце 1980-начале 1990 годов большая часть случаев заболевания собак была зарегистрирована непосредственно в городской черте. Собаки чаще всего заболевают бабезиозом после нападения клещей в городских парках и скверах, и даже во дворах. Этому способствовало формирование в тот же период биотопов иксодовых клещей на территории городов, а также резкое увеличение численности собак у городского населения в конце 1980-х годов. Кроме того, следует отметить тот факт, что в прошлые годы заболевали преимущественно собаки культурных пород, отмечалось два ярко выраженных подъема заболевания (весенний и осенний), и в целом оно имело спорадический характер. В настоящее время регистрируется значительное количество случаев заболевания беспородных и помесных собак, и заболевание все чаще приобретает массовый характер.

В значительной степени это связано с непрерывным и неконтролируемым ростом численности собак, особенно бездомных, отсутствием эффективных средств профилактики, антисанитарное состояние мест выгула. Кроме того, с тех пор как прекратились обработки лесных массивов инсектицидами, размножение иксодовых клещей практически не регулируется, и их популяция постоянно растет [14, 15, 16, 19].

Следует также отметить, что в последние годы бабезиоз собак начали регистрировать и в небольших городах и поселках. Это связано с появлением породистых собак, наиболее восприимчивых к заболеванию. Однако, вполне вероятно, что отсутствие более ранних сведений о бабезиозе собак в сельской местности связано с тем, что заболевание просто не диагностировалось сельскими ветеринарными работниками.

Таким образом, в настоящее время подавляющее большинство собак заражаются в городской черте. Примечательно, что согласно официальным данным, полученным при анализе ветеринарной отчетности около 80% заболевания в РФ регистрируется на территории г. Москвы

Кроме того, в последние годы бабезиоз у собак протекает без характерных клинических признаков и без летального исхода. Однако, при исследовании мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, обнаруживаются бабезии, а сыворотки крови от этих собак дают положительный результат в серологических реакциях. Это указывает на носительство возбудителя. Диагноз, как правило, ставится совершенно иной: от отравления до цирроза печени [2, 3, 4, 5, 6, 8].

Заключение

Анализируя данные ветеринарной отчетности субъектов Российской Федерации по кровепаразитарным болезням сельскохозяйственных животных за 2007-2012 годы можно сделать вывод, что проводится большая работа по сбору сведений о результатах диагностических исследований. Однако сведения ветеринарных служб субъектов РФ в полной мере не отражают истинной эпизоотической ситуации. В системе мониторинга контролю подвергается 8 кровепаразитарных заболеваний, но в этот список не включены сурра, пироплазмоз свиней, пироплазмоз северных оленей, анаплазмоз овец и коз, эперитрозооноз свиней и овец. В то время как эти заболевания периодически завозятся на территорию РФ с импортируемыми животными [7].

В сложившихся экономических условиях, при разнообразии форм собственности и методов ведения хозяйства главным направлением является прогнозирование возникновения заболеваний, только на основе достоверной ветеринарной информации возможна разра-



ботка профилактических мер. В дальнейшем основой рационального планирования и эффективного осуществления мероприятий по борьбе с кровепаразитарными болезнями должен быть эпизоотологический мониторинг, который позволит обеспечить своевременную корректировку противоэпизоотических мероприятий. Для более достоверной оценки эпизоотической ситуации и действенного управления эпизоотическим процессом необходимо объединение науки, практики и ветеринарной службы и совершенствование системы мониторинга с учётом рекомендаций МЭБ.

Таблица 1

Анализ эпизоотической ситуации по протозойным кровепаразитарным болезням в РФ

Федеральный Округ	Бабезиоз (=пироплазмоз) крупного рогатого скота					
	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Центральный ФО	-	-	-	-	-	-
Северо-Западный ФО	-	-	-	-	-	-
Южный ФО	321/0	249/0	173/0	265/0	215/2	49/0
Северо-Кавказский ФО	3719/107	2386/68	1599/41	1350/9	1435/22	1277/11
Приволжский ФО	-	-	-	-	-	-
Уральский ФО	-	-	-	-	-	-
Сибирский ФО	18/0	38/0	-	-	-	-
Дальневосточный ФО	-	-	-	-	-	-
Всего по РФ	4058/107	2673/68	1772/41	1615/9	1650/24	1326/11
Южный бабезиоз крупного рогатого скота						
Центральный ФО	27/0	247/0	-	-	-	25/0
Северо-Западный ФО	-	-	-	-	-	-
Южный ФО	42/0	5/0	-	6/1	6/1	11/0
Северо-Кавказский ФО	-	-	-	-	-	-
Приволжский ФО	-	-	-	-	-	10/0
Уральский ФО	-	-	-	-	-	-
Сибирский ФО	-	77/0	-	-	-	-
Дальневосточный ФО	-	-	-	-	-	-
Всего по РФ	69/0	329/0	-	6/1	6/1	46/0
Северный бабезиоз крупного рогатого скота						
Центральный ФО	-	-	-	-	-	-
Северо-Западный ФО	-	-	-	142/0	165/0	53/0
Южный ФО	-	-	-	-	-	-
Северо-Кавказский ФО	-	-	-	-	-	-
Приволжский ФО	-	-	-	-	-	-
Уральский ФО	-	-	-	-	-	-
Сибирский ФО	-	-	-	-	-	-
Дальневосточный ФО	-	-	-	-	-	-
Всего по РФ	-	-	-	142/0	165/0	53/0

по федеральным округам (количество заболевших животных/ количество павших)

Таблица 2

Анализ эпизоотической ситуации по бабезиозу собак в РФ по федеральным округам (по данным ФГУ «Центр ветеринарии», г. Москва)

Федеральный Округ	Бабезиоз (=пироплазмоз) собак					
	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Центральный ФО	2542	4072	2985	3419	6158	6727
в т.ч. г. Москва	1757	3686	2779	3263	5985	6479
Северо-Западный ФО	-	2	5	302	561	793



Федеральный Округ	Бабезиоз (=пироплазмоз) собак					
	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Южный ФО	102	118	134	105	56	69
Северо-Кавказский ФО	-	-	-	-	-	-
Приволжский ФО	72	-	-	-	-	-
Уральский ФО	-	-	-	-	-	-
Сибирский ФО	1	-	-	3	35	-
Дальневосточный ФО	-	-	-	-	-	68
Всего по РФ	2716	4242	3137	3836	6810	7657

Литература

1. Белицер А.В. Пироплазмы: В кн.: «Инфекционные и инвазионные болезни домашних животных».- 1929. — с. 66-152
2. Белименко В.В., Заблоцкий В.Т., Саруханян А.Р., Христиановский П.И. Бабезиоз собак // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.- №2.- 2012. — с. 42-46.
3. Белименко В.В. Возможность применения низких доз диминазена ацетурата для лечения бабезиоза собак // Ветеринар.- № 1. — 2009. — с. 22-24.
4. Белименко В.В., Христиановский П.И. Некоторые аспекты бабезиоза собак на урбанизированных территориях // Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных болезней молодняка и других возрастных групп сельскохозяйственных животных, рыб и пчел», посвященная 50-летию со дня основания лаборатории лейкологии, лаборатории иктопатологии и отдела охраны полезной энтомофауны ВИЭВ, 26-27 апреля 2011, Москва — с. 309-310.
5. Белименко В.В., Заблоцкий В.Т., Христиановский П.И. Бабезиоз собак в Российской Федерации // Journal of Small Animal Practice.- Российское издание.- ноябрь 2013.- том 4.- № 6. — с.43-46.
6. Георгиу Х., Белименко В.В. Эпизоотическая обстановка по бабезиозу среди беспризорных собак в г. Москве // Ветеринарная патология.- № 2.- 2007 — с. 146-147.
7. Заблоцкий В.Т., Белименко В.В., Ахмадов Н.А. Бабезиоз (пироплазмоз) крупного рогатого скота. Часть 1. // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные.- №1.- 2012 — с. 43-44
8. Лощинин М.Н., Белименко В.В., Заблоцкий В.Т. Клинический случай смешанной инвазии дирофиляриоза, бабезиоза и эрлихиоза у собаки // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные.- №3.- 2013 — с. 27-28
9. Марков А.А., Петрашевская Е.Н., Калмыков Е.С. Пироплазмы сельскохозяйственных животных. — М.: Сельхозгиз.- 1935. — 144с.
10. Молотова Н. В. Клинический случай смешанной инфекции: бабезиоз и риккетсиоз у собаки // XV Московский международный ветеринарный конгресс по болезням мелких домашних животных.- 2007 — с.17-18.
11. Христиановский П.И. Закономерности формирования биотопов иксодовых клещей и природных очагов пироплазмоза на городских территориях // Вестник ОГУ.- № 12.- 2004. — с. 117-120.
12. Христиановский П.И., Белименко В.В. Иксодовые клещи в условиях современного города // Ветеринария.- № 4.- 2004 — с. 33-34.
13. Христиановский П.И., Белименко В.В., Заблоцкий В.Т., Якушева О.В. Гельминты и кровепаразиты свиней в Оренбургской области // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные, №2.- 2012. — с. 16-17.
14. Beque P. Treatment of canine piroplasmiasis with "Zothelone" // Veter. Bullet. 9.-11.-1939.- p. 801.
15. Binns H.R. The treatment of canine piroplasmiasis with acaprin // The veter. Journal.- v. 94.- №11.- 1938 — p. 425.
16. Botha H. The cerebral from of babesiosis in dogs // J. S. Afr. Vet. Med. Ass.- vol. 35.- 1964. — p. 27-28.
17. Fernandez P.J., White W.R. Atlas of transboundary animal diseases. — OIE, 1910.
18. Davis J.W., Anderson R.C. Parasitic diseases of wild mammals // The Iowa state university press, Iowa, U.S.A.- 1971.
19. Jacobson L.S., Clark I. The pathophysiology of Canine babesiosis: new approaches to an old puzzle // Journal of the South African Veterinary Associations 65.- 1994. — p. 134-145
20. Zwart D., Brocklesby D.W. Babesiosis: non-specific resistance, immunological factors and pathogenesis. Adv. Parasitol. 17.- 1979 — p. 49-113.
21. http://old.vetupkirov.ru/our_publications/?ELEMENT_ID=866&SECTION_ID=



References

1. Belitsner A.V. Piroplasmosis. *Infektsionnye i invazionnye bolezni domashnih zhivotnyh* [Infectious and invasion diseases in domestic animals], 1929, pp. 66-152
2. Belimenko V.V., Zablockiy V.T., Saruhanyan A.R., Khristianovskiy P.I. Babesiosis in dogs. *Rossiyskiy veterinarnyi zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye* [Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals], 2012, no.2, pp. 42-46.
3. Belimenko V.V. Possible use of Diminazine aceturate at low doses for babesiosis in dogs. *Veterinariya* [Veterinary], 2009. no.1, pp. 22-24.
4. Belimenko V.V., Hristianovskiy P.I. Some aspects of babesiosis in dogs on the urbanized territories. *Materialy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Aktual'nye problemy infektsionnykh bolezney molodnyaka i drugih vozrastnykh grupp sel'skhozajstvennykh zhivotnykh, ryb i pchel», posvyashhennaya 50-letiju so dnya osnovaniya laboratorii leykozoologii, laboratorii ihtopatologii i otdela ohrany poleznoy entomofauny VIEV, 26-27 Apr. 2011* [Proceedings of International scientific- practical conference «Current problems of infectious diseases in young livestock and other age groups of farm animals, fishes and bees» devoted to the 50th anniversary of the foundation of Laboratory of leucozoology, Laboratory of ichtyopathology and Department for protection of beneficial entomofauna, Moscow, 2011, Apr. 26-27, pp. 309-310.
5. Belimenko V.V., Zablotskiy V.T., Khristianovskiy P.I. Babesiosis of dogs in Russian Federation. *Journal of Small Animal Practice*, 2013, vol. 4, no. 6, pp. 43-46.
6. Georgiu H., Belimenko V.V. Epizootic situation on babesiosis among stray dogs in Moscow. *Veterinarnaya patologiya* [Veterinary Pathology], 2007, no. 2, pp. 146-147.
7. Zablotskiy V.T., Belimenko V.V., Ahmadov N.A. Babesiosis (piroplasmosis) in cattle. Part 1. Farm animals. *Rossiyskiy veterinarnyi zhurnal* [Russian Veterinary Journal], 2012, no.1, pp. 43-44
8. Loshinin M.N., Belimenko V.V., Zablotskiy V.T. Clinic case of mixed invasion with dirofilariosis, ehrlichiosis and babesiosis in a dog. *Rossiyskiy veterinarnyi zhurnal Melkie domashnie i dikiye zhivotnye* [Russian Veterinary Journal. Small domestic and wild animals], 2013, no. 3, pp. 27-28
9. Markov A.A., Petrashevskaja E.N., Kalmykov E.S. *Piroplazmozy sel'skhozajstvennykh zhivotnykh* [Piroplasmosis in farm animals]. Moscow, Selhoozgid, 1935. 144p.
10. Molotova N. V. Молотова Н. В. Clinical case of mixed infection: babesiosis and rickettsiosis in a dog. *XV Moskovskiy mezhdunarodnyy veterinarnyj kongress po boleznyam melkih domashnih zhivotnykh* [XV Moscow International Veterinary Congress on diseases of small domestic animals]. 2007, pp. 17-18.
11. Hristianovskiy P.I. Regularities for formation of biotopes of ixodid ticks and natural foci of piroplasmosis on urban territories. *Vestnik OGU* [Bulletin of Orenburg State University], 2004, no.12, pp. 117-120.
12. Hristianovskiy P.I., Belimenko V.V. Ixodid ticks in conditions of modern city. *Veterinariya* [Veterinary], 2004, no.4, pp. 33-34.
13. Hristianovskiy P.I., Belimenko V.V., Zablotskiy V.T., Yakusheva O.V. Helminths and blood parasites in pigs from Orenburg region. *Rossiyskiy veterinarnyi zhurnal. Sel'skhozajstvennyye zhivotnye* [Russian Veterinary Journal. Farm animals], 2012, no. 2, pp. 16-17.
14. Beque P. Treatment of canine piroplasmosis with "Zothelone". *Veter. Bullet.*, 1939, no. 9-11, p. 801.
15. Binns H.R. The treatment of canine piroplasmosis with acaprin. *The veter. Journal*, 1938, vol. 94, no.11, p. 425.
16. Botha H. The cerebral from of babesiosis in dogs. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.* 1964, vol. 35, pp. 27-28.
17. Fernandez P.J., White W.R. Atlas of transboundary animal diseases. 1910, OIE
18. Davis J.W., Anderson R.C. Parasitic diseases of wild mammals. The Iowa state university press, Iowa, U.S.A. 1971.
19. Jacobson L.S., Clark I. The pathophysiology of Canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. *Journal of the South African Veterinary Associations*, 1994, no.65, pp. 134-145
20. Zwart D., Brocklesby D.W. Babesiosis: non-specific resistance, immunological factors and pathogenesis. *Adv. Parasitol.*, 1979 no.17, pp. 49-113.
21. http://old.vetuprkirov.ru/our_publications/?ELEMENT_ID=866&SECTION_ID=



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13272

Article history:

Received 03.03.2015

Accepted 01.09.2015

HEMOSPORIDIOSIS OF FARM, DOMESTIC AND WILD ANIMALS ON THE TERRITORY OF RUSSIAN FEDERATION

Samoylovskaya N.A.¹, Uspensky A.V.¹, Novosad E.V.², Gulyukin E.A.³, Malysheva N.S.⁴,
Buryonok A.S.¹, Orlova I.I.¹, Belousova I.N.¹

¹All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St., e-mail: samoylovskaya@vniigis.ru, director@vniigis.ru,

²Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), 117997, Moscow, 1 Ostrovityanov St.

³All-Russian Scientific Research Institute of Experimentally Veterinary Medicine named after Ya.R. Kovalenko, 109428, Moscow, 24 Ryasansky prosp., build. 1

⁴Kursk State University, 305000, Kursk, 33 Radishchev St.

Abstract

Objective of research: analysis of epizootic situation on protozoan blood parasitic diseases in domestic and wild animals on the territory of Russian Federation

Materials and methods: Veterinary reporting forms, sources of literature.

Results and discussion: The data on epizootic situation related to protozoan blood parasitic diseases in animals on the territory of RF have been obtained and analyzed in this article. It was determined that for a proper evaluation of epizootic situation it is necessary to combine the activities of scientific-research institutes and veterinary services for the purpose of development of monitoring based on recommendations of the International Epizootic Bureau (IEB).

Keywords: piroplasmidosis, babesiosis, anaplasmosis, theileriosis, nuttalliosis, blood parasitic diseases, invasion diseases, cattle, sheep, dogs.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 03.12.2014
Принята в печать 21.03.2015

УДК 619:616.995.121.56
DOI:10.12737/13273

Бекиш В.Я., Зорина В.В. Генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при тенидозах // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 45–52.
Bekish V.Ya., Zorina V.V. Genotoxic and cytotoxic effects in host cells at taeniidosis. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 45–52.

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В КЛЕТКАХ ХОЗЯИНА ПРИ ТЕНИДОЗАХ

В.Я. Бекиш, В.В. Зорина

Витебский государственный медицинский университет, 210023, Беларусь, г. Витебск, пр-т Фрунзе,
27, e-mail: bekishvl@tut.by

Реферат

Цель исследований — изучение состояния уровней возможных первичных повреждений ДНК соматических и генеративных клеток хозяина при инвазиях свиным и бычьим цепнями на имагинальной стадии развития, а также при сенсбилизации белковыми соматическими продуктами из тканей тениид в зависимости от дозы их введения.

Материалы и методы. Исследования по изучению влияния инвазии свиным или бычьим цепнями на соматические и генеративные клетки хозяина были проведены на 15 золотистых хомяках-самцах, разделенных на 3 группы. Первая служила незараженным контролем, животные второй и третьей инвазированы соответственно *Taenia solium* и *T. saginatus* в дозе по 20 цистицерков на голову. Щелочной гель-электрофорез изолированных клеток костного мозга и семенников у животных всех групп проводили на 45-е сутки от начала опыта. Интенсивность инвазий определяли путем подсчета паразитов в тонком кишечнике. Изучение возможных генотоксического и цитотоксического эффектов в геноме млекопитающих при трехкратной подкожной сенсбилизации белковыми соматическими продуктами (БСП) из тканей половозрелых паразитов *T. solium* и *T. saginatus* проводили на 35 мышах-самцах, которых разделили на 3 группы аналогично предыдущему опыту. Мышам контрольной группы вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра по 0,2 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. Животным второй и третьей групп вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра БСП *T. solium* или БСП *T. saginatus* из расчета 200, 400 или 800 мкг/г массы тела животного соответственно. Учет изменений щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в клетках костного мозга и семенников сенсбилизированных животных осуществляли на 4-е сутки от первого введения паразитарного продукта. Концентрацию общего белка в БСП определяли биуретовым методом. Повреждения молекулы ДНК при щелочном гель-электрофорезе изолированных клеток анализировали с использованием программы «CASP v. 1.2.2». Из каждого микропрепарата подсчитывали по 100 клеток, в каждой из которых учитывали «длину хвоста» кометы в пикселях, а также процент ДНК в «хвосте». В качестве показателя генотоксического воздействия факторов среды использовали «момент хвоста», вычисленный из «длины хвоста», умноженной на процент ДНК в «хвосте». Для оценки цитотоксического воздействия метаболитов гельминтов и их паразитарных продуктов на клетки костного мозга, семенников животных в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических, изображения которых характеризуют минимальные размеры ядра и большой хвост, разбросанный во все стороны. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Statistica 5.0. и Excel 2002.

Результаты и обсуждение. Установлено, что трехкратная подкожная сенсбилизация белковыми соматическими продуктами из тканей *T. solium* и *T. saginatus* сопровождается

генотоксическим эффектом в соматических клетках костного мозга и генеративных клетках семенников мышей линии СВА, который характеризуется ростом одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток. Рост повреждений ядерной молекулы ДНК клеток зависит от дозы белкового соматического продукта из тканей *T. solium* и достоверно возрастает при ее увеличении. Белковые соматические продукты из тканей *T. solium* и *T. saginatus* при трехкратной подкожной сенсибилизации проявляют цитотоксическое воздействие в виде роста апоптотических клеток костного мозга и семенников. Белковый соматический продукт из тканей *T. saginatus* обладает дозозависимым цитотоксическим воздействием.

Ключевые слова: *Taenia solium*, *T. saginatus*, гель-электрофорез, повреждения генома, генотоксический и цитотоксический эффекты, золотистый хомяк.

Введение

Свинные цепни продуцируют вещества, которые вызывают генетическую нестабильность в клетках хозяина и могут приводить к малигнизации последних [7]. Инвазия цистицерками *Taenia solium* приводит к повышению уровней хромосомных aberrаций, гиперплоидных клеток [8, 10], сестринских хроматидных обменов [7] в лимфоцитах зараженных свиней. Этот феномен достигает наибольшей выраженности на 6–8-й неделях инвазии. В лимфоцитах крови свиней, зараженных *T. solium*, отмечают повышение уровней микроядер и их предшественников [11].

Сенсибилизация белковыми соматическими продуктами из тканей гельминтов (*Hymenolepis nana*, *Trichocephalus muris*, *Ascaris suum*, *Toxocara canis*, *Trichinella spiralis*) сопровождается кластогенным и анеугенным воздействиями, индуцируя повреждения в соматических и генеративных клетках хозяина. Рост повреждений в геноме максимально выражен в течение 1-й недели от начала сенсибилизации. Тяжесть повреждений в наследственном аппарате соматических клеток сенсибилизированных животных возрастает при увеличении дозы паразитарного продукта [3].

Возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в геноме млекопитающих при сенсибилизации белковыми соматическими продуктами из тканей бычьего и свиного цепней ранее не исследовались.

Целью исследования было изучение состояния уровней возможных первичных повреждений ДНК соматических и генеративных клеток хозяина при инвазиях свинным и бычьим цепнями на имагинальной стадии развития, а также при сенсибилизации белковыми соматическими продуктами из тканей тениид в зависимости от дозы их введения.

Материалы и методы

Для изучения наличия возможных генотоксического и цитотоксического эффектов в геноме млекопитающих при инвазиях тениид и при трехкратной подкожной сенсибилизации белковыми соматическими продуктами (БСП) из тканей половозрелых паразитов *T. solium* и *Taeniarinchus saginatus* применяли щелочной гель-электрофорез изолированных клеток (метод ДНК-комет) в костном мозге и семенниках по Singh et al. [12] в модификации Hellman et al. [6] и нашими изменениями [5].

Изучение влияния инвазии свинным или бычьим цепнями на соматические и генеративные клетки хозяина были проведены на 15 золотистых хомяках-самцах массой 50–60 г, которые были разделены на 3 группы по 5 животных в зависимости от вида возбудителя: первая — контрольная, вторая — инвазия *T. solium* и третья — инвазия *T. saginatus*. Всем опытным и контрольным животным для повышения вероятности приживления и более длительного паразитирования тениид проводили обработку дексаметазоном подкожно в дозе 0,4 мг на животное за двое суток до заражения и далее 2 раза в неделю после заражения в течение полутора месяцев [1]. Мышам контрольной группы вводили перорально по 1 мл 2%-ного крахмального геля. Хомяков второй и третьей групп заразили в дозе по 20 цистицерков свиного или бычьего цепней. Цистицерки брали из свежего финнозного мяса животных, полученного с мясокомбинатов. У животных всех групп проводили щелочной гель-электрофорез изолированных клеток костного мозга и семенников на 45-е сутки от начала опыта. Интенсивность инвазий определяли путем подсчета паразитов в тонком кишечнике.



Изучение возможных генотоксического и цитотоксического эффектов в геноме млекопитающих при трехкратной подкожной сенсибилизации БСП из тканей половозрелых *T. solium* и *T. saginatus* проводили на 35 мышах-самцах линии СВА 4–5-месячного возраста массой 18–20 г. Животные были разделены на 3 группы в зависимости от исследуемого паразитарного продукта: первая контрольная группа состояла из 5 мышей, вторая (БСП *T. solium*) и третья (БСП *T. saginatus*) — по 15 мышей. Мышам контрольной группы вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра по 0,2 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. Вторая и третья группы состояли каждая из 3 подгрупп по 5 животных, которым вводили трехкратно подкожно во внутреннюю поверхность бедра БСП *T. solium* или БСП *T. saginatus* из расчета 200, 400 или 800 мкг/г массы тела животного соответственно. Учет изменений щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в клетках костного мозга и семенников сенсибилизированных животных осуществляли на 4-е сутки от первого введения паразитарного продукта.

БСП из целых половозрелых тениид получали по разработанному нами методу [2]. Половозрелых *T. solium* и *T. saginatus* выделяли из фекалий зараженных животных после дегельминтизации празиквантелом. Стробилы трех свиных цепней длиной около 0,5 м и одного бычьего цепня длиной 5 м замораживали отдельно при $t -10^{\circ}\text{C}$ в стеклянных колбах вместимостью 250 мл, после чего проводили лиофильное высушивание на установке «Иней-2» в течение 3 ч. Из высушенных тканей для получения БСП брали навески по 4 г и помещали в стеклянные колбы вместимостью 50 мл, содержащие по 25 мл раствора 0,9%-ного хлорида натрия. Паразитов измельчали в гомогенизаторе Поттера и далее гомогенизировали ультразвуком 20–30 мин при частоте 20–24 КГц. Суспензии из тканей гельминтов центрифугировали 1 ч при 8000 об/мин. Супернатант стерилизовали через бактерицидные капроновые фильтры с размером пор 0,45 мкм и использовали как БСП, который помещали в стерильные вакутайнеры. Концентрацию общего белка в БСП определяли биуретовым методом [4].

Учет повреждений молекулы ДНК при щелочном гель-электрофорезе изолированных клеток проводили путем анализа цифровых изображений автоматической программой «CASP v. 1.2.2». Из каждого микропрепарата подсчитывали по 100 клеток, в каждой из которых учитывали «длину хвоста» кометы в пикселях, а также процент ДНК в «хвосте». В качестве показателя генотоксического воздействия факторов среды использовали «момент хвоста», вычисленный из «длины хвоста», умноженной на процент ДНК в «хвосте». Для оценки цитотоксического воздействия метаболитов гельминтов и их паразитарных продуктов на клетки костного мозга, семенников животных в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических, изображения которых характеризуют минимальные размеры ядра и большой хвост, разбросанный во все стороны.

Статистическую обработку полученных цифровых данных проводили с использованием программ Statistica 5.0. и Excel 2002. Просчитывали среднюю арифметическую и стандартное отклонение средней арифметической ($M \pm SD$). Достоверность выявляемых различий определяли по *t*-критерию Стьюдента. Полученные результаты считали достоверными при $P < 0,01-0,05$.

Результаты и обсуждение

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток костного мозга и семенников при тениозной и тениоринхозной инвазиях у золотистых хомяков определяли на 45-е сутки от заражения (табл. 1).

При проведении метода ДНК-комет в клетках костного мозга интактного контроля «момент хвоста» составил $0,07 \pm 0,02$, а процент апоптотических клеток — $2,40 \pm 0,55$. В клетках семенников контрольных животных «момент хвоста» был $0,15 \pm 0,08$, а процент апоптотических клеток — $3,40 \pm 1,14$.

У зараженных свиньями цепнями золотистых хомяков на 45-е сутки наблюдения «момент хвоста» в клетках костного мозга был выше в 15,7 раза. «Момент хвоста» клеток семенников, проценты апоптотических клеток костного мозга и семенников не отличались от показателей животных негативного контроля. Число половозрелых паразитов в тонком кишечнике в среднем составило $11,80 \pm 3,03$ экз.

Таблица 1

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток костного мозга и семенников золотистых хомячков при тенидозах

Тип клеток	Группа животных	% ДНК в «хвостах комет»	Длина «хвостов комет» (в пикселях)	«Момент хвоста»	% апоптотических клеток
Костный мозг	Негативный контроль	1,86 ± 0,44	4,00 ± 1,00	0,07 ± 0,02	2,40 ± 0,55
	Инвазия <i>T. solium</i>	6,36 ± 2,14*	16,00 ± 6,20*	1,10 ± 0,71*	2,60 ± 0,89
	Инвазия <i>T. saginatus</i>	8,03 ± 1,79*	18,20 ± 6,98*	1,55 ± 0,90*	2,80 ± 0,84
Семенники	Негативный контроль	1,84 ± 0,65	8,20 ± 2,17	0,15 ± 0,08	3,40 ± 1,14
	Инвазия <i>T. solium</i>	1,82 ± 0,38	9,80 ± 1,30	0,18 ± 0,06	3,80 ± 0,84
	Инвазия <i>T. saginatus</i>	2,06 ± 0,73	9,40 ± 6,96*	0,19 ± 0,06	3,60 ± 0,55

Примечание: * — достоверное отличие от данных негативного контроля при $P < 0,01-0,05$.

У зараженных бычьими цепнями золотистых хомячков на 45-е сутки наблюдения «момент хвоста» в клетках костного мозга был выше в 22,1 раза. «Момент хвоста» клеток семенников и проценты апоптотических клеток костного мозга и семенников не отличались от показателей животных негативного контроля. Число половозрелых паразитов в тонком кишечнике в среднем составило $10,2 \pm 1,79$ экз.

При проведении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток костного мозга у сенсibilизированных БСП из тканей *T. solium* в дозе 200 мкг/г массы тела животных «момент хвоста» и процент апоптотических клеток достоверно не превышал контрольный уровень (табл. 2). При повышении дозы БСП из тканей *T. solium* до 400 мкг/г в костном мозге наблюдали повышение «момента хвоста» и процента апоптотических клеток в 2,5 и 12 раз соответственно по сравнению с показателями контрольной группы. Увеличение дозы БСП из тканей *T. solium* до 800 мкг/г характеризовалось повышением «момента хвоста» клеток костного мозга у сенсibilизированных животных в 3,6 раза по отношению к показателям контроля. Процент апоптотических клеток в 11 раз превышал уровень негативного контроля.

При сенсibilизации животных БСП из тканей *T. saginatus* в дозе 200 мкг/г массы тела все исследуемые показатели щелочного гель-электрофореза отдельных клеток костного мозга не превышали контрольные показатели. Увеличение дозы сенсibilизации БСП из тканей *T. saginatus* до 400 мкг/г массы тела сопровождалось достоверным повышением «момента хвоста» и уровня апоптотических клеток в 4,25 и 15 раз соответственно по сравнению с контрольными показателями. При увеличении дозы БСП из тканей *T. saginatus* до 800 мкг/г «момент хвоста» клеток костного мозга сенсibilизированных животных был выше в 10,1 раз показателя негативного контроля и в 2,4 раза превышал этот показатель при дозе в 400 мкг/г. Процент апоптотических клеток в 31 раз превышал уровень негативно-го контроля и в 2,1 раза был больше, чем при дозе в 400 мкг/г.

Таблица 2

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток костного мозга мышей при трехкратной подкожной сенсibilизации БСП из тканей тениид

Группа животных	Доза, мкг/г	% ДНК в «хвостах комет»	Длина «хвостов комет» (в пикселях)	«Момент хвоста»	% апоптотических клеток
Негативный контроль	—	0,85±0,23	5,16±0,67	0,08±0,03	0,20±0,45
БСП <i>T. solium</i>	200	1,10 ± 0,40	5,32 ± 0,87	0,09 ± 0,03	0,40 ± 0,55
	400	1,88 ± 0,90*	7,16 ± 2,21	0,20 ± 0,07*	2,40 ± 0,55*
	800	2,52 ± 1,19*	7,81 ± 0,70*	0,29 ± 0,08*	2,20 ± 0,84*



Окончание табл. 2

Группа животных	Доза, мкг/г	% ДНК в «хвостах комет»	Длина «хвостов комет» (в пикселях)	«Момент хвоста»	% апоптотических клеток
БСП <i>T. saginatus</i>	200	0,97 ± 0,46	6,40 ± 1,67	0,10 ± 0,04	0,60 ± 0,89
	400	3,43 ± 0,63*	9,60 ± 3,71*	0,34 ± 0,19*	3,00 ± 0,71*
	800	5,97 ± 2,08*#	13,20 ± 1,30*	0,81 ± 0,37*#	6,20 ± 0,84*#

Примечание: * — достоверное отличие от данных негативного контроля; # — от данных дозы 400 мкг/г при $P < 0,01-0,05$.

При щелочном гель-электрофорезе изолированных клеток в семенниках у сенсibilизированных БСП из тканей *T. solium* в дозе 200 мкг/г массы тела животных «момент хвоста» и процент апоптотических клеток достоверно не превышал контрольный уровень (табл. 3). При повышении дозы БСП из тканей *T. solium* до 400 мкг/г в семенниках наблюдали повышение «момента хвоста» и процента апоптотических клеток в 4,46 и 2,5 раз соответственно по сравнению с контрольными показателями. При увеличении дозы БСП из тканей *T. solium* до 800 мкг/г «момент хвоста» клеток семенников сенсibilизированных животных был выше в 3,6 раза показателя негативного контроля. Процент апоптотических клеток в 1,8 раз превышал уровень негативного контроля.

Таблица 3

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток семенников мышей при трехкратной подкожной сенсibilизации БСП из тканей тениид

Группа животных	Доза, мкг/г	% ДНК в «хвостах комет»	Длина «хвостов комет» (в пикселях)	«Момент хвоста»	% апоптотических клеток
Негативный контроль	—	2,99 ± 1,35	7,07 ± 1,74	0,26 ± 0,10	2,40 ± 0,55
БСП <i>T. solium</i>	200	3,59 ± 1,56	9,20 ± 3,03	0,37 ± 0,27	2,00 ± 1,22
	400	5,81 ± 1,08*	14,71 ± 1,90*	1,16 ± 0,40*	6,00 ± 1,58*
	800	6,20 ± 1,50*	15,00 ± 3,39*	0,93 ± 0,30*	4,40 ± 1,14*
БСП <i>T. saginatus</i>	200	1,94 ± 0,92	7,84 ± 2,98	0,20 ± 0,09	2,40 ± 0,55
	400	5,85 ± 0,76*	14,40 ± 2,79*	0,83 ± 0,11*	3,60 ± 0,55*
	800	9,16 ± 2,97*#	17,60 ± 3,44*	1,60 ± 0,61*#	6,40 ± 0,55*#

Примечание: * — достоверное отличие от данных негативного контроля; # — от данных дозы 400 мкг/г при $P < 0,01-0,05$.

При сенсibilизации животных БСП из тканей *T. saginatus* в дозе 200 мкг/г массы тела все изучаемые показатели щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в семенниках сенсibilизированных мышей не превышали контрольные уровни. Увеличение дозы сенсibilизации БСП из тканей *T. saginatus* до 400 мкг/г массы тела характеризовалось достоверным повышением «момента хвоста» и уровня апоптотических клеток в 3,2 и 1,5 раз соответственно по сравнению с контрольными показателями. При увеличении дозы БСП из тканей *T. saginatus* до 800 мкг/г «момент хвоста» клеток семенников у сенсibilизированных животных был выше в 6,15 раз контрольного уровня и в 1,9 раза превышал этот показатель при дозе в 400 мкг/г. Процент апоптотических клеток в 2,7 раза превышал уровень негативного контроля и в 1,8 раза был больше, чем при дозе в 400 мкг/г.

Таким образом, изучено состояние генома хозяина при тениозе и тениоринхозе у золотистых хомяков на имагинальной стадии развития цестод. При проведении щелочного

гель-электрофореза изолированных клеток у инвазированных золотистых хомяков установлено, что метаболиты свиных и бычьих цепней обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки инвазированного хозяина, вызывая увеличение числа одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга *in vivo*. Однако, метаболиты цестод не вызывали достоверного роста первичных повреждений ДНК клеток семенников, а также не вызывали роста числа апоптотических клеток в костном мозге и семенниках. Полученные нами данные совпадают с результатами Herrera et al. [9], которые применили для оценки хромосомных aberrаций гибридизацию *in situ* и цитокенезис-блокирующий микроядерный тест и показали, что в лимфоцитах периферической крови больных нейростистицеркозом повышаются уровни микроядер, хромосомных aberrаций (1, 2, 4 пары хромосом) и транслокаций (7, 11, 14 пары хромосом). По мнению авторов эти изменения могут стимулировать у больных гематологическую раковую трансформацию. Мы считаем эту точку зрения наиболее приемлемой.

Трехкратная подкожная сенсibilизация БСП из тканей *T. solium* и *T. saginatus* в дозе 400 и 800 мкг/г сопровождается генотоксическим эффектом в соматических клетках костного мозга и генеративных клетках семенников мышей, который характеризуется ростом одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток. Рост повреждений ядерной молекулы ДНК клеток зависит от дозы БСП из тканей *T. saginatus* и достоверно возрастает при ее увеличении. Дозозависимый эффект четко прослеживается на изменениях «момента хвоста». Последний увеличивался в 2,4 раза в клетках костного и в 1,9 раза в клетках семенников при увеличении дозы БСП из тканей *T. saginatus* с 400 до 800 мкг/г массы тела животного.

БСП из тканей *T. solium* и *T. saginatus* при трехкратной подкожной сенсibilизации в дозе 400 и 800 мкг/г массы тела животного оказывает также цитотоксическое воздействие в виде роста апоптотических клеток костного мозга и семенников. Кроме того, БСП из тканей *T. saginatus* обладает дозозависимым цитотоксическим воздействием. При увеличении его дозы с 400 до 800 мкг/г массы тела животного число апоптотических клеток возрастало в 2,1 раза в костном мозге и в 1,8 раза в семенниках по сравнению с данными дозы 200 мкг/г.

Заключение

Инвазии свинными и бычьими цепнями золотистых хомяков сопровождаются генотоксическим эффектом в соматических клетках хозяина, который характеризуется ростом количества одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток костного мозга. Трехкратная подкожная сенсibilизация белковыми соматическими продуктами из тканей *T. solium* и *T. saginatus* сопровождается генотоксическим эффектом в соматических клетках костного мозга и генеративных клетках семенников мышей линии СВА, который характеризуется ростом одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток. Рост повреждений ядерной молекулы ДНК клеток зависит от дозы белкового соматического продукта из тканей *T. saginatus* и достоверно возрастает при ее увеличении. Белковые соматические продукты из тканей *T. solium* и *T. saginatus* при трехкратной подкожной сенсibilизации проявляют цитотоксическое воздействие в виде роста апоптотических клеток костного мозга и семенников. Белковый соматический продукт из тканей *T. saginatus* обладает дозозависимым цитотоксическим воздействием.

Литература

1. Астафев Б. А., Яротский Л. С., Лебедева М. Н. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. — М.: Наука, 1989. — 279 с.
2. Бекиш В. Я. Мутагенная активность антигенов из тканей аскарид // Здравоохранение. — 1999. — № 6. — С. 17–19.
3. Бекиш В. Я., Бекиш О.-Я. Л. Состояние генома хозяина при гельминтозах. — Витебск: Изд. ВГМУ, 2004. — 218 с.
4. Морозова Н. А., Барышникова Т. А. Определение белка в моче биуретовым методом // Лабораторное дело. — 1991. — № 2. — С. 23–25.
5. Дырнев А. Д. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений. Методические рекомендации. Утв. РАМН и РАСН. — М., 2006. — 27 с.



6. Hellman B., Vaghef H., Friis L., Edling C. Alkaline single cell gel electrophoresis of DNA fragments in biomonitoring for genotoxicity: an introductory study on healthy human volunteers // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* — 1997. — Vol. 69. — P.185–192.
7. Herrera L. A. et al. Immune response impairment, genotoxicity and morphological transformation induced by *Taenia solium* metacestode // *Mutat. Res.* — 1994. — Vol. 305. — P. 223–228.
8. Montero R., Ostrowsky P. Genotoxic activity of Praziquantel // *Rev. in Mutat. Res.* — 1997. — Vol. 387. — P. 123–139.
9. Herrera L. A. et al. Possible association between *Taenia solium* cysticercosis and cancer: increased frequency of DNA damage in peripheral lymphocytes from neurocysticercosis patients // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* — 2000. — Vol. 94, № 1. — P. 61–65.
10. Flisser A. et al. Praziquantel treatment of brain and muscle porcine *Taenia solium* cysticercosis // *Parasitol. Res.* — 1990. — Vol. 76. — P. 640–642.
11. Serrano–Garcia L., Montero–Montoya R. Micronuclei and chromatid buds are the result of related genotoxic events // *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen.* — 2001. — Vol. 38. — P. 38–45.
12. Singh N., McCoy M., Tice R., Schneider E. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells // *Exp. Cell Research.* — 1988. — Vol. 175. — P.184–191.

References

1. Astafyev B. A., Yarotsky L. S., Lebedeva M. N. *Eksperimental'nye modeli parazitozov v biologii i meditsine* [Experimental models of parasite diseases in biology and medicine]. Moscow, Nauka, 1989. 279 p.
2. Bekish V. Ya. Mutagenic activity of antigens from ascaris tissue. *Zdravoohranenie* [Health Care], 1999, no. 6, pp. 17–19. (In Russian)
3. Bekish V. Ya., Bekish O. Ya. *Sostoyanie genoma hozyaina pri gel'mintozah* [Status of host genome at helminthiasis]. Vitebsk, VGMU, 2004. 218 p.
4. Morozova N. A., Baryshnikova T. A. Determination of urinary protein by the biuret reaction. *Laboratornoe delo* [Laboratory work], 1991, no. 2, pp. 23–25. (In Russian)
5. Dyrnev A. D. *Primenenie metoda shchelochnogo gel'-elektroforeza izolirovannykh kletok dlya otsenki genotoksicheskikh svoystv prirodnykh i sinteticheskikh soedineniy.* Metod. rekomendatsii RAMN i RASN [Application of the alkaline single cell gel electrophoresis assay for estimation of genotoxic properties of natural and synthetic compounds]. Moscow, 2006. 27 p.
6. Hellman B., Vaghef H., Friis L., Edling C. Alkaline single cell gel electrophoresis of DNA fragments in biomonitoring for genotoxicity: an introductory study on healthy human volunteers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 1997, vol. 69, pp.185–192.
7. Herrera L. A. et al. Immune response impairment, genotoxicity and morphological transformation induced by *Taenia solium* metacestode. *Mutat. Res.*, 1994, vol. 305, pp. 223–228.
8. Montero R., Ostrowsky P. Genotoxic activity of Praziquantel. *Rev. in Mutat. Res.*, 1997, vol. 387, pp. 123–139.
9. Herrera L. A. et al. Possible association between *Taenia solium* cysticercosis and cancer: increased frequency of DNA damage in peripheral lymphocytes from neurocysticercosis patients. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2000, vol. 94, no. 1, pp. 61–65.
10. Flisser A. et al. Praziquantel treatment of brain and muscle porcine *Taenia solium* cysticercosis. *Parasitol. Res.*, 1990, vol. 76, pp. 640–642.
11. Serrano–Garcia L., Montero–Montoya R. Micronuclei and chromatid buds are the result of related genotoxic events. *Mutat. Res. Envir. and Mol. Mutagen*, 2001, vol. 38, pp. 38–45.
12. Singh N., McCoy M., Tice R., Schneider E. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Research*, 1988, vol. 175, pp. 184–191.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.1737/13273

Article history:

Received 03.12.2014

Accepted 21.03.2015

GENOTOXIC AND CYTOTOXIC EFFECTS IN HOST CELLS AT TAENIIDOSIS

Bekish V.Ya., Zorina V.V.

Vitebsk State Medical University, Belarus

210023, Belarus, Vitebsk, 27 Frunze prsp., e-mail: bekishvl@tut.by

Abstract

Objective of research: The pork and beef tapeworm infestation is characterized by the increase of single-strand breaks, alkali-labile sites in nuclear DNA of bone marrow cells of golden hamsters. A triple subdermal sensibilisation with protein somatic products from the tissue of *Taenia solium* or *Taeniarinchus saginatus* is accompanied by a genotoxic effect in somatic bone marrow cells and generative cells in mouse seminal vesicles. It is manifested by increased single-strand breaks and alkali-labile sites in a nuclear DNA. The increase of damage of nuclear DNA depends on the dose of protein somatic products from the tissue of *T. saginatus*, it authentically grows up when a higher dose is used. Protein somatic products from the tissue of *T. solium* or *T. saginatus* at subdermal sensibilisation have a cytotoxic effect manifested in growth of apoptotic cells in bone marrow and seminal vesicles.

Materials and methods. To study the genotoxic and cytotoxic effects in genome of mammals at taenia infection and at triple subdermal sensibilisation with protein somatic products from the tissue of *T. solium* or *T. saginatus* the alkaline single cell gel electrophoresis by Singh et al., modified by Hellman et al. (comet) assay is used for investigation of bone marrow and seminal vesicles.

Results and discussion. The values of the alkaline single cell gel electrophoresis (comet) assay of bone marrow and seminal vesicles at *T. solium* or *T. saginatus* infection in golden hamsters were determined on 45th day of infestation.

Keywords: *Taenia solium*, *T. saginatus*, gel electrophoresis, genome damage, genotoxic and cytotoxic effects, golden hamster.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 19.10.2014
Принята в печать 24.03.2015

УДК 616:619.995.132
DOI:10.12737/13274

Окулова И.И.¹, Жданова О.Б.² Патоморфологические изменения в органах дыхания и некоторые аспекты патогенеза при диктиокаулезе лося // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 53–60.

Okulova I.I., Zhdanova O.B. Pathomorphological changes in the respiratory organs and some aspects of the pathogenesis of dictyocaulosis in elk. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 53–60.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ДЫХАНИЯ И НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ПРИ ДИКТИОКАУЛЕЗЕ ЛОСЯ

И.И. Окулова¹, О.Б. Жданова²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства им. проф. Б. М. Житкова, 610000, г. Киров, Преображенская, 79

² Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина, Москва, Б. Черемушкинская, 28, e-mail: oliabio@yandex.ru

Реферат

Цель исследования — изучение патоморфологических изменений в органах дыхания лосей при диктиокаулезе.

Материалы и методы. Проведено гельминтологическое вскрытие трупа лося, спонтанно инвазированного *Dictyocaulus eckerti*. Для гистологического исследования отобрали кусочки пораженных участков легких на границе со здоровой тканью. Материал фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина. Изготовление парафиновых гистологических срезов толщиной 5–7 мкм проводили по общепринятым методикам. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Микрофотосъемку осуществляли камерой «Digital» на микроскопе «Genaval».

Результаты и обсуждение. В легких лося, инвазированного *D. eckerti*, выявлены существенные структурные изменения. Личинки *D. eckerti* обнаружены в гранулёмах в просветах мелких и средних бронхах. При патогистологическом исследовании легких теленка лося обнаружено наличие множественных паразитарных гранулём, очагов гиперемии и кровоизлияний. В местах локализации паразита интерстициальная ткань легкого утолщена за счет инфильтрации лимфоидными клетками, эозинофилами, единичными нейтрофилами и гистиоцитами и очагового разрастания соединительной ткани.

Ключевые слова: лось, диктиокаулез, легкие, лимфоциты, гранулёма.

Введение

Диктиокаулез — болезнь, возникающая вследствие поражения травоядных жвачных легочными геогельминтами семейства Dictyocaulidae класса нематод. Род *Dictyocaulus* имеет два подрода: *Dictyocaulus* (Railliet et Henry, 1907; Skrjabin, 1934) и *Micrurocaulus* Skrjabin, 1934. Позднее был установлен третий подрод — *Vesiculocaulus* Polanskaja et Tschertkova, 1964. В подрод *Dictyocaulus* входят два вида: *Dictyocaulus filaria* (Rudolphi, 1809, Railliet et Henry, 1907) — паразит мелкого рогатого скота и верблюдов; *D. arnfieldi* (Cobbold, 1884, Railliet et Henry, 1907) — паразит лошадей, мулов, ослов и зебр. В подрод *Micrurocaulus* входят три вида: *D. (Micrurocaulus) viviparus* (Bloch, 1782; Railliet et Henry, 1907) — паразит крупного рогатого скота и бизонов; *D. (Micrurocaulus) cameli* Bovey, 1951 — паразит верблюдов; *D. (Micrurocaulus) eckerti* Skrjabin, 1931 — паразит северных оленей, маралов, лосей

и косуль. В подрод *Vesiculocaulus* входит вид *D. (Vesiculocaulus) murmanensis* (Polanskaja et Tschertkova, 1964), обнаруженный у северного оленя. Виды диктиокаулюсов специфичны для своих хозяев. Личинками *D. filaria*, *D. cameli* удавалось экспериментально заражать телят, но приживаемость гельминтов была очень низкой и они не развивались до половозрелых особей.

Наиболее полно описана этиология заболевания на примере домашних животных: коров, овец, лошадей [3, 6, 7]. Однако патогенез, клиническая картина и этиология этого гельминтоза у диких жвачных изучены недостаточно. Считается, что из диких животных к диктиокаулезу восприимчивы благородные, пятнистые, белохвостые и северные олени; антилопы, буйволы, верблюды, косули, лани, лоси, тапиры, серны, зубры и другие копытные [2, 7, 15].

D. eckerti имеет некоторые морфологические отличия от других представителей рода: нитевидное тело беловатого цвета длиной 18,9–65,0 мм. Ротовое отверстие без губ, окружено двумя рядами симметрично сидящих сосочков и кутикулярным кольцом, на дне ротовой полости выдается небольшой зуб. Хвост самки заострен; вульва на середине тела. Хвост самца снабжен половой бурсой с двумя равными, желтыми, ноздреватыми спикулами, небольшим продолговатым рульком. В отличие от других представителей диктиокаула, у *D. eckerti* дорсальные ребра на вершине расщеплены на три лопасти, наружнордорсальное ребро на вершине утолщено; среднелатеральные и заднелатеральные срослись на всем протяжении; переднелатеральное ребро на конце пуговчато утолщено; вентральные ребра срослись у основания, но расщеплены на большей части длины: спикулы длиной 0,204–0,260 мм. Яйца у диктиокаула светло-серые, слегка эллипсоидной формы, содержат личинку. Длина яиц 0,068–0,092 мм при ширине 0,044–0,050 мм.

Половозрелые паразиты откладывают в бронхах животных яйца со сформированными внутри личинками, которые с мокротой попадают в ротовую полость и заглатываются. В пищеварительном тракте личинки вылупляются и с фекалиями попадают во внешнюю среду, где дважды линяют и достигают инвазионной стадии. При наличии влаги, кислорода и оптимальной температуры (до 20 °C) развитие личинок *D. eckerti* заканчивается за 3 дня. При понижении температуры до 10 °C срок развития удлинится до двух недель и более. Развивающиеся личинки свободно живут под тонким слоем чистой воды (на глубине более 15 см и при развитии гнилостной микрофлоры гибнут в течение недели). В фекалиях основная масса личинок выдерживает высыхание в течение месяца; повышение температуры до 60 °C убивает личинок почти моментально, как и прямые солнечные лучи. Инвазионные личинки выживают в воде до 3 месяцев, в фекалиях под слоем снега — до 9 мес. Личинки весьма устойчивы к воздействию химических веществ. Личинки оставались живыми до 50 мин в растворе сулемы; 25–30 мин в 75%-ном спирте; 30 мин в 1%-ном растворе формалина и 3%-ном растворе карболовой кислоты; наименее стойки личинки к 1%-ному водному раствору йода и 0,5%-ному раствору азидата натрия. Осадки вымывают личинок из фекалий, что способствует попаданию возбудителя в почву, воду и на окружающую растительность. Во многом распространение личинок связано с копрофильными грибами, куда проникают личинки. Личинки концентрируются на спорангиях гриба и разносятся по пастбищу [10]. Заражение диких животных происходит при употреблении травы и воды. Наиболее часто это заболевание поражает молодняк, особенно в вольерах или при высокой плотности популяции вида [2, 14]. Обычно сильно поражаются животные в осенний период, когда можно наблюдать многократную реинвазию [10, 15]. Инвазия *D. eckerti* распространена, в основном, на Кольском полуострове, Камчатке и в Ненецком автономном округе, в Республике Саха (Якутия) и тундре Республики Коми и на севере Кировской области.

Личинки гельминта могут развиваться до инвазионной стадии за 19 сут при низких температурах (1,9–8 °C). При температуре 9,5–19,5 °C они достигают инвазионности за 5–6 сут, при 2–11 °C — за 20, при 38 °C — за 2 сут. В воде на глубине более 20 см развитие замедляется и на 5-е сутки личинка погибает. При заражении животных поздно летом и осенью личинки в организме оленей впадают в состояние анабиоза и только весной достигают половой зрелости. При попадании в организм животного проглоченные с водой и травой инвазионные личинки травмируют слизистую оболочку тонкого отдела кишечника, далее личинки проникают в брыжеечные лимфатические узлы, там вновь линяют, затем мигрируют по лимфатическим путям, попадают в кровь и заносятся в легочные капилляры, откуда про-



никают в альвеолы и бронхи. Миграция личинок длится 5–8 сут. Травмирование сосудов, стенок альвеол, бронхиол, мелких и средних бронхов способствует развитию вторичной микрофлоры и, соответственно, воспалительных и некротических процессов. Заболевание часто ассоциируют с фунгальными инфекциями [14]. У молодняка текущего года рождения взрослых диктиокаулов обнаруживали в возрасте 3–4 мес, т. е. развитие гельминта в Кировской области завершается приблизительно за 65–80 сут. В легких лося гельминты перезимовывают, т. е. продолжительность их жизни составляет свыше 8–9 мес.

При попадании в легкие личинки становятся половозрелыми, где и размножаются [10]. Большинство личинок скапливаются в дыхательных путях, поэтому они часто могут закупоривать просветы бронхов, вследствие чего возникает ателектаз преимущественно в каудальных долях легких, а при сильной инвазии происходит закупорка крупных бронхов, трахеи или гортани. Первыми симптомами заражения являются кашель, тахипноэ и выделения из носа [8–10, 12, 14, 17–20]. В дальнейшем у животных прогрессирует угнетение, исхудание, развивается общая анемия, что может привести их к гибели [5].

У лосей диктиокаулез в форме бронхопневмонии встречается редко, в связи с чем было проведено изучение некоторых аспектов патогенеза на основании данных гистологических исследований.

Материалы и методы

Проведены патологоанатомические, гистологические исследования и полное гельминтологическое вскрытие лося по методу К. И. Скрябина. Для микроскопического исследования были отобраны кусочки из пораженных участков на границе со здоровой тканью. Материал для гистологических исследований фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина. Изготовление парафиновых гистологических срезов толщиной 5–7 мкм проводили по общепринятым методикам. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином [7]. Микрофотосъемку осуществляли камерой «DIGITAL» на микроскопе «GENAVAL».

Результаты и обсуждение

Отмечали истощение и анемию видимых слизистых оболочек. При макроскопической диагностике установлена миллиарная форма паразитарной бронхопневмонии. Несмотря на тяжелое течение легочная плевра была гладкой, блестящей, не утолщенной, полупрозрачной. Объем верхушечных, сердечных и диафрагмальных долей легкого не изменен. Цвет легких с поверхности и на разрезе пестрый: верхушечные и сердечные доли окрашены преимущественно в бледно-розовый цвет, а в частях каудальных долей легких, примыкающих к диафрагме, отмечены отдельные участки серо-белого и темно-красного цвета. В грудной и брюшной полостях большое количество транссудата. Легкие увеличены, на их поверхности прощупываются твердые узелки серого цвета, отграниченные от окружающей ткани. Участки серо-белого цвета возвышались над поверхностью легкого под плеврой, имели округло-овальную форму, разный размер (от 2–3 до 4–6 см в диаметре), плотную консистенцию (рис. 1). Обнаруженные очаги поражения легочной ткани представляют собой участки пролиферативного воспаления. В паренхиме легкого множественные гранулемы. Пораженные участки темно-красного цвета незначительно возвышались над поверхностью легкого под плеврой, соответствовали по площади отдельным долькам легкого или группам прилегающих долек, гранулемы имели тестообразную консистенцию и размер от 1 до 4 см в диаметре, на разрезе темно-красного цвета (рис. 2). Кусочки пораженного легкого плавали глубоко в воде. Эти участки соответствовали очаговой (лобулярной) острой гиперемии и пятнистым кровоизлияниям. Интерстициальная ткань легкого была неравномерно утолщена, сероватого цвета; за счет этого рисунок большинства долек легкого просматривался четко.

Отмечали гиперемии, инфильтрацию тканей воспалительным экссудатом и некробиотические изменения (рис. 2).

Большое число мелких бронхов и бронхиол разрушено, стенки крупных бронхов разрыхлены и инфильтрированы клеточными элементами грануляционной ткани. Слизистая оболочка средних и крупных бронхов гладкая, блестящая, не утолщенная, серо-розового цвета. Трахея и бронхи содержат пенистую жидкость, в которой встречаются паразиты. Многие



Рис. 1. Паразитарные гранулемы в легком



Рис. 2. Множественные кровоизлияния в легких

мелкие и средние бронхи закупорены слизисто-гнойными пробками, в некоторых средних и мелких бронхах отмечали небольшое количество слизи вязкой консистенции серого цвета. В ряде случаев просвет бронхов чистый (рис. 3).



Рис. 3. Средние бронхи на разрезе



Рис. 4. Лимфатические узлы в легких

Лимфатические узлы в легких незначительно увеличены в объеме, на разрезе серого цвета с синеватым оттенком. Рисунок ткани не выражен, поверхность разреза умеренно влажная (рис. 4).

При микроскопическом исследовании пораженной ткани легкого стенки альвеол, бронхиол утолщены за счет инфильтрации клеточными элементами: большим числом лимфоидных клеток и эозинофилов, а также единичными нейтрофилами, тучными клетками. Часть альвеол сдавлена, просвет их сужен за счет разрастания молодой соединительной ткани. Отдельные альвеолы находились в состоянии компенсаторной альвеолярной эмфиземы. Местами обнаруживали скопления личинок диктиокаул. На гистосреззах в разных плоскостях личинки имели форму от удлинненно овальной до округлой и окрашивались гематоксилином и эозином в синеваато-розовый цвет (рис. 5).

Мелкие и средние бронхи имели признаки катарального воспаления: слизистая оболочка бронхов утолщена, с большим числом бокаловидных клеток, что является одним из диагностических признаков диктиокаулеза [7, 10, 16, 18]. В просвете бронхов находилась слизь в виде сеточки сине-фиолетового цвета с примесью единичных нейтрофильных лейкоцитов, эозинофилов, лимфоидных клеток, макрофагов, клеток десквамированного бронхиального эпителия и личинки диктиокаул, перерезанных в разных плоскостях (рис. 6). Подслизистая основа и перибронхиальная соединительная ткань в состоянии воспаления, с выраженным отеком и инфильтрацией клетками (гранулоцитами, преимущественно, нейтрофилами и эозинофилами) воспалительной реакции.

Миграция личинок в легкие и обратно происходит через лимфатическую систему, поэтому в патологический процесс вовлекаются лимфоузлы. Имеются признаки воспаления и их увеличение при диктиокаулезе: особенно левые трахеобронхиальные лимфоузлы, в меньшей степени — средние и правые лимфоузлы, т. к. их выносящие сосуды также впадают в левые трахеобронхиальные. Данный аспект необходимо учитывать при патологоанатомических исследованиях туш лося [1, 8].

Главными клетками лимфоузлов являются лимфоциты, вторичными — ретикулоциты, моноциты; реже встречаются нейтрофилы и тучные клетки. Соотношение их может меняться в зависимости от интенсивности инвазии. Выраженная эозинофилия — прямая реакция на поражение паразитами.

При микроскопическом исследовании гранулём отмечена значительная клеточная инфильтрация паренхимы лимфоидными клетками, нейтрофильными лейкоцитами, эозинофилами, гистиоцитами. Вокруг скоплений паразитов разрасталась соединительная ткань (рис. 7, 8). Считают, что развитие гранулемы начинается со стадии созревания взрослых гельминтов [7].

Вокруг внедрившихся паразитов происходит разрастание грануляционной ткани, богатой макрофагами и гигантскими клетками инородных тел. Исход — склероз, рубцевание с формированием фиброзной капсулы вокруг паразита. Организм не может разрушить паразита и старается отгородиться от него. Такое паразитарное поражение дыхательных путей

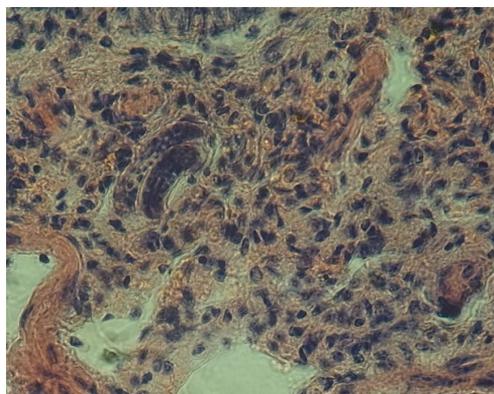


Рис. 5. Инфильтрация клеточными элементами стенок альвеол и личинки диктиокаул (увелич.: окуляр GF-Pw10; объектив HI 100 × 1/25)

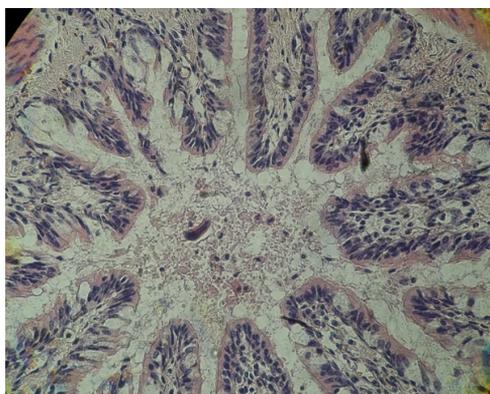


Рис. 6. Острый катаральный бронхит и личинки диктиокаул в просвете бронха (увелич. окуляр GF-Pw10 × 25; объектив 40 × 0,65/0,17-A)

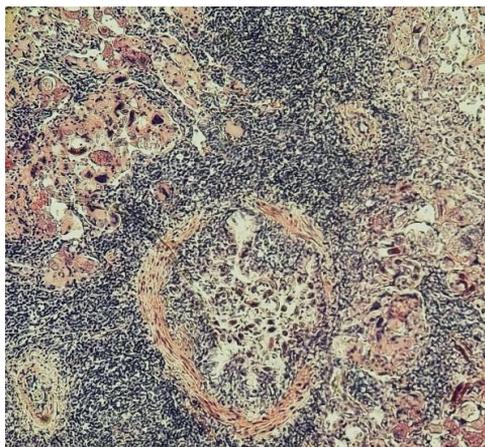


Рис. 7. Микроструктура гранулёмы
(увелич. окуляр GF-Pw,
объектив 40 × 0,65/0,17-A)

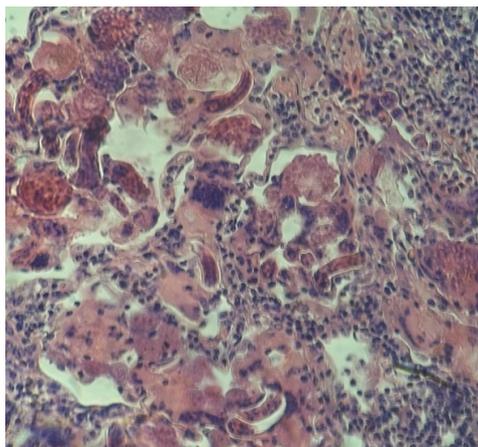


Рис. 8. Микроструктура гранулёмы
(увелич. окуляр GF-Pw10, объектив
объектив HI 100 × 1/25)

у диких копытных встречается относительно редко. Болеют молодые и ослабленные животные.

Заключение

Таким образом, данные изменения являются классическими для миллиарной формы бронхопневмонии, которая может быть диффузной или очаговой. Установлено наличие многочисленных гранулём при диктиокаулёзе. Обнаружены очаги острой гиперемии и кровоизлияния в паренхиме легкого, признаки катарального воспаления в мелких и средних бронхах, клеточные инфильтраты в интерстициальной ткани легкого. Считаем, что эти изменения свидетельствуют о попадании большого числа личинок в организм животного. Это еще раз подтверждается тем, что личинки диктиокаула выявлены в стенках альвеол, мелких и средних бронхов и в большом количестве — в гранулёмах. Такую форму до недавнего времени не регистрировали в лесной зоне Кировской области. Однако безудержная вырубка лесов и отсутствие грамотного восстановления зеленых массивов приводят к появлению огромного количества территорий с кустарниками, мелкими лужами, где происходит накопление инвазии. Ветеринарные специалисты, наряду с биологами-охотоведами, должны проводить разъяснительные беседы с представителями фирм, занимающихся лесозаготовками об опасности бесконтрольной вырубки лесов, в т. ч. из-за возможности распространения диктиокаулеза среди парнокопытных Кировской области, что может привести к массовой гибели молодняка леса.

Литература

1. Афанасов В. И. О регионарности и топографии лимфоузлов у парнокопытных // Сб. раб. «Современные проблемы ветеринарной медицины». — Киров, 2003. — С. 5–7.
2. Горегляд Х. С. Болезни диких животных. — М.: Наука, 1971, 304с.
3. Кряжев А. Л., Лемехов П. А. Особенности эпизоотологии диктиокаулеза крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // Рос. паразитол. журнал. — 2010. — № 2. — С. 55–60.
4. Литвинов В. Ф., Карасёв Н. Ф., Пенькевич В. А. Болезни диких животных. — Минск, 2002. — С. 306.
5. Меркулов Г. А. Курс патолого-гистологической техники. — Л.: Медицина, 1969, 184 с.
6. Патологическая анатомия сельскохозяйственных животных. Под ред. В. П. Шишкова, А. В. Жарова. — М.: Колос, 2003. — 568с.
7. Панфилов А. Б. Цитоархитектоника мезентериальных лимфоузлов лося // Сб. раб. «Современные проблемы ветеринарной медицины». — Киров, 2007. — С. 95–100.
8. Скрябин К. И., Шихобалова Н. П., Шульц Р. С. Диктиокаулиды, гелигмозоматиды и оlluлуниды животных. (Основы нематодологии). — М., 1954.-324с.



9. Фертиков В. И., Сонин М. Д., Рыковский А. С., Егоров А. Н. Гельминты диких копытных национального парка «Завидово» и лесной зоны России. — Тверь, 1999.- 80с.
10. Aguirre A. A., Brojer C., Morner T. Descriptive epidemiology of roe deer mortality in Sweden // J. of Wildlife Diseases. 1999. V. 35(4). P. 753–762.
11. Anderson R. C. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. New York: CAB International, 2000. 650 p.
12. Ayalew L., Fréchette J. L., Malo R., Beaugregard C. Seasonal fluctuation and inhibited development of populations of *Dictyocaulus filaria* in ewes and lambs // Canadian J. of Comparative Med. 1974. V. 38(4). P. 448–456.
13. Hoeve J., Joachim D. G., Addison E. M. Parasites of moose (*Alces alces*) from an Agricultural Area of Eastern Ontario // J. of Wildlife Diseases. 1988. V. 24(2). P. 371–374.
14. Lankester M. W. Extrapulmonary lungworms of cervids // Parasitic Diseases of Wild Mammals / Eds. W. M. Samuel, M. J. Pybus, A. A. Kocan. Ames: Iowa State University Press. 2001. P. 228–278.
15. Lucius R., Loos-Frank B. Biologie von Parasiten. Berlin–Heidelberg: Springer–Verlag 2008. 552 s.
16. Mehlhorn H. (Ed.) Encyclopedia of Parasitology. Berlin–Heidelberg Springer–Verlag 2008. 1573 p.
17. Nicholls J. M., Clayton H. M., Duncan J. L., Buntain B. Lungworm: (*Dictyocaulus arnfieldi*) infection in donkeys // Vet. Rec. 1979. V. 104(25). P. 567–570.
18. Porth C. M. Pathophysiology: Concepts of Altered Health States. Lippincott Williams & Wilkins 2004. 1493 p.
19. Stefancíková A. Lung nematodes of chamois in the Low Tatra National Park, Slovakia // J. of Helminthol. 1994. V. 68(4). P.347–351.

References

1. Afanasov V. I. On the regional belonging and topography of lymph nodes in cloven-hoofed animals. *Sb. rab. «Sovremennye problemy veterinarnoj mediciny»* [Proceedings «Current issues of veterinary medicine»], Kirov, 2003, pp.5-7.
2. Goregljad H.S. *Bolezni dikih zivotnyh* [Wildlife diseases]. Moscow, Nauka, 1971. 304 p.
3. Krjazhev A. L., Lemehov P. A. Epizootological features of dictyocaulosis in cattle in conditions of Vologda region. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2010, no. 2, pp. 55–60.
4. Litvinov V. F., Karasyov N. F., Pen'kevich V. A. *Bolezni dikih zivotnyh* [Wildlife diseases]. Minsk, 2002. 306 p.
5. Merkulov G. A. Kurs patologo-gistologicheskoy tehniki [Histopathological technique course]. Leningrad, Medizina, 1969, 184 p.
6. Shishkov V.P., Zharov A.V. Patologicheskaja anatomija sel'skohozjajstvennyh zivotnyh [Anatomical pathology of farm animals]. Moscow, Kolos, 2003. 568 p.
7. Panfilov A. B. Cytoarchitectonics of mesenteric lymph nodes in elk. *Sb. rab. «Sovremennye problemy veterinarnoj mediciny»*[Proceedings «Current issues of veterinary medicine»], Kirov, 2007, pp. 95-100.
8. Skryabin K. I., Shihobalova N. P., Shul'c R. S. *Diktiokaulidy, geligmosomatidy i ollulanidy zivotnyh. (Osnovy nematodologii)*. [Dictyocaulidae, heligmosomatidae, and ollulanidae of animals. (Fundamentals of nematology), Moscow, 1954. 324 p.
9. Fertikov V. I., Sonin M. D., Rykovskij A. S., Egorov A. N. Gel'minty dikih kopytnyh nacional'nogo parka «Zavidovo» i lesnoj zony Rossii. [Helminths in wild hoofed animals of national park Zavidovo and forest area of Russia], Tver, 1999, 80 p.
10. Aguirre A. A., Brojer C., Morner T. Descriptive epidemiology of roe deer mortality in Sweden, J. of Wildlife Diseases, 1999, vol.35(4), pp. 753–762.
11. Anderson R. C. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. New York: CAB International, 2000. 650 p.
12. Ayalew L., Fréchette J. L., Malo R., Beaugregard C. Seasonal fluctuation and inhibited development of populations of *Dictyocaulus filaria* in ewes and lambs. Canadian J. of Comparative Med., 1974, vol. 38(4), pp. 448–456.
13. Hoeve J., Joachim D. G., Addison E. M. Parasites of moose (*Alces alces*) from an Agricultural Area of Eastern Ontario. J. of Wildlife Diseases, 1988, vol. 24(2), pp. 371–374.
14. Lankester M. W. Extrapulmonary lungworms of cervids. Parasitic Diseases of Wild Mammals. Ames: Iowa State University Press. 2001, pp. 228–278.
15. Lucius R., Loos-Frank B. Biologie von Parasiten. Berlin–Heidelberg: Springer–Verlag 2008. 552 p.
16. Mehlhorn H. (Ed.) Encyclopedia of Parasitology. Berlin–Heidelberg Springer–Verlag, 2008. 1573 p.
17. Nicholls J. M., Clayton H. M., Duncan J. L., Buntain B. Lungworm: (*Dictyocaulus arnfieldi*) infection in donkeys. Vet. Rec., 1979, vol. 104(25), pp. 567–570.
18. Porth C. M. Pathophysiology: Concepts of Altered Health States. Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 1493 p.
19. Stefancíková A. Lung nematodes of chamois in the Low Tatra National Park, Slovakia. J. of Helminthol., 1994. vol. 68(4), pp. 347–351.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13274

Article history:

Received 19.10.2014

Accepted 24.03.2015

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE RESPIRATORY ORGANS AND SOME ASPECTS OF THE PATHOGENESIS OF DICTYOCAULOSIS IN ELK

Okulova I.I.¹, Zhdanova O.B.²

¹ Prof. B.M. Zhitkov Russian Research Institute on Game Management and Fur Farming, 610000, Kirov, 79 Preobrazhenskaya st.

² All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K. I. Skryabin, 117218, Russia, 28 B. Cheremushkinskaya st., e-mail: oliabio@yandex.ru

Abstract

Objective of research: studying of pathomorphological changes in the respiratory organs of elk with dictyocaulosis.

Materials and methods: A helminthological autopsy of the elk spontaneously infected with *Dictyocaulus eckerti* was performed. The infected pieces of lung located close to the edge of the healthy tissue were used for histological examination. The material has been preserved in 10% neutral buffered formalin solution. Paraffin histological sections having the 5–7 mkm thickness were produced according to the standard methods. The sections were stained with haematoxylin and eosin. The photomicrography was made with the camera «Digital» on microscope «Genaval».

Results and discussion: In lungs of the elk infected with *D. eckerti*, the essential structural changes were detected.

D. eckerti larvae were found in granulomas in the lumens of small and medium-sized bronchi. The pathohistological examination of lungs of the young elk allowed to detect multiple parasitic granulomas, hyperthermic and hemorrhagic foci. In places of parasite localization the lung interstitial tissue becomes thickened due to the infiltration by lymphoid, eosinophilic cells, single neutrophils and histiocytes as well as due to the growth of connective tissue.

Keywords: elk, dictyocaulosis, lungs, lymphocytes, granuloma.

© 2015 The Authors. Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 11.11.2014
Принята в печать 19.03.2015

УДК 619:639.3.091
DOI:10.12737/13275

Гаврилин К.В.¹, Бычкова Л.И.¹, Дмитриева С.Н.¹, Линник А.В.² Лабораторные исследования антипаразитарной активности левамизола при филометроидозе карпа (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 61–64.
Gavrilin K.V., Bychkova L.I., Dmitrieva S.N., Linnik A.V. Laboratory studies of antiparasitic activities of levamisole against philometroidosis in carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 61–64.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИПАРАЗИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕВАМИЗОЛА ПРИ ФИЛОМЕТРОИДОЗЕ КАРПА (*CYPRINUS CARPIO* LINNAEUS, 1758)

К.В. Гаверилин¹, Л.И. Бычкова¹, С.Н. Дмитриева¹, А.В. Линник²

¹ Московский государственный университет технологий и управления им. Г.К. Разумовского 109004, Москва, ул. Земляной вал, 73, e-mail: k.gavrilin@yandex.ru

² Центр по рыбоводству и борьбе с болезнями рыб, 123001, Москва, Ермолаевский переулок, 18 а, e-mail: avlinn@mail.ru

Реферат

Цель исследования — изучение эффективности левамизола при филометроидозе карпа в лабораторных условиях.

Материалы и методы. Опыт проводили на чешуйчатых карпах массой тела 300 г, спонтанно инвазированным *Philometra lusiana*. У карпа отмечали клинические признаки филометроидоза. Интенсивность инвазии составила до опыта 10–20 экз./особь. Карпов разделили на 6 групп по 10 особей в группе. Рыбе 1, 2, 3, 4 и 5-й групп вводили через катетер левамизол в дозе соответственно 100, 50, 25, 15 и 5 мг/кг в составе 2%-ного крахмального геля. Рыба 6-й группы препарат не получала и служила контролем. Эффективность препарата учитывали через 7 суток путем вскрытия рыбы для обнаружения самок *Ph. lusiana* в чешуйных кармашках и самцов между оболочками плавательных пузырей. Соскобы оболочки пузыря исследовали под микроскопом при увеличении в 56 раз и определяли экстенсивность и интенсивность инвазии.

Результаты и обсуждение. Левамизол высокоэффективен при филометроидозе карпов. Препарат приводит к гибели самок и самцов *Ph. lusiana* в дозах 100–15 мг/кг. В дозе 5 мг/кг левамизол не эффективен, в дозе 100 мг/кг вызывает снижение пищевой активности рыб.

Ключевые слова: карп, *Philometra lusiana*, левамизол, эффективность.

Введение

Филометроидоз — болезнь карпов, сазанов и их гибридов. Она является одним из самых опасных гельминтозов у рыб. Возбудитель — нематода *Philometra lusiana* Vismanis, 1966 из семейства Philometridae Baylis et Daubney, 1926, отряда Spirurida Chitwood, 1933.

Половозрелые гельминты локализуются в плавательном пузыре (самцы) и чешуйных кармашках (самки) карпов. Присутствие крупных нематод в чешуйных кармашках резко ухудшает товарный вид рыб. Кроме этого, при миграции самок в теле рыб повреждаются мышечная ткань и внутренние органы. В результате болезнь часто осложняется бактериальной инфекцией [1]. При поражении мальков гельминты скапливаются в полости тела и нарушают функцию плавательного пузыря. Зараженные рыбы становятся малоподвижны-

ми, отстают в росте, их кожа теряет обычный блеск и становится матовой. За нагульный период по приросту массы инвазированные карпы отстают от здоровых, в среднем, на 30 %.

Многолетними исследованиями отечественных ученых установлено, что оптимальным методом лечения является применение левамизола [4]. Однако, имеются сообщения о неэффективности некоторых коммерческих антигельминтиков на основе левамизола.

Целью настоящих исследований было определение антигельминтной активности левамизола при филометроидозе карпа и минимальной, эффективно действующей, дозы в лабораторных условиях.

Материалы и методы

Объектом исследования служили чешуйчатые карпы средней массой 300±50 г, спонтанно инвазированные филометрами. Все рыбы имели внешние признаки поражения: покраснения и припухлости на теле в местах локализации самок паразита. Интенсивность инвазии составляла приблизительно от 10 до 20 паразитов на особь.

Карпов разделили на 6 групп по 10 особей в группе. Рыбе 1, 2, 3, 4 и 5-й группам через катетер вводили левамизола гидрохлорид в составе 2%-ного крахмального геля в дозах соответственно 100, 50, 25, 15 и 5 мг/кг. Рыба 6-й группы препарат не получала и служила контролем. Карпам этой группы вводили гель без действующего вещества. Гель с левамизолом вводили двукратно с интервалом в 24 ч.

Температура воды в опытах составляла 18 °С, содержание кислорода — 7 мг/л. Другие гидрохимические параметры соответствовали рыбоводным нормативам.

Через 7 сут после последнего введения препарата проводили вскрытие рыб для обнаружения филометр (самок в чешуйных кармашках, самцов между оболочками плавательных пузырей).

Учет результатов эксперимента проводили путем клинического осмотра, частичного паразитологического исследования и патологоанатомического вскрытия. Для обнаружения созревающих самок филометр в чешуйных кармашках каждую чешуйку удаляли по отдельности и тщательно осматривали кармашки. Для обнаружения самцов рыб вскрывали и выделяли плавательный пузырь. После удаления внешней плотной оболочки делали соскоб с её внутренней части и с поверхности внутренней оболочки плавательного пузыря. Материал помещали на специальные предметные стекла. Далее готовили компрессионный препарат и просматривали под микроскопом при увеличении в 56 раз.

Число паразитов учитывали как сумму числа гельминтов, найденных у всех рыб в группе, разделённую на 10 (число особей в группе). Интенсивность инвазии (ИИ) выражали как общее число обнаруженных на всех рыбах в группе паразитов без учета их половой принадлежности, разделённое на число особей в группе (10 экз.). Экстенсивность инвазии (ЭИ) учитывали как процентное отношение рыб, у которых был обнаружен хотя бы один живой паразит, к общей численности группы.

Результаты и обсуждение

Данные, полученные в результате эксперимента, приведены в таблице 1.

Таблица 1

Терапевтическая эффективность различных доз левамизола при филометроидозе карпа

Группа	ЭИ, %	Число живых		Число мертвых		ИИ, экз./ особь	Эффективность, %
		♀	♂	♀	♂		
1	0	0	0	16,6	3,6	0	100
2	0	0	0	22,4	1,8	0	100
3	0	0	0	19,8	2,2	0	100
4	0	0	0	18,2	2,5	0	100
5	100	19	2,3	0	0	21,3	0
6	100	26,4	3,1	0	0	29,5	—

У всех погибших гельминтов отмечали разрушение кутикулы и расплавление внутренних органов. Состояние погибших филометр по группам существенно не отличалось, что, скорее всего, свидетельствует о том, что гибель гельминтов происходила в относительно ограниченный период времени.



Поведение и пищевая активность карпов во всех группах была нормальной, за исключением рыб первой группы, у которых отмечали снижение пищевой активности в течение 6 сут после начала введения препарата. У карпов этой группы регистрировали более выраженное воспаление ткани в местах локализации паразитов. В чешуйных кармашках, в ряде случаев, обнаруживали сгустки крови. Учитывая, что левамизол является активным иммуностимулятором [2, 3], можно предположить чрезмерную иммунную реакцию организмов рыб на инвазию.

В результате проведенных исследований было установлено, что левамизол эффективен при филометроидозе карпа в дозах 100–15 мг/кг. Левамизол приводит к поражению и гибели гельминтов как в чешуйных кармашках, так и в плавательном пузыре рыб. Снижение дозы действующего вещества до 5 мг/кг не эффективно.

Заключение

Левамизол эффективен при филометроидозе карпа. Можно предположить, что случаи недостаточной эффективности препаратов на его основе связаны либо с грубыми ошибками в технологии их применения, либо с низким качеством самих используемых лекарственных средств.

В условиях прудовых рыбоводных хозяйств эффективность любых препаратов может колебаться в широких пределах по причинам как объективным, например резкое изменение температуры воды, так и субъективным, например, занижение реальной ихтиомассы в водоеме. Поэтому необходимо применять дозы, существенно превосходящие минимально эффективные. Это экономически обосновано, так как незначительная экономия препарата может поставить хозяйство перед фактом необходимости повторной обработки рыб.

Литература

1. Головина Н. А., Стрелков Ю. А., Воронин В. Н., Головин П. П., Евдокимова Е. Б., Юхименко Л. Н. Иктиопатология. Под ред. Н. А. Головиной, О. Н. Бауэра. — М.: Мир, 2003.- 448с.
2. Кленова И. Ф., Яременко Н. А. Ветеринарные препараты в России. Справочник. — М.: Сельхозиздат, 2002.- 543с.
3. Мозгов И. Е. Фармакология. — М.: Агропромиздат, 1985.- 445с.
4. Скачков Д. П., Павлович Г. М. Опыт применения филомицида при филометроидозе карпа // Рыбоводство. — 2011. — № 1. — С. 50–51.

References

1. Golovina N. A., Strelkov Ju. A., Voronin V. N., Golovin P. P., Evdokimova E. B., Juhimenko L. N. *Iktiopatologija* [Ichtiopathology]. Moscow, Mir, 2003. 448 p.
2. Klenova I. F., Jaremenko N. A. *Veterinarnye preparaty v Rossii. Spravochnik* [Veterinary drugs in Russia. Handbook]. Moscow, Sel'hozizdat, 2002. 543 p.
3. Mozgov I. E. *Farmakologija* [Pharmacology]. Moscow, Agropromizdat, 1985. 445 p.
4. Skachkov D. P., Pavlovich G. M. Experience in using Philomycid against philometroidosis in carp fishes. *Rybovodstvo* [Fish farming], 2011, no. 1, pp. 50–51.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13275

Article history:

Received 11.11.2014

Accepted 19.03.2015

**LABORATORY STUDIES OF ANTIPARASITIC ACTIVITIES OF LEVAMISOLE
AGAINST PHILOMETROIDOSIS IN CARP (*CYPRINUS CARPIO* LINNAEUS, 1758)**

Gavrilin K.V.¹, Bychkova L.I.¹, Dmitrieva S. N.¹, Linnik A. V. ²

¹ Moscow State University of Technologies and Management named after K.G. Razumovsky
109004, Moscow, 73 Zemlyanoy Val, e-mail: k.gavrilin@yandex.ru

² Center for Fish Farming and Struggle against Fish Diseases
123001, Moscow, 18 a Ermolayevsky per., e-mail: avlinn@mail.ru

Abstract

Objective of research: studies of efficacy of levamisole used against philometroidosis in carp in laboratory conditions.

Materials and methods: Experiments were conducted on scaly carps with the body mass 300 g. spontaneously infected with *Philometra lusiana*. In carp the clinical signs of philometroidosis have been detected. The intensity of infection before the experiment was 10–20 parasites/fish.

Carp were divided into 6 groups by 10 fish in each group. Levamisole was injected through the catheter to fishes of 1, 2, 3, 4 and 5 group at the doses of 100, 50, 25, 15 and 5 mg/kg, respectively with the use of 2% starch gel.

Fish of the 6th group did not receive the preparation and served as controls.

The efficacy of preparation was evaluated 7 days later by most-mortem examination to determine females *Ph. lusiana* in the scale pockets and males between the air bladder walls. Scrapes from the air bladder walls were investigated under a microscope at the 56 times magnification; the intensity and extensity of invasion were determined.

Results and discussion: Levamisole is highly effective against philometroidosis in carp. The drug used at the dose 100–15 mg/kg causes death of females and males *Ph. lusiana*. Levamisole at the dose 5 mg/kg is not effective, at the dose 100 mg/kg may reduce the feeding activity in fish.

Keywords: carp, *Philometra lusiana*, levamisole, efficacy.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 10.02.2015
Принята в печать 14.05.2015

УДК 619:576.89
DOI:10.12737/13276

Nikolce Kocovski, William Godfrey L.L.B., Derek Elkington B.Sc., Christopher Weir B.Sc. Reviewing Anti-Malarial Usage and Resistance Patterns and its Effects on World Health Organization Programs. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 65–74.

Nikolce Kocovski, William Godfrey L.L.B., Derek Elkington B.Sc., Christopher Weir B.Sc. Обзор применения противомаларийных препаратов, примеры лекарственной устойчивости и ее влияние на эффективность программ Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 65–74.

REVIEWING ANTI-MALARIAL USAGE AND RESISTANCE PATTERNS AND ITS EFFECTS ON WORLD HEALTH ORGANISATION PROGRAMS

Nikolce Kocovski B. Biomed (Hons)^{*1}, William Godfrey L. L. B.^{*2}, Derek Elkington B. Sc (Micro Biotech), Dip. Lab Tech., M. Inf. Dis.^{*3}, and Christopher Weir B. Sc (BioMed), M. Mol. Biol, Ph.D. ^{4,6}

^{*} These authors contributed equally as co-first authors on this manuscript

¹ Olivia Newton-John Cancer Research Institute and School of Cancer Medicine, La Trobe University, Austin Health, Heidelberg 3084, Victoria, Australia; ²The School of Chemistry and Molecular Biosciences, The University of Queensland, St. Lucia 4072, Queensland, Australia; ³School of Pathology and Laboratory Medicine, University of Western Australia, Crawley 6009, Western Australia, Australia; ⁴Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, 1G Royal Parade, Parkville 3052, Victoria, Australia; ⁵University of Melbourne, Department of Medical Biology, Parkville 3010, Victoria, Australia; ⁶University of Edinburgh, School of Chemistry, Edinburgh EH9 3FJ, Scotland, United Kingdom.

Corresponding author: Christopher Weir, e-mail: weir.c@wehi.edu.au

Abstract

The two most significant strains of human malaria parasites responsible for morbidity and mortality are *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*. One issue, which further compounds treatment of these pathogens, is one of drug resistance. Drug resistance often emerges from key mutations selected for by inadequate treatment regimes and has shown to be able to spread globally, further compounding the development of newer and more effective drug treatment programs, such as those from the World Health Organisation (WHO). Here we review the historical usage of anti-malarial drugs, the development of resistance in Africa and Asia, mechanisms of drug action and resistance, and the effects of resistance on WHO policy.

Keywords: malaria, drug-resistance, *Plasmodium*, World Health Organisation, drug policy.

Introduction

Drug resistant *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* can be considered emerging infectious diseases because of the development of resistance mechanisms that decreases the amenability of the microorganisms to treatment, in addition to an increasing geographic range where these parasites are found [1]. This complicates the treatment of malaria as well as threatening current World Health Organization (WHO) programs to eliminate malaria globally. Whilst five *Plasmodium* species cause malaria (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* and *P. knowlesi*) [2], only *P. falciparum* and *P. vivax* have clear evidence of robust resistance to current anti-malarials, as well as being the main contributors of disease morbidity and mortality [3, 4].

P. ovale and *P. malariae* have relatively unclear evidence of resistance, though there is some reported in the literature [5–7]. *P. knowlesi* is still zoonotic and less likely to be subject to drug selection pressures, in addition to continued susceptibility to chloroquine and mefloquine [8]. Further scientific work needs to be done on the non-*falciparum* species as far as resistance is concerned; however due to the aforementioned issue of morbidity and mortality, this review will

focus on *P. falciparum* and *P. vivax*. Anti-malarial drug resistance is often defined in the literature by a combination of the presence of genetic markers, increased treatment times and increased *invitro* ring-stage survival assay half-lives(RSA) [1,9].

Molecular markers of resistance include *pfcr* (*P. falciparum* chloroquine resistance transporter), *pfmrp* (multidrug resistance-associated protein), *pfmdr1* and *pfmdr2* (*P. falciparum* multidrug resistance transporter 1 and 2) and *pfhhe1* (*P. falciparum* sodium /proton exchanger 1) all of which encode for transporter proteins [2]. Another molecular resistance motif includes antimalarial drug target modifications such as single nucleotide polymorphisms (snp) for the Kelch13 protein which confers artemisinin resistance(10)and mutations within the cytochrome *bc1* complex genes (e.g. *cyt b*) conferring atovaquone resistance [2]. Folate pathway anti-malarials (such as sulfadoxine-pyrimethamine) have also developed resistance genes via point mutations in both *pfdhfr* and *pfhps* the genes encoding for dihydrofolate reductase-thymidylate synthase and dihydropteroate synthase respectively [2]. These gene complexes interact in a complex manner with the ecology of the parasite and human populations to produce geographical resistance patterns, which increase mortality and morbidity and cause problems for elimination programs for organizations like the WHO. This review will delve into the historical use of anti-malarials, subsequent development of resistance in Africa and Asia, mechanisms of drug action and resistance, and the effects of resistance on WHO policy.

Historical Usage of Anti-malarials for Treatment and Prophylaxis

Initially the fight against malaria was aimed at controlling the Anopheline and other mosquito vectors of the disease as famously discovered by Ross and Grassi in 1898. This includes disease transmission reduction strategies such as window and screen door installation, bed net distribution, reduction of mosquito breeding sites and widespread application of insecticides such as the largely used dichloro-phenyl-trichloroethane (DDT) [2]. This led to the elimination of malaria from over 10 countries from 1900 to 1946 (here it should be noted that Madagascar had a chloroquine chemoprophylaxis programme from 1945 to the 1960's [11]), and in 1955 the WHO launched the Global Malaria Eradication Programme where chloroquine was administered as a monotherapy to complement initial vector measures, which when ended in 1969 saw 27 more countries declared free of malaria [2]. However this long term programme was only partially successful as most underdeveloped countries did not achieve malaria elimination and Sub-Saharan Africa was not included in the original malaria eradication programme which accounts for the current distribution of malaria in subtropical and tropical regions [2]. Widespread resistance to the pesticides of the time, wars, massive population movement, difficulties with obtaining sustained funding and the emergence and spread of chloroquine resistance led to a halt in this programme and at the time the only viable antimalarial treatment was sulfadoxine-pyrimethamine; however this also encountered resistance a year after it was administered [2]. Mefloquine, amodiaquine and quinine also followed the same path being associated with monotherapy [2]. In 1998 malaria elimination was reattempted with relative success with reductions of 20% from 985 000 in 2000 to 781 000 in 2009 with respect to malaria related mortality [2] (this estimate is one of many, see Murray C.J., *et al.* 2012 for an exploration of the issues associated with mortality estimates as these will vary depending on the information base and criteria used to generate them [12]).Madagascar's 60 years of experience (1945–2005) with chloroquine demonstrates some of the organisational challenges of maintaining an effective elimination program over a long period of time with funding problems, supply chain issues, degradation of health care systems and various governmental issues complicating and reducing the efficacy of the elimination programme [11]. These issues plus evolutionary reactions to the elimination programs from the *Plasmodium* species in question lead to a resurgence in malaria in the 1980's as well as an increase in mortality and morbidity from malaria in both Madagascar and the rest of the malaria-affected parts of the world [2, 11]. Current geographic prevalence patterns and differences in resistance reflect this history and show that scientific advances often have a time limit attached with respect to prophylaxis and treatment of malaria.

Anti-Malarial Resistance in Africa and Asia

It has been shown in both key African nations including Burkina Faso, Gambia, Ghana and Mali, and within Asia (Thailand, Vietnam and Cambodia; particularly Western Cambodia), that *P.*



falciparum has utilized an unusual but nonetheless effective parasite population structure whereby discrete but different parasite subpopulations, each with a great degree of genetic variation, exist in a small geographic area by way of irregularly high levels of haplotype homozygosity as well as transporter protein codon variants [13]. These transporter proteins play a vital role in anti-malarial resistance and include the ABC transporter of the heavy metal transporter family, the multidrug resistance protein (MDR1), a formate-nitrite transporter, and cation-transporting ATPase [13]. Further resistance has been augmented by sexual recombination, which occasionally produces an optimal combination of alleles that confers both efficient drug resistance [13]. In particular, three of these subpopulations in Western Cambodia (Pailin, Tسانh and Pursat) discussed by Miotto *et al.* have developed resistance to artemisinin, which itself was utilized as a replacement to its predecessor chloroquine in malaria first line therapy [14], outlining a need for an intermediate to long term frontline drug solution before a long term solution in the form of a vaccine will materialize. It is noted that these regions are isolated, making them optimal locations for parasite inbreeding, thereby enhancing the vector mechanism where parasite subpopulations are preferentially transmitted by different species of *Anopheles*, reinforcing an optimal allele combination for drug resistance [14]. It should also be noted that this general pathway to resistance, which includes transporter proteins and parasite subpopulation inbreeding is how resistance to chloroquine originated and now is a conspicuous fact driving resistance to artemisinin [15]. Another major factor in artemisinin resistance is continued poor application of artemisinin monotherapies since the mid 1970's in the form of sub-therapeutic doses and artemisinins which are not of therapeutic quality (i.e. fake drugs) [16], allowing resistance to propagate and evolve where there is mild selection pressure over time in a non-lethal environment.

Artemisinin resistance was first reported in Western Cambodia [17] and it is now prevalent across mainland South-East Asia including Myanmar, Cambodia, Laos, Thailand [1, 18–21], with another recent study looking at 10 countries (see figure 1 of ref [1]). Of the African countries examined Nigeria, Kenya and the Democratic Republic of Congo showed no resistance to artemisinin, with Nigeria and the Democratic Republic of Congo having some limited clearance rates above five hours but no detectable Kelch13 polymorphisms at or beyond amino acid position 441 (a substitution of a proline to a leucine [1]). Here it should be noted the major drivers of anti-malarial resistance are listed in Table 1 below.

Table 1

Major Factors Contributing to Malaria's Resistance to Drugs.

Drivers of anti-malaria resistance	References
1) Widespread availability of artemisinin monotherapies	(22, 23)
2) Poor quality artemisinin-based combination therapies (ACT) including counterfeit antimalarial drugs	(24, 25)
3) Monotherapies containing sub therapeutic amounts of ingredients and unregulated use of anti-malarial agents	(24, 25)
4) Poor quality anti-malarial drugs (besides artemisinin) containing sub-clinical doses of active drugs	(26, 27)
5) Unusual genetic structure of <i>Plasmodium</i> populations in this region	(1)

The interaction between the unique population genetics of *Plasmodium* species in Cambodia and the preceding factors seem to make it an epicentre for resistance as it was here that most of the successive waves of resistance (including other antimalarials like chloroquine, sulfadoxine and pyrimethamine) appear to have originated [13]. Due to longer exposure duration, non-artemisinin based anti-malarial resistance patterns (see figure 2 in ref [1]) like chloroquine, amodiaquine and sulfadoxine-pyrimethamine have a wider spread distribution [2]. For instance, although many of these resistance patterns had origins in South East Asia (in the 1960's for chloroquine), chloroquine resistant *P. falciparum* then spread to Africa, which in combination with no affordable effective alternative lead to a two- to three-fold increase in malaria-related deaths in the 1980's [28]. This well-known pattern of spreading drug resistance along with new evidence of limited polymorphisms in *P. vivax* dihydrofolate reductase genes (suggesting changes in other genes as responsible for drug resistance) demonstrates an expanding geographical range for these resistance genes [29].

Mechanisms of Drug action and Resistance

Plasmodium parasites are peculiar organisms, possessing different life cycle stages, each highly adapted to the various cellular environments in which they are found; the cycling of these different morphological states has made a complete radical cure elusive [30].

The first effective treatment came from drugs synthesised from the bark of the *Cinchona* tree namely chloroquine [31]. Chloroquine's method of function is to cause haem toxicity by inhibiting *Plasmodium* from converting dimers of Fe(III) PPIX (haematin) into crystals of haemozoin which eventually causes membrane damage and lysis [32]. However resistant strains arose out of chloroquine's ubiquitous use, giving rise to a mutation in the *pfcr1* gene, which codes for a chloroquine resistance transporter protein (PfCRT) on the membrane of the digestive vacuole (DV) allowing chloroquine concentrations to decrease [32]. This prompted development of new derivatives of chloroquine, but with varying efficacy and each complicated by additional resistance, toxicity and patient compliance [32]. Derivatives of quinine compounds such as mefloquine were effective but gave rise to untenable side effects which made it unsuitable for some cases, and they too became the subject of resistance from *Plasmodium* parasites again via a mutation in the *pfmdr1* gene which codes for a transporter with analogous functions to PfCRT [32].

With the *Cinchona* bark derivatives being found to be limited due to the factors stated above another possible solution was from artemisinins, the active anti-malarial compound also known as «Qinghaosu», or the «Sweet Wormwood» [32]. Artemisinins act by releasing carbon-centred radicals that target the structures of the cell, specifically cellular lipids, DV membranes, inactivating proteins, and like the *Cinchona* derivatives — interfering with the production of hemozoin [32]. Currently artemisinins are the frontline therapy for *P. falciparum*, but again resistance in the species has arisen through strains that have PfATP6 mutations (a single amino acid mutation, Leu263) [33], as well as those strains lacking mutations in the genes *atp6* and *mdr1*, suggesting a non-mutually exclusive alternative mechanism [31].

Resistance Arising from Target Modification and Transporter Proteins

Malaria resistance can also be classified via two main mechanisms; firstly, those that are target modification related such as the Kelch13 propeller single nucleotide polymorphisms with artemisinin, and folate pathway enzyme modification (e.g. sulphadoxamine-pyrimethamine resistance) [34]. Secondly, those that are transporter protein related such as chloroquine resistance and multidrug resistance [35, 36]. The cellular mechanisms of Kelch13 artemisinin resistance are relatively unknown, as the gene has only recently been discovered [9]. In 2014, Ariey *et al.* stated that according to homology studies, the Kelch13 mutations destabilise the protein domain scaffold and alter its function [9]. Based on the premise that the toxicity of artemisinin is reactive oxygen species (ROS) dependent (although other mechanisms have been postulated [35]), its function in regulating cytoprotective and degradative responses to external stress is of interest [9]. A recent study by Mbengue *et al.* [37] demonstrated a biochemical mechanism for the resistance to artemisinin by *Plasmodium* parasites. Briefly, in non-resistant parasites, artemisinin inhibits phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K), leading to a decreased production of phosphatidylinositol-3-phosphate (PI3P). The PI3P molecule has an important role in parasite protein export with infected erythrocytes, as shown in prior work by the same group [38]. The researchers propose that, in wild-type parasites, Kelch13 binds to PI3K, leading to ubiquitination and protein degradation. However, in artemisinin resistant strains, the Kelch13 C580Y mutation confers less binding of the Kelch13 protein to PI3K, leading to increase in PI3K levels and therefore, an increase in PI3P in the parasite [37]. Furthermore, introducing wild-type Kelch13 into resistant parasites resulted in a reduction of PI3P and resistance (measured as a decrease in RSA). Likewise, the introduction of Kelch13 C580Y into sensitive parasites resulted in an increase in PI3P and resistance (measured as an increase in ring-stage survival assay). Overall this study demonstrated a connection between Kelch13 C580Y mutation, PI3K and its product PI3P, in conferring resistance to artemisinin.

More is known about non-Kelch13 forms of resistance as they have been studied more extensively. Transporter proteins are largely associated with DV of *Plasmodium* species, with chloroquine and other quinine-based synthetics being shown to bind to haem and prevent its detoxification process [2]. For example, transporter proteins can reduce the concentration of



quinine derivatives such as chloroquine within the DV and thus interfere with their action. Other proteins such as the glycoprotein coded by the *fpmdr1* gene (a 162 kDa protein with a structure similar to the ATP binding cassette [ABC] family of transporters and glycoproteins) have also been postulated to interact with other resistance genes and proteins [36]. The folate pathway of anti-malarial resistance arises via the target modification of the dihydropteroate synthase and dihydrofolate reductase enzymes (due to point mutations in both genes that encode these enzymes) which reduce the chemical binding affinity of the anti-malarials for those enzymes [36]. This mechanism confers resistance to sulfadoxine, dapsone, and pyrimethamine and proguanil [36].

In a recent study utilising the *P. berghei* mouse model of malaria by Lin *et al.* [39], researchers created parasites with mutations in enzymes that are involved in haemoglobin digestion, specifically plasmepsin 4 (PM4) and berghepsin 2 (BP2), and that with these mutations, they were limited to reticulocytes and were of smaller size compared to wild-type parasites, across different stages of the lifecycle. The most surprising finding by the researchers was that, although impaired in haemoglobin digestion, these mutant parasites were resistant to chloroquine, even at high doses. This observation indicates a new mechanism of resistance to compounds that specifically target haemoglobin digestion and could have potential relevance to *P. vivax* infections, given that *berghei*, like *vivax*, is also reticulocyte-restricted, and that resistance to chloroquine by *vivax* differs to that of *falciparum* (that is, *falciparum* resistance to chloroquine is through mutations in the *pfcr* and *fpmdr1* genes) [39]. How well this observation occurs in chloroquine-resistant *P. vivax* infections remains to be elucidated. Interestingly, the chloroquine-resistant parasites remained sensitive to artesunate, further highlighting the importance of treating cases of chloroquine-resistance with artemisinin-combination therapies.

Further complicating drug-resistance is the findings from a study by Regev–Rudzki *et al.* [40], demonstrating that *P. falciparum* infected erythrocytes can communicate between each other, using exosome-like vesicles. In particular, they were able to demonstrate that genes conferring resistance to drugs were able to transmit between infected erythrocytes. The spread of resistance between infected erythrocytes will be another factor to address in the problem of spreading drug resistance.

Addressing Resistance Pharmacologically

Given that the use of chloroquine, artemisinin and their common derivatives has given rise to resistance, new drugs are being evaluated such as ferroquine, pyronaridine, piperazine [41] and quinolone-3-diarylethers [42]. Ferroquine, which has undergone successful Phase I trials [43], is proposed to counter chloroquine resistance [44, 45] by utilizing a modified functional group at the 4-amino position [30]. Its mechanism is characterised by disrupting membrane proteins and the arresting of haemozoin formation [30]. Pyronaridine also contains a variation on the 4-amino acid side chain and has entered Phase III clinical trials [46]; however this variation on the side chain determines a different mechanism of action whereby deleterious modifications on the DV of late trophozoites and schizonts as well as the acting on haematin formation have made this a viable option [47] (in this way operating similarly to its predecessor chloroquine) as well as in combination therapy with artesunate [48]. Piperazine was also shown to be effective until resistance developed in China [31] and now is used with some effectiveness as a combination therapy with dihydroartemisinin [49]. However although the mechanism of piperazine has not been fully elucidated, its structure is characterised by a 4-amino group modification and may share a similar mechanism of action as chloroquine and pyronaridine.

A new class of drug which has been put forward in 2013 were the quinolone-3-diarylethers, specifically ELQ-300 [42]. It has been shown that ELQ-300 targets the Q site of the both the *P. falciparum* and *P. vivax* mitochondrial enzyme complex known as cytochrome bc₁ [42]. ELQ-300 targets the liver and blood stages, as well as being effective against the exoerythrocytic stages, schizonts, and inhibiting the formation of ookinetes and oocysts [42]. Its mechanism of action greatly differs from those of the chloroquine derivatives outlined above (where the pathway involving the DV is targeted); here parasite oxygen respiration is rapidly inhibited [42]. Further, in order to test for the possibility of resistance to this drug in the future an attempt to generate resistant mutants was made and failed, suggesting that the development of resistance may not



be as frequent compared to chloroquine, its derivatives and artemisinin [42]. This particular study with ELQ-300 was done both *in vitro* and *in vivo*, showing good bioavailability in therapeutically relevant doses [42] and if this drug did proceed to Phase I human clinical trials it would provide a shift away from the traditional drugs outlined previously.

Effects of Malaria Resistance on World Health Organisation Malarial Elimination Programmes

Section 6 of the WHO World Malaria Report 2014 [50] and other WHO reports [22, 51, 52], discuss the current concern of *P. falciparum* resistance to drugs, in particular to artemisinin, which has emerged in countries that constitute the Greater Mekong Subregion, such as Myanmar and Thailand, as well as parts of South America.

In the majority of countries, the WHO recommends a three-day course of an ACT for uncomplicated malaria, which involves a fast acting artemisinin compound, in combination with a second, longer lasting anti-malarial substance such as mefloquine. Since 2013, ACTs are utilised as a first-line treatment option in 79 of 87 countries [50]. However the long-term utility of ACTs is threatened by the emergence of artemisinin resistance in places like the Greater Mekong Subregion where it may spread. ACT utility is also threatened by the use of artemisinin monotherapies, which involve a 7 day treatment regime (compared to 3 days with an ACT), but causes many patients to drop out of the treatment program early, thereby encouraging resistance to continue [22].

In order to prolong the long term effectiveness of ACTs as useful treatment, the WHO is recommending that a majority of countries to cease the use and marketing of artemisinin monotherapies, in both public and private sectors, and to encourage the proper use of the ACTs [22, 50, 52]. This in itself presents its own challenges, because the plan will involve targeting all facets of the production cycle of artemisinin monotherapies, the complex dynamics of international trade and in the enforcement of regulations by states. The WHO nevertheless gives a generic framework for accomplishing this task of phasing out artemisinin monotherapies [22]. To further assist in maintaining anti-malarial effectiveness, the WHO also recommends that countries perform Therapeutic Efficacy Studies (TES) every two years at sentinel sites, which would serve to guide treatment regimes and to monitor for suspected cases of resistance to anti-malarials, particularly artemisinin.

While maintaining the effectiveness of ACTs is vital via phasing out artemisinin monotherapies, it is also important to stop the movement of these resistance mechanisms. The WHO developed in 2013 the "Emergency response to artemisinin resistance (ERAR) in the Greater Mekong subregion: A regional framework for action 2013–2015" [53], a follow up of the 2011 "Global plan for artemisinin resistance containment (GPARC)" report [54]. As a framework, this emergency plan provides recommendations to contain the spread of resistance to other locations in the Greater Mekong Subregion, which the WHO considers a feasible goal [50].

The WHO emphasises that, without combating these practices that contribute to resistance spreading, the first line of defence against uncomplicated malaria, the ACT, would lose its therapeutic ability. With no safe and effective alternative to replace artemisinin in the next few years, the public health risk is even greater. A recent article by Lubell and colleagues [55] models the economic and human cost of artemisinin resistance, with an increase in mortality of approximately 100,000 people per year, with productively losses of US\$385 million and increases in medical costs of US\$32 million per year. These "ballpark" estimates are a cause for concern. However, the good news is that from past experience, the removal of a drug pressure in an area of resistance, these resistance genes confer reduced survival and fitness to parasites relative to non-resistance parasites, which can serve to increase the life span of the corresponding drug [22, 56].

Conclusions

Considering that artemisinin and other antimalarial drugs such as quinine and chloroquine resistance is already well established in South east Asia, with non-artemisinin based anti-malarials spread around the world [22, 57] and that artemisinin is a last line of chemotherapy for *P. falciparum*, a vigorous response and containment policy is required to avoid spreading of these



resistance genes amongst *Plasmodium* species [22, 50]. Surveillance programs for resistance need to not only take into consideration the major species like *P. vivax* and *P. falciparum* but also need to monitor the other 3 *Plasmodium* species as well to avoid a disease succession scenario where one form of the disease becomes predominate as another one wanes (i.e. *P. knowlesi*). The scope of current malaria control research is very diverse and with the addition of molecular methodologies and the sequencing of the *P. falciparum* and *P. vivax* genomes providing new targets for chemical and treatment control as well as new tools in terms of molecular markers (surveillance) have become available as a result of increasing understanding of the disease agents and resistance molecular mechanisms [58–60].

Part of the problem with artemisinin resistance is that it is a recent phenomenon and current knowledge is far from being comprehensive in both the artemisinin mechanisms of action and the resistance mechanisms. Diverse approaches involving changing prescription behaviours, as proposed by the WHO through policy and legislative means [22], encouraging more malaria control and surveillance research and altering the balance of activity of anti-malarial programs based on the on-going surveillance results. For example a staggered complementary approach could be used if artemisinin resistance surveillance shows an increase in prevalence then a switch to vector control or transmission could be used in addition to evaluating the need for different prescribing approaches of other anti-malarials. This approach could use the assumed fitness cost of the resistance mechanisms to advantage assuming that compensatory mutations have not occurred. The emergence and spread of malaria resistance is a clear and present danger to the progress made in recent years by the WHO on their ability to control the spread and damage caused by malaria.

Acknowledgements

The authors of this manuscript would like to thank Melinda Ashcroft of the University of Queensland, Dr. Sara Canavati of the Wellcome-Mahidol-Oxford Tropical Medicine Research Unit and Dr. Ben Clark of Freemantle Hospital in Perth and the University of Western Australia, for their expert opinions and revisions/suggestions during the preparation of this manuscript. William Godfrey would like to give thanks to Prof. Gerhard Schenck of the University of Queensland for his support and guidance. Christopher Weir and William Godfrey would also like to acknowledge Ralph Pootawn for his invaluable insights.

References

1. Ashley E. A., Dhorda M., Fairhurst R. M. *et al.* Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med.* 2014 31; 371(5):411–23.
2. Petersen I., Eastman R., Lanzer M. Drug-resistant malaria: Molecular mechanisms and implications for public health. *FEBS Letters.* 2011; 585(11):1551–62.
3. Baird J. K. Evidence and implications of mortality associated with acute *Plasmodium vivax* malaria. *Clinical microbiology reviews.* 2013; 26(1):36–57.
4. Hoffman S. L., Subramanian G. M., Collins F. H., Venter J. C. *Plasmodium*, human and Anopheles genomics and malaria. *Nature.* 2002 7; 415(6872):702–9.
5. Maguire J. D., Sumawinata I. W., Masbar S. *et al.* Chloroquine-resistant *Plasmodium malariae* in south Sumatra, Indonesia. *Lancet.* 2002 6; 360(9326):58–60.
6. Visser B. J., van Vugt M., Grobusch M. P. Malaria: an update on current chemotherapy. Expert opinion on pharmacotherapy. 2014; 15(15):2219–54.
7. Dinko B., Oguike M. C., Larbi J. A., Bousema T., Sutherland C. J. Persistent detection of *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale curtisi* and *P. ovale wallikeri* after ACT treatment of asymptomatic Ghanaian school-children. *International journal for parasitology Drugs and drug resistance.* 2013 Dec;3:45–50.
8. Fatih F. A., Staines H. M., Siner A. *et al.* Susceptibility of human *Plasmodium knowlesi* infections to anti-malarials. *Malaria Journal.* 2013;12(1):1–15.
9. Ariey F., Witkowski B., Amaratunga C. *et al.* A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature.* 2014;505(7481):50–5.
10. Straimer J., Gnadig N. F., Witkowski B. *et al.* Drug resistance. K13-propeller mutations confer artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* clinical isolates. *Science.* 2015 Jan 23;347(6220):428–31.
11. Randrianarivelosoa M., Raveloson A., Randriamanantena A. *et al.* Lessons learnt from the six decades of chloroquine use (1945–2005) to control malaria in Madagascar. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 2009 1, 2009;103(1):3–10.



12. Murray C. J., Rosenfeld L. C., Lim S. S. *et al.* Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet*. 2012 4;379(9814):413–31.
13. Miotto O., Almagro-Garcia J., Manske M. *et al.* Multiple populations of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Cambodia. *Nature genetics*. 2013;45(6):648–55.
14. Eastman R. T., Fidock D. A. Artemisinin-based combination therapies: a vital tool in efforts to eliminate malaria. *Nature reviews Microbiology*. 2009;7(12):864–74.
15. Dye C., Williams B. G. Multigenic drug resistance among inbred malaria parasites. *Proceedings Biological sciences / The Royal Society*. 1997 22;264(1378):61–7.
16. Dondorp A. M., Yeung S., White L. *et al.* Artemisinin resistance: current status and scenarios for containment. *Nature reviews Microbiology*. 2010;8(4):272–80.
17. Noedl H., Se Y., Schaefer K. *et al.* Evidence of Artemisinin-Resistant Malaria in Western Cambodia. *New England Journal of Medicine*. 2008;359(24):2619–20.
18. Tun K. M., Imwong M., Lwin K. M. *et al.* Spread of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Myanmar: a cross-sectional survey of the K13 molecular marker. *The Lancet infectious diseases*. 2015;15(4):415–21.
19. Talundzic E., Okoth S. A., Congpuong K. *et al.* Selection and spread of artemisinin-resistant alleles in Thailand prior to the global artemisinin resistance containment campaign. *PLoS Pathog*. 2015;11(4).
20. Takala-Harrison S., Jacob C. G., Arze C. *et al.* Independent emergence of artemisinin resistance mutations among *Plasmodium falciparum* in Southeast Asia. *J Infect Dis*. 2015 1;211(5):670–9.
21. Nyunt M. H., Hlaing T., Oo H. W. *et al.* Molecular assessment of artemisinin resistance markers, polymorphisms in the K13 propeller, and a multidrug-resistance gene in the eastern and Western border areas of myanmar. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015 15;60(8):1208–15.
22. WHO. Emergence and spread of artemisinin resistance calls for intensified efforts to withdraw oral artemisinin-based monotherapy from the market. Geneva, World Health Organisation: 2014.
23. Mishra N., Anvikar A. R., Shah N. K. *et al.* Prescription practices and availability of artemisinin monotherapy in India: where do we stand? *Malaria journal*. 2011;10:360.
24. Ricci C., Eliasson C., Macleod N., Newton P., Matousek P., Kazarian S. Characterization of genuine and fake artesunate anti-malarial tablets using Fourier transform infrared imaging and spatially offset Raman spectroscopy through blister packs. *Anal Bioanal Chem*. 2007;389(5):1525–32.
25. Nayyar G. M., Breman J. G., Newton P. N., Herrington J. Poor-quality antimalarial drugs in southeast Asia and sub-Saharan Africa. *The Lancet infectious diseases*. 2012;12(6):488–96.
26. Newton P. N., Green M. D., Mildenhall D. C. *et al.* Poor quality vital anti-malarials in Africa — an urgent neglected public health priority. *Malaria journal*. 2011;10:352.
27. Taberner P., Fernandez F. M., Green M., Guerin P. J., Newton P. N. Mind the gaps—the epidemiology of poor-quality anti-malarials in the malarious world—analysis of the WorldWide Antimalarial Resistance Network database. *Malaria journal*. 2014;13:139.
28. Trape J. F. The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2001 12;64.
29. Baird J. K., Leksana B., Masbar S. *et al.* Diagnosis of resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax*: timing of recurrence and whole blood chloroquine levels. *Am J Trop Med Hyg*. 1997;56(6):621–6.
30. Flannery E. L., Chatterjee A. K., Winzeler E. A. Antimalarial drug discovery — approaches and progress towards new medicines. *Nature reviews Microbiology*. 2013;11(12):849–62.
31. Schlitzer M. Malaria chemotherapeutics part I: History of antimalarial drug development, currently used therapeutics, and drugs in clinical development. *ChemMedChem*. 2007;2(7):944–86.
32. Miller L. H., Ackerman H. C., Su X. Z., Wellems T. E.. Malaria biology and disease pathogenesis: insights for new treatments. *Nat Med*. 2013;19(2):156–67.
33. Uhlemann A. C., Cameron A., Eckstein-Ludwig U. *et al.* A single amino acid residue can determine the sensitivity of SERCAs to artemisinins. *Nature structural & molecular biology*. 2005;12(7):628–9.
34. Plowe C. V. Malaria: Resistance nailed. *Nature*. 2014;505(7481):30–1.
35. Cui L., Su X-Z. Discovery, mechanisms of action and combination therapy of artemisinin. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2009;7(8):999–1013.
36. Cowman A. F. Functional analysis of drug resistance in *Plasmodium falciparum* in the post-genomic era. *Int J Parasitol*. 2001;31(9):871–8.
37. Mbengue A., Bhattacharjee S., Pandharkar T. *et al.* A molecular mechanism of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*. 2015 30;520(7549):683–7.
38. Bhattacharjee S., Stahelin R. V., Speicher K. D., Speicher D. W., Haldar K. Endoplasmic reticulum PI(3)P lipid binding targets malaria proteins to the host cell. *Cell*. 2012 20;148(1–2):201–12.
39. Lin J. W., Spaccapelo R., Schwarzer E. *et al.* Replication of *Plasmodium* in reticulocytes can occur without hemozoin formation, resulting in chloroquine resistance. *J Exp Med*. 2015.
40. Regev-Rudzki N., Wilson Dw Fau — Carvalho T. G., Carvalho Tg Fau — Sisquella X. *et al.*



Cell-cell communication between malaria-infected red blood cells via exosome-like vesicles. *Cell*. 2013 23;153(5):1120–33.

41. Pink R., Hudson A., Mouries M. A., Bendig M. Opportunities and challenges in antiparasitic drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*. 2005;4(9):727–40.

42. Nilsen A., LaCrue A. N., White K. L. *et al.* Quinolone-3-diarylethers: a new class of antimalarial drug. *Sci Transl Med*. 2013 20;5(177):177ra37.

43. Mombo-Ngoma G., Supan C., Dal-Bianco M. P. *et al.* Phase I randomized dose-ascending placebo-controlled trials of ferroquine — a candidate anti-malarial drug — in adults with asymptomatic *Plasmodium falciparum* infection. *Malaria journal*. 2011;10:53.

44. Zishiri V. K., Joshi M. C., Hunter R. *et al.* Quinoline antimalarials containing a dibemethin group are active against chloroquinone-resistant *Plasmodium falciparum* and inhibit chloroquine transport via the *P. falciparum* chloroquine-resistance transporter (PfCRT). *Journal of medicinal chemistry*. 2011 13;54(19):6956–68.

45. Burgess S. J., Selzer A., Kelly J. X. *et al.* A chloroquine-like molecule designed to reverse resistance in *Plasmodium falciparum*. *Journal of medicinal chemistry*. 2006 7;49(18):5623–5.

46. Kar S., Kar S. Control of malaria. *Nature reviews Drug discovery*. 2010;9(7):511–2.

47. Croft S. L., Duparc S., Arbe-Barnes S. J. *et al.* Review of pyronaridine anti-malarial properties and product characteristics. *Malaria journal*. 2012;11:270.

48. Rueangweerayut R., Phyo A. P., Uthaisin C. *et al.* Pyronaridine-artesunate versus mefloquine plus artesunate for malaria. *N Engl J Med*. 2012 5;366(14):1298–309.

49. Myint H. Y., Ashley E. A., Day N. P. *et al.* Efficacy and safety of dihydroartemisinin-piperazine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007;101(9):858–66.

50. WHO. World Malaria Report. Geneva: World Health Organisation: 2014.

51. WHO. Status report on artemisinin resistance. Geneva: World Health Organisation: 2014.

52. WHO. Intensified efforts required to withdraw oral artemisinin-based monotherapies. WHO Drug Information. 2014;28(2).

53. WHO. Emergency response to artemisinin resistance in the Greater Mekong subregion. Regional framework for action 2013–2015. Geneva: World Health Organisation: 2013.

54. WHO. Global plan for artemisinin resistance containment (GPARC). Geneva: World Health Organisation: 2011.

55. Lubell Y., Dondorp A., Guerin P. J. *et al.* Artemisinin resistance-modelling the potential human and economic costs. *Malaria journal*. 2014;13:452.

56. Laufer M. K., Plowe C. V. Withdrawing antimalarial drugs: impact on parasite resistance and implications for malaria treatment policies. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*. 2004;7(4–5):279–88.

57. White N. J. Antimalarial drug resistance. *J Clin Invest*. 2004;113(8):1084–92.

58. Biamonte M. A., Wanner J., Le Roch K. G. Recent advances in malaria drug discovery. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2013;23(10):2829–43.

59. Buckner F. S., Waters N. C., Avery V. M. Recent highlights in anti-protozoan drug development and resistance research. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2012;2(0):230–5.

60. Vessière A., Berry A., Fabre R., Benoit-Vical F., Magnaval J-F. Detection by real-time PCR of the PfCRT T76 mutation, a molecular marker of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* strains. *Parasitology Research*. 2004;93(1):5–7.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13276

Article history:

Received 10.02.2015

Accepted 14.05.2015

**ОБЗОР ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТИВОМАЛЯРИЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ,
ПРИМЕРЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ
НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОГРАММ ВСЕМИРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ (ВОЗ)**

Nikolce Kocovski B.Biomed (Hons)*¹, William Godfrey L.L. B*², Derek Elkington B. Sc (Micro Biotech), Dip. Lab Tech, M. Inf. Dis*³, and Christopher Weir B.Sc (BioMed), M. Mol. Biol, Ph.D.

*Эти авторы являются соавторами, которые внесли одинаковый вклад в публикацию.

¹Olivia Newton–John Cancer Research Institute and School of Cancer Medicine, La Trobe University, Austin Health, Heidelberg 3084, Victoria, Australia; ²The School of Chemistry and Molecular Biosciences, The University of Queensland, St. Lucia 4072, Queensland, Australia; ³School of Pathology and Laboratory Medicine, University of Western Australia, Crawley 6009, Western Australia, Australia; ⁴Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, 1G Royal Parade, Parkville 3052, Victoria, Australia; ⁵University of Melbourne, Department of Medical Biology, Parkville 3010, Victoria, Australia; ⁶University of Edinburgh, School of Chemistry, Edinburgh EH9 3FJ, Scotland, United Kingdom.

Corresponding author: Christopher Weir, e-mail: weir.c@wehi.edu.au

Реферат

Два наиболее распространенных штамма паразитов, вызывающие малярию у человека, — это *Plasmodium falciparum* и *P. vivax*.

Проблема, касающаяся лечения этих болезней, это проблема устойчивости к лекарственным препаратам. Устойчивость к лекарственным препаратам часто возникает вследствие ключевых мутаций при неправильном выборе метода лечения, и уже продемонстрировала свою способность к глобальному распространению, затрудняя дальнейшую разработку современных и более эффективных лечебных программ, таких как программы Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ). В этой статье мы рассматриваем историю применения противомаларийных средств, развитие устойчивости к ним в Африке и Азии, механизм действия лекарственных препаратов и лекарственную устойчивость, а также влияние устойчивости на политику ВОЗ.

Ключевые слова: малярия, лекарственная устойчивость.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 23.03.2015
Принята в печать 29.06.2015

УДК 619: 616. 995.1- 07
DOI:10.12737/13277

Кряжев А.Л.¹, Никитин В.Ф.² Эффективность новых антигельминтиков широкого спектра действия при гельминтозах крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 75–79.

Kryazhev A.L., Nikitin V.F. Efficacy of new broad spectrum anthelmintic drugs for treatment of helminthosis in cattle in conditions of Vologda region. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 75–79.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВЫХ АНТИГЕЛЬМИНТИКОВ ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

А.Л. Кряжев¹, В.Ф. Никитин²

¹ Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина, e-mail: kamarnett@mail.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28, e-mail: nikitin@vniigis.ru

Реферат

Цель исследования — изучение эффективности новых антигельминтиков широкого спектра действия при основных гельминтозах крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Проведено 4 опыта по испытанию антигельминтиков при гельминтозах крупного рогатого скота в условиях хозяйств Вологодской области. В первом опыте на 125 головах крупного рогатого скота при фасциолезе испытали на разных группах животных по 25 голов в каждой фаскоцид в дозе 10 мг/кг, гелмицид в дозе 5,25 мг/кг по ДВ, альбендазол в дозе 15 мг/кг, фезол в дозе 14 мг/кг, альбен в дозе 10 мг/кг однократно. Эффективность препаратов учитывали по результатам копроовоскопии до и через 45 суток после дегельминтизации. Второй опыт провели при парамфистомозе крупного рогатого скота с испытанием тех же препаратов. В 3, 4 и 5-м опытах использовали те же препараты соответственно при мониезиозе, стронгилятозах пищеварительного тракта и диктиокаулезе молодняка крупного рогатого скота.

Результаты и обсуждение. При фасциолезе крупного рогатого скота эффективность составила фаскоцида и гелмицида 100 %, фезола 92, альбена 76 %, при парамфистомозе соответственно 100 %, 84, 80 и 68 %. Эффективность при мониезиозе крупного рогатого скота была равной гелмицида и фезола 100 и альбена 92 %, а при желудочно-кишечных стронгилятозах фезола 100 %, гелмицида 92 и альбена 84 %. При диктиокаулезе эффективность составила гелмицида 88 %, фезола 92 и альбена 80 %.

Ключевые слова: антигельминтики, гельминтозы, терапия, крупный рогатый скот.

Введение

Гельминтозы крупного рогатого скота при пастбищном содержании широко распространены в Вологодской области и причиняют скотоводческим хозяйствам значительный экономический ущерб [2]. Одним из звеньев эффективной борьбы с ними является применение высокоэффективных, и в то же время, малотоксичных химиотерапевтических препаратов антигельминтного действия [1].

В связи с эколого-эпизоотической ситуацией по гельминтозам в изучаемом регионе, в частности: значительным распространением ряда гельминтозов в хозяйствах, в том числе,

часто протекающих в виде микстинвазий [3, 4], несвоевременной диагностикой, отсутствием терапевтических мер или применением слабоэффективных антигельмитиков, возникла необходимость изучения на практике доступных препаратов для их широкого применения в хозяйствах молочного скотоводства.

Из анализа литературных источников по изучению химиотерапевтических антигельминтных препаратов известны определенные требования к их применению по данным эффективности, периодичности и кратности применения, побочному действию на продуктивность животных, оптимальные дозировки и т. д. [5, 6].

Исходя из этого, нами была поставлена задача испытать ряд наиболее доступных препаратов с перспективой широкого спектра трематодоцидного, цестодоцидного и нематодоцидного действия с определением наиболее эффективных из них применительно к условиям молочного скотоводства. В их числе: фаскоцид гранулы, гельмицид гранулы («НВЦ Агроветзащита С. П.»), фезол (ВНИИП).

Поскольку в большинстве хозяйств региона проводятся дегельминтизации с использованием препаратов на основе альбендазола, в качестве базового препарата выбрали альбен гранулы («НВЦ Агроветзащита С. П.»).

Материалы и методы

Испытания препаратов проводили преимущественно на молодняке в 2006–2014 гг. в хозяйствах, неблагополучных по фасциолезу, парамфистомидозам, мониезиозу, желудочно-кишечным стронгилятозам и диктиокаулезу в сроки, установленные с учетом биологии возбудителей в условиях изучаемого региона. Эффективность препаратов определяли методом «критического» и «контрольного» тестов по результатам копрооволарвоскопических обследований животных до и после дегельминтизации через 10–45 сут в зависимости от таксономической принадлежности гельминтов.

Опыт 1. Антигельминтную эффективность препаратов определяли при фасциолезе крупного рогатого скота в ООО СПК «Харовский», СПК «Приозерье» Харовского района, СПК «Северная ферма» Вологодского района. Хозяйства подбирали по принципу аналогов с учетом природно-экологической зоны, экономического состояния, технологии содержания и других показателей.

По результатам копроовоскопических исследований выявляли инвазированных фасциолами животных и формировали их по группам (25 голов в каждой): на первой группе инвазированных животных испытывали фаскоцид в дозе 1 г/10 кг (10 мг/кг по ДВ) однократно при скормлении в смеси с комбикормом; второй группе — гельмицид в дозе 7,5 г/100 кг (оксиклозанид — 5,25 мг/кг, альбендазол — 15 мг/кг по ДВ) в смеси с концентрированными кормами однократно; третьей группе животных задавали фезол в виде водной суспензии однократно в дозе 20 мг/кг (14 мг/кг по ДВ); в четвертой группе использовали базовый препарат альбен в дозе 5 г/100 кг (10 мг/кг по ДВ) однократно в смеси с комбикормом. Пятая группа животных препарат не получала и служила контролем. Копроовоскопические исследования всех групп животных проводили до и через 45 сут после обработки.

Опыт 2. Препараты испытывали при парамфистомидозе крупного рогатого скота в тех же хозяйствах и по той же методике, как и при фасциолезе.

В первой группе инвазированным животным задавали фаскоцид в дозе 1,25 г/10 кг (12,5 мг/кг по ДВ) однократно в смеси с комбикормом, второй группе — гельмицид в дозе 7,5 г/100 кг (оксиклозанид — 5,25 мг/кг, альбендазол — 15 мг/кг по ДВ) однократно, третьей группе — фезол в виде водной суспензии однократно в дозе 20 мг/кг (14 мг/кг по ДВ), четвертой группе — базовый препарат альбен в дозе 5 г/100 кг (10 мг/кг по ДВ) однократно в смеси с комбикормом. Пятая группа животных служила контролем.

Опыт 3. Антигельминтную эффективность препаратов при мониезиозе крупного рогатого скота изучали в сельскохозяйственных артелях ООО «Согласие» и «Дружба» Белозерского района, подобранных по принципу аналогов.

Животным первой группы задавали гельмицид в дозе 3,75 г/100 кг (оксиклозанид — 2,5 мг/кг, альбендазол — 7,5 мг/кг по ДВ) в смеси с комбикормом однократно, второй груп-



пы — фезол в виде водной суспензии однократно в дозе 5 мг/кг (3,5 мг/кг по ДВ), третьей группы — базовый препарат альбен в дозе 3,75 г/100 кг (7,5 мг/кг по ДВ) однократно в смеси с концентрированными кормами. Четвертая группа животных препарат не получала.

Копроовоскопические исследования всех групп животных проводили до обработки и через 30 сут после. Эффективность препаратов определяли как и в предшествующих опытах.

Опыт 4. Испытание препаратов в указанных дозах при желудочно-кишечных стронгилятозах крупного рогатого скота проводили в хозяйстве СПК «Сокол» Сокольского района по методике, описанной в опыте 3.

Опыт 5. Определение эффективности антигельминтных препаратов при диктиокаулезе крупного рогатого скота осуществляли в хозяйствах ЗАО «Шуйский» и колхозе ЗАО АФ «Завет» Междуреченского района. Испытывали те же препараты и по той же методике, что и при желудочно-кишечных стронгилятозах крупного рогатого скота на 4 группах животных по 25 голов в каждой.

Копроларвоскопические исследования всех групп животных проводили до и через 10 сут после дачи препаратов.

Результаты и обсуждение

Опыт 1. Фаскоцид и гелмицид в применённых дозах показали 100%-ный эффект. Фезол проявил 92%-ную эффективность, у двух животных в фекалиях обнаруживали яйца фасциол. ИЭ в «критическом тесте» составила 99,3, в «контрольном тесте» — 99,5 %.

Базовый препарат альбен оказался менее эффективным. ЭЭ составила 76 %, в фекалиях шести животных обнаруживали яйца фасциол.

Таким образом, при фасциолезе крупного рогатого скота высоким антигельминтным эффектом обладают фаскоцид и гелмицид, что связано с высоким трематодоцидным свойством оксиклозанида, составляющим основу обоих препаратов.

Фезол и альбен оказались менее эффективными, но при отсутствии выбора, их также можно использовать для дегельминтизации животных при фасциолезе.

Опыт 2. Фаскоцид при парамфистоматозах крупного рогатого скота показал ЭЭ 100 %, гелмицид — 84 %. У четырех животных в 1 г фекалий находили от 2 до 6 экз. яиц парамфистомид.

После применения фезола при повторном копроовоскопическом обследовании 5 животных оставались инвазированными при обнаружении 1–4 яиц в 1 г фекалий.

Альбен показал 68%-ный эффект. 8 животных оставались инвазированными при обнаружении в 1 г фекалий 3–8 яиц парамфистомид.

Наиболее эффективным антигельминтным препаратом из испытанных при парамфистомидозе крупного рогатого скота оказался фаскоцид. Альбен показал наименьшую эффективность, поэтому нами не рекомендуется для дегельминтизации животных при парамфистомидозе.

Опыт 3. Гелмицид и фезол показали 100%-ную ЭЭ. После применения альбена через 30 сут после дегельминтизации у двух животных обнаруживали 2 и 4 экз. яиц мониезий в 1 г фекалий.

Опыт показал, что для дегельминтизации против мониезиоза эффективно применение всех испытанных препаратов.

Опыт 4. Гелмицид в дозе 7,5 г/100 кг показал ЭЭ 92 %, т. к. у двух животных были обнаружены яйца стронгилят — 1 и 3 экз./г фекалий.

Фезол в дозе 5 мг/кг показал 100%-ную ЭЭ, альбен в дозе 3,75 г/100 кг — 84 %, т. к. четверо животных оставались инвазированными: при исследовании через 10 сут после обработки у них обнаруживали 8–11 экз. яиц в 1 г фекалий.

Таким образом, наиболее эффективным и рекомендуемым для дегельминтизации против стронгилятозов крупного рогатого скота является фезол. Гелмицид и альбен также являются достаточно эффективными и могут быть использованы для дегельминтизации.

Опыт 5. Гелмицид показал ЭЭ 88 %, т. к. у трех животных через 10 сут после обработки обнаруживали от 3 до 5 личинок в 1 г фекалий.

Фезол показал ЭЭ 92 %. У двух животных через 10 сут после дегельминтизации обнаруживали по 1 и 3 экз. личинок в 1 г фекалий.

Антигельминтные показатели альбена оказались ниже — ЭЭ составила 80 %. У пяти животных обнаруживали от 5 до 9 экз. личинок диктиокаул в 1 г фекалий.

В опыте ни один из испытуемых препаратов не показал 100%-ного эффекта при диктиокаулезе крупного рогатого скота, но эффективность каждого из них была достаточно высока, и их можно рекомендовать для дегельминтизации при диктиокаулезе.

Литература

1. Архипов И. А. Антигельминтики: фармакология и применение. — М., 2009. — 405 с.
2. Кряжев А. Л. Распространение гельминтозов крупного рогатого скота в Вологодской области // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». — М., 2011. — С. 258–260.
3. Кряжев А. Л. Ассоциативные инвазии крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». — М., 2011. — С. 260–263.
4. Кряжев А. Л. Микстинвазии крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // Молочнохозяйственный вестник. — 2011. — № 1. — С. 17–19.
5. Муромцев А. Б. Основные гельминтозы жвачных животных в Калининградской области (эпизоотология, патогенез, лечебно-профилактические мероприятия): автореф. дис. ... д-ра вет. наук. — СПб., 2008. — 42 с.
6. Мусаев М. Б. Изыскание отечественных препаратов для терапии животных при трематодозах и их антигельминтная и фармакотоксикологическая характеристика: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. — М., 2010. — 48 с.

References

1. Arkhipov I. A. *Antigel'mintiki: farmakologiya i primeneniye* [Anthelmintics: pharmacology and uses]. Moscow, 2009. 405 p.
2. Kryazhev A.L. Distribution of helminthosis in cattle in Vologda region. *Mater. dokl. nauch. konf. Vseros. o-va gel'mintol. RAN «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»*. [Proceedings of scientific conference «Theory and practice of struggle against parasitic diseases»]. Moscow, 2011, pp. 258–260.
3. Kryazhev A.L. Associated infections in cattle in conditions of Vologda region Ассоциативные инвазии. *Mater. dokl. nauch. konf. Vseros. o-va gel'mintol. RAN «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»*. [Proceedings of scientific conference «Theory and practice of struggle against parasitic diseases»]. Moscow, 2011, pp. 260- 263.
4. Kryazhev A.L. Mixed infections in cattle in conditions of Vologda region. *Molochnohozjajstvennyy vestnik* [Dairy Farming Bulletin], 2011, no. 1, pp. 17–19.
5. Muromtsev A. B. *Osnovnye gel'mintozy zhvachnyh zhivotnyh v Kaliningradskoj oblasti (epizootologija, patogenez, lecebno-profilakticheskie meroprijatiya): avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk* [The main helminthosis in ruminants in Kaliningrad region (epizootology, pathogenesis, medical and preventive measures): Abstr. doct. thesis in vet. sciences]. St. Petersburg, 2008. 42 p.
6. Musaev M. B. *Izyskanie otechestvennyh preparatov dlja terapii zhivotnyh pri trematodozah i ih antigel'mintnaja i farmakotoksikologičeskaja harakteristika: avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk*
7. [Exploration of domestic drugs against trematodosis in animals and their anthelmintic and pharmacotoxicological characteristics : Abstr. doct. thesis in vet. sciences]. — М., 2010. — 48 с.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13277

Article history:

Received 23.03.2015

Accepted 29.06.2015

EFFICACY OF NEW BROAD SPECTRUM ANTHELMINTIC DRUGS FOR TREATMENT OF HELMINTHOSIS IN CATTLE IN CONDITIONS OF VOLOGDA REGION

Kryazhev A.L.¹, Nikitin V.F.²

¹ The Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, e-mail: kamarnett@mail.ru

² All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya st. e-mail: nikitin@vniigis.ru

Abstract

Objective of research: to study the efficacy of new broad spectrum anthelmintic drugs for treating main helminthosis in cattle.

Materials and methods: 4 experiments were conducted to test the anthelmintic drugs used against helminthosis in cattle in conditions of Vologda region. In the first experiment were involved 125 animals with fasciolosis divided into different groups by 25 animals in each group which got the single doses of: fascicide at a dose of 10 mg/kg, helmicide — 5,25 mg/kg according to the active ingredient, albendazole — 15 mg/kg, fezol — 14 mg/kg, alben — 10 mg/kg.

The efficacy of preparations was registered according to the results of coproovoscopy before and 45 days after dehelmintization. The second experiment was performed at paramphistomosis in cattle with the use of the same preparations. In the 3, 4 and 5 experiments we used the same preparations at moniesiosis, strongylatozis of the digestive tract and dictyocaulosis in young cattle, respectively.

Results and discussion: at fasciolosis of cattle the drug efficacy was: for fascicide and helmicide — 100 %, fezol — 92, alben — 76 %, at paramphistomosis 100 %, 84, 80 and 68 %, respectively. The drug efficacy at cattle moniesiosis was: of helmicide and fezol — 100 %, alben — 92 %, and at gastro-intestinal strongylatozis: of fezol- 100 %, helmicide — 92 and alben — 84 %. At dictyocaulosis the efficacy was: of helmicide — 88 %, fezol — 92 and alben — 80 %.

Keywords: anthelmintic drugs, helminthosis, therapy, cattle.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 02.06.2015
Принята в печать 02.09.2015

УДК 619:616.995.1:637.5'8
DOI:10.12737/13278

Пельгунов А.Н. Разработка новых методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от метацеркарий *Opisthorchis felineus* Rivolta 1884 // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 80–85.

Pelgunov A.N. Elaboration of new methods for decontamination of fish and fish products from metacercaria of *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 80–85.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДОВ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ РЫБ И РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ ОТ МЕТАЦЕРКАРИЙ *OPISTHORCHIS FELINEUS* RIVOLTA, 1884

А.Н. Пельгунов

Центр паразитологии ИПЭЭ РАН, 119071, Москва, Ленинский проспект, 33, e-mail: apelgunov@list.ru

Реферат

Цель исследования — разработка эффективных и энергосберегающих методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от личинок описторхид как в промышленных, так и в домашних условиях.

Материалы и методы. В опыте использовали язей, спонтанно зараженных метацеркариями *Opisthorchis felineus*. Для обработки зараженной описторхидами рыбы применяли вакуумную обработку, электродинамический удар, ультразвуковую обработку и СВЧ-излучение. Метацеркарии *O. felineus* выделяли методом искусственного переваривания. Жизнеспособность метацеркариев определяли по сохранению морфологической структуры метацеркариев, их подвижности, эксцистированию личинок под действием трипсина, методом биологической пробы (экспериментальное заражение золотистых хомячков и белых беспородных мышей).

Результаты и обсуждение. Установлена устойчивость метацеркарий описторхисов к вакууму, электродинамическому удару и ультразвуковой обработке, что во многом определяется строением их капсулы. Только при использовании бытовой микроволновой печи происходило полное обеззараживание рыбы от метацеркарий описторхид.

Ключевые слова: описторхоз, СВЧ-излучение, вакуум, электрогидродинамический удар, ультразвуковое излучение, рыба.

Введение

Основным источником заражения населения описторхозом является рыба домашнего приготовления, отловленная самостоятельно или купленная с рук у рыбаков. Жизнеспособность метацеркарий *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884 широко известна [1].

Одним из важнейших направлений профилактики описторхоза у населения является обработка инвазированной рыбы, обеспечивающая обезвреживание метацеркариев, не только в промышленных масштабах, но и в домашних условиях.

По нормам СанПиН 3.2.569-96 [7] полное обеззараживание рыб и рыбной продукции (т. е. гибель метацеркарий описторхов) происходит при — 28 °С за 32 ч, а при посоле массовая доля соли в мясе рыб должна составлять 14 %, а продолжительность посола 40 сут.

Целью наших исследований был поиск новых эффективных и энергосберегающих методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от личинок описторхид как в промышленных, так и в домашних условиях, для чего нами изучено влияние вакуумной обработки, электродинамического удара, ультразвуковой обработки и СВЧ-излучения на выживаемость метацеркарий описторхисов.



Наиболее эффективным (разрушающим) источником воздействия электромагнитного поля (ЭМП) на живой организм [2] является импульс тока высокого напряжения, имеющий наносекундные параметры: длительность фронта $t_{\text{фр}} < 50$ нс при длительности импульса $t_{\text{д}} < 350$ нс. Частота «подачи» импульса (скважность между импульсами) может меняться в широких пределах: от единиц Гц до нескольких десятков кГц. Такой режим воздействия ЭМП на любой объект эквивалентен гидродинамическому удару, т. е. приложению к объекту практически мгновенно силы в мегавысоких значениях, которые превышают прочность соединений в рассматриваемом объекте.

Такое воздействие проще всего организовать в виде электрического разряда (пробоя) промежутка, образованного двумя электродами, размещенными в сосуде с водой, создавая эффект Юткина, т. е. появление гидроудара или ударных волн со скачком давления на их фронтах с амплитудой свыше 1000 атм. (100 МПа).

В любой жидкости при приложении высоковольтного импульса к электродам, погруженным в нее, образуется неоднородное поле и возникает электрический пробой (разряд), перпендикулярно оси которого возникают ударные акустические волны (гидроудар) в течение действия импульса разрядного тока. Этот эффект носит название «эффекта Д. Юткина».

С раскрытием эффекта Юткина во многих областях физики, электрохимии и нанотехнологий стали широко использовать электрический импульсный разряд в жидкостях как простейший источник ударных волн со скачками давления до 100-тен МПа (тысячи атмосфер) без нагрева с наложением мощного переменного электромагнитного поля.

Известно, что появление ударной волны сопровождается передачей электрической энергии в канал разряда. Внедрение в канал импульсного (даже микросекундного) разряда энергии около 1 Дж оказывается достаточным для 100%-ного обеззараживания водной среды. Этот эффект сейчас широко используют в мировой практике водоподготовки и очистки различных стоков промышленного, коммунального и сельскохозяйственного производств.

Физически ультразвуковое воздействие на биообъекты характеризуется возникновением колебаний рабочей среды. Для достижения режима максимального воздействия акустического излучения на объект необходимо, в первую очередь, подобрать режим излучения, при котором в объекте выделяется максимум энергии. Но поскольку сам объект, как любой живой организм на 80 % состоит из воды и, к тому же, размещается в воде с заданным коэффициентом поглощения, то рабочий режим выбирают по максимуму вкладываемой энергии, затрачиваемой на преобразование воды [5]. Иными словами, воздействие акустического излучения тождественно воздействию на объект ЭМП (электромагнитное поле).

Максимальная концентрация получаемых ионов и электронов на объект (вторичное воздействие на неоднородное по строению вещество) будет при условии резонанса, т. е. при частоте межмолекулярной связи в воде. Наличие ионов и электронов в объеме приводит к возникновению собственного ЭМП уже независимо от глубины проникновения звуковых волн в реакторе. В этом случае это собственное (вторичное) ЭМП будет максимально воздействовать на объект, осуществляя в нем процессы сонохимии по подобию радиохимии, только с максимально достижимой дозой поглощения.

При нагревании продукта токами высокой частоты и в поле СВЧ воздействие тепла на микроорганизмы происходит не только путем теплопередачи от окружающей среды (продукты), как это характерно для других методов нагрева, сколько в результате образования тепла в самом содержимом клетки под действием высокочастотного переменного поля. Колебательные движения частиц в клетках микроорганизмов (в нашем случае метациркарии описторхид) в поле СВЧ сопровождается не только выделением тепла, но и поляризационными явлениями, влияющими на их жизненные функции. Поэтому при нагревании продукта в поле СВЧ гибель паразитов происходит значительно быстрее [8].

Материалы и методы

Для опытов брали язей, спонтанно зараженных метациркариями *O. felineus*, которые были отловлены в районе Миссии (приблизительно в 100 км от г. Тобольск по течению р. Иртыш). Для обработки зараженной описторхидами рыбы применяли вакуумную обработку, электродинамический удар, ультразвуковую обработку и СВЧ-излучение. На вакуумной установке проведено 18 опытов при различных значениях вакуума, временных параметрах

и скорости получения вакуума. В экспериментальную камеру помещали кусок мяса язя с метатцеркариями описторхид. Предварительно проверяли жизнеспособность находящихся в нем метатцеркарий на второй части этого куска методом искусственного переваривания.

При применении импульсно-разрядного комплекса (предоставлен Энергетическим институтом им. Г. М. Кржижановского) использовали следующие параметры воздействия — уровень напряжения $U_N = 30$ кВ, емкость в ударе 4 мкФ, сила удара 1,8 кДж. Время обработки 1 ч, 1 удар в минуту. Было обработано 4 пробы.

Каждый кусок (150-200 г) из спинок язей, зараженных метатцеркариями *O. felineus*, делили пополам. Одну часть обрабатывали в установке, вторая часть служила контролем. Из опытных и контрольных образцов выделяли метатцеркарии. Белые мыши (беспородные) в каждом опыте получали по 30 метатцеркарий. Метатцеркарии *O. felineus* выделяли методом искусственного переваривания [3]. Жизнеспособность метатцеркариев определяли по сохранению морфологической структуры метатцеркарий, их подвижности, эксцистированию личинок под действием трипсина, методом биологической пробы (экспериментальное заражение белых беспородных мышей). Всего было заражено 16 мышей.

Рабочей частотой экспериментов по ультразвуковой обработке была выбрана частота $f_0 = 16,2$ кГц. В этом случае согласно эффекту В. Н. Кондратьева [4] происходит «зарядка» частиц объекта (из-за их движения) с образованием спинов (магнитной составляющей ЭМП от напряженности поглощения), приводящее к «замиранию», т. е. перехода липидов в пептин и прекращение поступления кислорода в эти неоднородности (где спин достигает максимума из-за размеров включений по сравнению с межтканевой средой).

Работа была проведена на установке, разработанной в Энергетическом институте им. Г. Кржижановского РАН в лаборатории физики сильных электромагнитных полей.

Для опытов брали спинки зараженных язей, такие же, как и в опытах с электрогидродинамическим ударом. Опытные образцы (спинки язей) делили на две части — одну часть обрабатывали, другая часть служила контролем. Образцы размещали внутри камеры, заполненной ионизированной водой симметрично относительно оси конфузора излучателя, на расстоянии 50-60 мм от сопла диффузора Лавала. После обработки в опытных и контрольных образцах определяли жизнеспособность метатцеркарий описторхисов.

В качестве СВЧ-излучения в опытах использовали микроволновую печь бытового применения «LG-электроник», максимальной мощности 800 Вт. Рыбу очищали от чешуи, т. е. чешуя частично экранирует СВЧ-излучение и поэтому требуется больше времени на обработку. Жизнеспособность метатцеркариев определяли при экспериментальном заражении 21 золотистого хомячка.

Результаты и обсуждение

Вакуумная обработка. Метатцеркарии описторхид выдерживали практически полный вакуум (0,02 атм.) в течение 24 ч. До обработки вакуумом все выделенные 24 метатцеркарии были подвижны и 19 эксцистировались. После обработки в вакуумной камере из опытного куска было выделено 18 метатцеркарий, все были подвижны, 15 эксцистировались.

Однако, неясно, за счет чего метатцеркарии описторхид выживают в глубоком вакууме: за счет того, что у них анаэробное дыхание (т. е. за счет специфической для паразитов биохимии) или за счет капсулы.

Электрогидродинамический удар. У 8 опытных белых мышей, которым задали по 240 метатцеркарий, найдено 10 трематод (4,2 %), выделено 26 метатцеркарий — эксцистировалось 19 (69 %).

У 8 контрольных белых мышей, которым также задали по 240 метатцеркарий, найдено 12 трематод (5 %), выделено 31 метатцеркарий — эксцистировалось 22 (71 %). Разница статистически незначима.

Приведенные результаты показали, что воздействие гидроударом на образцы рыб не вызывает гибели метатцеркарий описторхид, несмотря на сильное разрушение мышечной и костной тканей.

Ультразвуковая система обработки.

Опыт 1. При следующих параметрах: f_0 (резонансная частота) = 47 Гц, суммарная 16,2 кГц, f_1 (электромагнитнострикционная частота) = 15 кГц, экспозиции 1 ч, J_Σ (суммарная сила воздействия) = 0,3 кДж, в опытном образце найдено 39 метатцеркариев — 24 подвижны; 17



эксцистировались (43 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,61. В контроле найдено 31 метацеркариев — 22 подвижны; 15 эксцистировались (48 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,70.

Опыт 2. При следующих параметрах: $f_0 = 47$ Гц, суммарная 16,2 кГц, $f_1 = 36$ кГц, экспозиции 1 ч, $J_{\Sigma} = 0,72$ кДж, в опытном образце найдено 24 метацеркариев — 12 подвижны; 7 эксцистировались (29 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,50. В контроле найдено 29 метацеркариев — 15 подвижны; 11 эксцистировались (37 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,52.

Разница в обоих опытах оказалась статистически незначимой.

Таким образом, полученные результаты показали отсутствие в данном диапазоне влияния ультразвуковой обработки на жизнеспособность метацеркарий описторхид, находящихся в мышечной ткани рыб.

СВЧ-излучение. Обработка рыбы СВЧ-излучением оказалась эффективной против метацеркарий описторхисов (табл.).

Таблица

Результаты экспериментального заражения золотистых хомячков метацеркариями *O. felineus* до и после обработки рыбы в микроволновой печи

№ опыта	Режим работы, Вт	Время обра-ботки, мин.	К/О*	Число животных	Число метацеркариев	Найдено описторхисов	Приживаемость, %
1	800	2	К	3	142	64	45±4,2
			О	3	120	20	17±3,4
2	800	4	К	3	110	43	39±4,7
			О	6	242	0	0±0,4
3	800	6	К	3	122	36	30±4,1
			О	3	121	0	0±0,8

* К/О — К — контроль; О — опыт, после обработки в СВЧ-печи.

Заключение

Несмотря на отрицательный результат при воздействии на зараженную рыбу вакуума, электродинамического удара, ультразвуковой обработки, полученные данные имеют большой теоретический интерес. Это — устойчивость метацеркарий описторхисов к различным видам физического воздействия, что во многом определяется строением их капсулы.

Проведенные исследования показали, что наиболее эффективным способом обеззараживания рыб от личиночных стадий паразитов является их обработка СВЧ-излучением (патент № 2238013 «Способ обеззараживания продуктов животного происхождения в поле СВЧ»). Нами было показано, что при использовании бытовых микроволновых печей происходит полное обеззараживание рыбы и рыбной продукции от личиночных стадий описторхид (метацеркарий).

Автор благодарит за большую помощь в проведении данной работы коллектив лаборатории ТВН ЭНИН им. Г. Кржижановского и проф. А. Г. Ляпина, а также ведущего инженера ЦП ИПЭЭ РАН А. Ю. Филиппову

Литература

1. Беэр С. А. Биология возбудителя описторхоза. — М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. — 336 с.
2. Буланова К. Я., Соловьева Н. Г., Лобанок Л. М. Биологические и медицинские аспекты действия электромагнитных полей // Изв. НАН Беларуси. сер. Биология. — 2003. — № 4. — С. 108.
3. Глазков Г. А., Климшин А. А., Кривенко А. И. Метод санитарно-гельминтологической экспертизы рыбы на наличие личинок описторхов и определение их жизнеспособности // Гигиена и санитария. — 1979. — № 8. — С. 53-55.
4. Кондратьев В. Н. Фотохимические реакции и реакции в электрическом разряде // Кинетика химических реакций. — М.: Изд-во АН СССР, 1958. — С. 79-127.
5. Pauling L. The nature of the chemical bond (Паулинг Л. Природа химической связи. — М.-Л., 1947. — 440 с.
6. Пельгунов А. Н., Рябов И. Н., Филиппова А. Ю. Использование микроволновых печей в профилактике описторхоза // Мед. паразитол. и паразит. бол. — 2005. — № 3. — С. 42-45.
7. Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации (Санитарные правила и нормы СанПиН 3,2,569-96). — М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1997. — 168 с.
8. Рогов И. А., Адаменко В. Я. Современные методы и оборудование для сверхвысокочастотной обработки пищевых продуктов в промышленности (обзор). — М. ЦНИИТЭИлепищемаш, 1971. — 54 с.

References

1. Beer S. A. *Biologija vozбудitelya opistorkhoza* [Biology of the agent of opisthorchiasis]. Moscow, KMK, 2005. 336 p.
2. Bulanova K. Ya., Solov'eva N. G., Lobanok L. M. Biological and medical aspects of the effect of electromagnetic fields. *Izvestiya NAN Belorusi. Ser. Biologiya* [Bulletin of National Academy of Sciences Belarus, Ser. Biology], 2003, no. 4, 108 p.
3. Glazkov G. A., Klimshin A. A., Krivenko A. I. Method of sanitary-helminthological examination of fish for the presence of larvae of opisthorchids and determining their viability. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and sanitation], 1979, no. 8, pp. 53-55.
4. Kondrat'ev V. N. Photochemical reactions and reactions in electrical discharge. *Kinetika khimicheskikh reaktsiy* [Kinetics of chemical reactions]. Moscow, Publ. of the USSR Academy of Sciences, 1958, pp. 79-127.
5. Pauling L. *Priroda khimicheskoy svyazi* [The nature of the chemical bond]. Moscow-Leningrad, 1947. 440 p.
6. Pel'gunov A. N., Ryabov I. N., Filippova A. Yu. The use of microwave ovens for the prevention of opisthorchiasis. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni* [Medical parasitology and parasitic diseases], 2005, no. 3, pp. 42-45.
7. *Profilaktika parazitarnykh boleznej na territorii Rossijskoj Federatsii (Sanitarnye pravila i normy SanPiN 3,2,569-96)* [Prevention of parasitic diseases on the territory of the Russian Federation (Sanitary rules and norms SanPiN 3,2,569-96)]. Moscow, Information and publishing centre of the Ministry of Health, 1997. 168 p.
8. Rogov I. A., Adamenko V. Ya. *Sovremennyye metody i oborudovaniye dlya sverkhvysokochastotnoy obrabotki pishhevykh produktov v promyshlennosti (obzor)* [Modern methods and the equipment for ultra-high-frequency processing of foodstuff in the industries (Review)]. Moscow, Central Food Technological Research Institute, 1971. 54 p.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13278

Article history:

Received 02.06.2015

Accepted 02.09.2015

**ELABORATION OF NEW METHODS FOR DECONTAMINATION OF FISH
AND FISH PRODUCTS FROM METACERCARIAE OF *OPISTHORCHIS
FELINEUS* RIVOLTA, 1884**

Pelgunov A.N.

Center of Parasitology, Institute of Ecology and Evolution RAS,
119071, Moscow, Russia, 33 Leninsky prosp., e-mail: apelgunov@list.ru

Abstract

Objective of research: elaboration of effective and energy-efficiency methods for the decontamination of fishes of the larvae of *Opisthorchis* both in industrial and domestic environment.

Materials and methods: In the experiment we used orfes (nerflings) spontaneously infected with *Opisthorchis felineus* metacercariae. Vacuum treatment, electrodynamic shock vibration, ultrasonic irradiation, and microwave radiation were used for treatment of fish infected with opisthorchids. *O. felineus* metacercariae were identified by artificial digestion method. The viability of metacercariae was determined according to the preservation of morphological structure of metacercariae, their mobility, excystation of larvae using the trypsin-bile salt excystation method (experimental infestation of golden hamster and white outbred mice).

Results and discussion: It was determined that *O. felineus* metacercariae are resistant to vacuum, electrodynamic shock vibration and ultrasound mostly due to the structure of their capsule.

Even when using the microwave we can observe the total decontamination of fish of *Opisthorchis* metacercariae.

Keywords: opisthorchiasis, microwave radiation, vacuum, electrodynamic shock vibration, ultrasonic irradiation, fish.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)

Поступила в редакцию 01.07.2014
Принята в печать 19.04.2015

УДК 619:616.995.128.095
DOI:10.12737/13279

Биттиров А.М.¹, Бегиев С.Ж.¹, Биттирова А.А.¹, Кабардиев С.Ш.², Эльдарова Л.Х.², Мусаев З.Г.². Эмбриотропные свойства новой композиции фенбендазола и албендазола (панаверм плюс) // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 86–88.
Bittirov A.M., Begiev S.J., Bittirova A.A., Kabardiev S.Sh., Eldarova L.H., Musayev Z.G. Embryotropic properties of a new composition of fenbendazole and albendazole (Panaverm plus). Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 86–88.

ЭМБРИОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА НОВОЙ КОМПОЗИЦИИ ФЕНБЕНДАЗОЛА И АЛБЕНДАЗОЛА (ПАНАВЕРМ ПЛЮС)

А.М. Биттиров¹, С.Ж. Бегиев¹, А.А. Биттирова¹, С.Ш. Кабардиев², Л.Х. Эльдарова², З.Г. Мусаев²

¹ Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова, 360030, Россия, Кабардино-Балкарская республика, г. Нальчик, Ватутина, д. 9/68, e-mail: bat_58@mail.ru

² Прикаспийский зональный НИВИ, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, д. 88, e-mail: pznivi05@mail.ru

Реферат

Цель исследования — изучение эмбриотропных свойств препарата панаверм плюс на основе фенбендазола и альбендазола.

Материалы и методы. Исследования по изучению эмбриотропных свойств панаверма плюс проводили на 40 беспородных белых самках крыс массой 200–250 г согласно нормативно-методического документа «Методические рекомендации по оценке влияния препаратов на генеративную функцию животных», одобренного Минздравом РФ (1997).

Результаты и обсуждение. Панаверм плюс после назначения в дозах 10, 15, 25, 35 и 45 мг/кг массы тела (в 4,5 раза увеличенной дозе) не проявил эмбриотропную активность. Доза панаверма плюс 55 мг/кг массы тела не вызывала изменений в развитии эмбрионов, за исключением одного случая гидроцефалии и снижения массы эмбриона.

Ключевые слова: эмбриотропные свойства, фенбендазол, албендазол, панаверм плюс, эмбриотропность, токсичность, тератогенность, мутагенность.

Введение

Поиск и испытание новых антигельминтиков и их лекарственных форм отвечает интересам эффективной терапии и профилактики гельминтозов животных, которые наносят многомиллиардные убытки отраслям животноводства [1]. Поэтому, дегельминтизация остается наиболее эффективным методом борьбы с гельминтозами животных и человека, что диктует проведение комплексных работ по изучению не только эффективности антигельминтных препаратов, но и их биобезопасности, эмбриотропности, токсичности, тератогенности, мутагенности является применение антигельминтных препаратов [2].

Нами разработан новый препарат панаверм плюс на основе фенбендазола и альбендазола.

Цель настоящих исследований — изучение эмбриотропных свойств панаверма плюс.

Материалы и методы

Исследования по изучению эмбриотропных свойств препарата панаверм плюс проводили на 40 беспородных белых самках крыс массой 200–250 г согласно нормативно-методического документа «Методические рекомендации по оценке влияния препаратов на генеративную функцию животных», одобренного Минздравом РФ (1997).



Крыс разделили на 6 подопытных и 2 контрольных группы по 5 голов в каждой. Контрольным крысам панаверм плюс не применяли.

Панаверм плюс задавали в возрастающих дозах. Крысам 1, 2, 3, 4, 5 и 6-й групп назначали панаверм плюс орально в дозах по ДВ соответственно 10,0 мг/кг, 15, 25, 35, 45 и 55 мг/кг

Панаверм плюс назначали крысам 1 и 4-й групп на 1–7-е сутки беременности, 2 и 5-й групп — на 8–14-е, 3 и 6-й групп — на 15–19-е сутки беременности. За первые сутки беременности принимали день обнаружения спермиев во влагалище самок после подсадки самцов. Беременных самок крыс всех групп убивали на 20-е сутки беременности путем декантации.

Результаты подвергали статобработке по программе «Биометрия».

Результаты и обсуждение

Панаверм плюс при даче самкам крыс в дозах 10 мг/кг, 15, 25, 35, 45 и 55 мг/кг массы тела показал следующие результаты: предимплантационная гибель зигот соответственно $3,80 \pm 0,47$ %, $4,07 \pm 0,54$, $4,69 \pm 0,57$, $4,84 \pm 0,61$, $5,12 \pm 0,66$ и $5,37 \pm 0,70$ %. В контрольных группах постимплантационная гибель эмбрионов была равной $4,72 \pm 0,54$ и $4,97 \pm 0,65$ %.

При назначении панаверма плюс в испытанных дозах не выявлено случаев уродств и изменений внутренних органов при исследовании плодов. При визуальном осмотре и измерении плодов опытных и контрольной групп установлено отсутствие отрицательного действия препарата. Масса плодов составила $2,58 \pm 0,12$ – $2,60 \pm 0,14$ г в опытных и $2,59 \pm 0,13$ г в контрольной группах; масса плаценты — $0,57 \pm 0,06$ – $0,58 \pm 0,07$ и $0,58 \pm 0,06$ г соответственно; размер эмбрионов $3,10 \pm 0,08$ – $3,11 \pm 0,10$ и $3,10 \pm 0,11$ мм; число эмбрионов $10,3 \pm 0,41$ – $10,4 \pm 0,50$ и $10,5 \pm 0,42$ соответственно в опытных и контрольной группах.

Измерения размеров костной системы плодов показали, что длина трубчатых костей была почти одинаковой. Панаверм плюс в испытанных дозах при введении на 1–7, 8–14 и 15–19-е сутки беременности не проявил тератогенного и эмбриотоксического действия. При введении препарата в максимальной терапевтической дозе 15 мг/кг массы животного показатели эмбрионального развития плодов отличались от контроля незначительно.

Доза 55 мг/кг не вызывала изменений в развитии эмбрионов, за исключением одного случая гидроцефалии и снижения массы эмбрионов.

Масса эмбрионов самок крыс, получавших препарат в 5,5 раз увеличенной дозе, составила $2,44 \pm 0,11$ г против $2,57 \pm 0,10$ г в контроле при числе эмбрионов $9,9 \pm 0,52$ и $10,2 \pm 0,47$ экз.; не отмечено ни одного случая уродства.

Заключение

Панаверм плюс в дозах 10 мг/кг, 15, 25, 35 и 45 мг/кг массы тела (в 4,5 раза увеличенной дозе) не проявил эмбриотропную активность. Доза панаверма плюс 55 мг/кг не вызывала изменений в развитии эмбрионов, за исключением одного случая гидроцефалии и снижения массы эмбриона.

Литература

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р. У. Хабриева. — М., 2005. — 68 с.
2. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств // Ведомости Фармакологического Комитета. — 1998. — № 5. — С. 13–20.

References

1. Khabriev R. U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Handbook for experimental (pre-clinical) studies of new pharmacological compounds]. Moscow, 2005, 68 p.
2. Methodical recommendations for pre-clinical studies of reproductive toxicity of pharmacological preparations. *Vedomosti Farmakologicheskogo Komiteta* [Bulletin of Pharmacological Committee], 1998, no. 5, pp.13–20.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13279

Article history:

Received 01.07.2014

Accepted 19.04.2015

**EMBRYOTROPIC PROPERTIES OF A NEW COMPOSITION OF FENBENDAZOLE
AND ALBENDAZOLE (PANAVERM PLUS)**

Bittirov A.M.¹, Begiev S.J.¹, Bittirova A.A.¹, Kabardiev S.Sh.², Eldarova L.H.², Musayev Z.G.²

¹Kabardino-Balkaria State Agrarian University named after V.M. Kokov, 360030, Russia, Kabardino-Balkaria Republic, Nalchik, 9/68 Vatutin St., e-mail: bam_58@mail.ru

²Prikaspiisk Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, 88 Dahadaev St., e-mail: pznivi05@mail.ru

Abstract

The drug Panaverm plus administered at the doses of 10,0; 15,0; 25,0; 35,0 and 45,0 mg/kg body weight (by 4.5 times increased dose) showed no embryotropic activity. Panaverm plus used at the dose of 55,0 mg / kg body weight did not cause changes in the development of embryos, except one case of hydrocephaly and reduction of embryo weight.

Objective of research: studies of the embryotropic properties of preparation Panaverm plus.

Materials and methods: The studies of embryotropic properties of preparation Panaverm plus were conducted on 40 outbreed white female rats with weight 200-250 g. in accordance with «Methodical recommendations for estimation of drug effects on reproductive function of animals» approved by Ministry of Healthcare of the Russian Federation (1997).

Results and conclusion: Panaverm plus administered at the doses of 10,0; 15,0; 25,0; 35,0 and 45,0 mg/kg body weight (by 4.5 times increased dose) showed no embryotropic activity. Panaverm plus used at the dose of 55,0 mg / kg body weight did not cause changes in the development of embryos, except one case of hydrocephaly and reduction of embryo weight.

Keywords: embryotropic properties, new composition, fenbendazole, albendazole, Panaverm plus, biosafety, embryotropic properties, toxicity, teratogenicity, mutagenicity.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 05.05.2015
Принята в печать 07.09.2015

УДК 616:619.995.132
DOI:10.12737/13280

Семенова М.В., Курочкина К.Г. Изучение иммунотоксических свойств аверсекта форте и аверсекта комби // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 89–93.
Semenova M.V., Kurochkina K.G. The study of immunotoxic properties of Aversect Forte and Aversect Combi. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 89–93.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АВЕРСЕКТА ФОРТЕ И АВЕРСЕКТА КОМБИ

М.В. Семенова, К.Г. Курочкина

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28, e-mail: kurochkina@vniigis.ru

Реферат

Цель исследования — определение возможных иммунотоксических свойств аверсекта форте (ивермектин + абамектин) и аверсекта комби (ивермектин + аверсектин С).

Материалы и методы. Изучение иммунотоксических свойств аверсекта форте и аверсекта комби проводили с применением реакции агглютинации и гиперчувствительности замедленного типа. Препарат для исследования вводили мышам двукратно подкожно в терапевтической дозе 0,05 мл/гол. В каждой опытной группе было по 7–10 мышей линии СВА × С57BL/6 массой 18–20 г. Животным контрольных групп вводили растворитель. Влияние препаратов на антителообразование определяли в реакции гемагглютинации на фоне иммунизации мышей эритроцитами барана (ЭБ). Титры агглютининов определяли в микроварианте прямой реакции гемагглютинации с вычислением индекса реакции. Влияние препаратов на Т-клеточный иммунитет *in vivo* оценивали у мышей по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к ЭБ. Одновременно с последним введением тестируемого препарата мышам внутрибрюшинно иммунизировали 3%-ной взвесью ЭБ.

Результаты и обсуждение. Введение испытуемых препаратов не оказало угнетающего влияния на антителогенез у мышей опытных групп — $7,7 \pm 0,21$ и $7,4 \pm 0,22$ (\log_2) по сравнению с контролем — $8,0 \pm 0,0$ (\log_2), индекс реакции составил соответственно 0,96–0,93. Введение аверсекта форте несколько тормозит индукцию ГЗТ в организме мышей по сравнению с контролем: $7,10 \pm 0,57$ и $10,71 \pm 1,95$ % соответственно. Однако при введении аверсекта комби в терапевтической дозе хотя и происходит некоторое снижение индекса воспаления до $9,07 \pm 2,51$ %, но относительно показателя контрольной группы эта разница статистически недостоверна.

Ключевые слова: аверсект форте, аверсект комби, иммунотоксичность, реакция гиперчувствительности замедленного типа, антителообразование, реакция гемагглютинации.

Введение

Под иммунотропной активностью фармакологических средств понимают «побочные» нарушения, возникающие в структуре и функции иммунной системы при их применении. Поэтому, изучению этих вопросов придается особое значение, и такого рода исследования являются частью общей программы токсикологических исследований всех новых лекарственных средств [4].

Обязательно тестированию на иммунотоксичность должны подвергаться новые фармакологические средства, а также известные лекарственные средства, но по которым отсутствуют данные об изучении влияния на иммунную систему. Основная задача доклиниче-

ского контроля иммунотоксичности потенциальных лекарственных средств состоит в том, чтобы в экспериментах на лабораторных животных доказать или исключить возможность нежелательных реакций иммунной системы, вызванных новыми препаратами или их метаболитами [1].

Для доклинического изучения иммунотоксических параметров у новых лекарственных средств обычно используют антигены различной природы, реакцию на которые лекарственное средство может изменять. Нативные эритроциты барана (ЭБ) являются тимусзависимым антигеном неинфекционной природы, который обычно используют в иммунологических исследованиях [2].

Как правило, изучают возможное влияние нового лекарственного средства на гуморальный и клеточный иммунитет. Исследуемый препарат может оказывать либо негативное воздействие — уменьшение числа антителообразующих клеток или титров агглютининов в крови, может быть индифферентным, а может проявлять и стимулирующий эффект.

О состоянии клеточного иммунитета животных после введения фармакологических препаратов можно судить по способности их влиять на индукцию реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к ЭБ.

Воспроизведение реакции ГЗТ дает представление о функциональной активности лимфоцитов Т-ряда, т. е. подразумевается влияние на клеточный иммунный ответ. Предварительное введение мышам эритроцитов барана вызывает образование антигенспецифических Т-лимфоцитов. При разрешающем введении этого антигена стимулированные Т-лимфоциты специфически взаимодействуют с ними и выделяют ряд цитокинов [3].

Интенсивность синтеза и секреции лимфоцитами факторов клеточного иммунитета соответствует степени выраженности воспалительной реакции в месте введения разрешающей дозы антигена (ЭБ) и характеризует активность популяции иммунокомпетентных клеток, ответственных за проявление реакции ГЗТ. Препарат может влиять на цифровые показатели этой реакции в ту или иную сторону в зависимости от своих свойств.

Целью наших исследований было определение возможных иммунотоксических свойств аверсекта форте (ивермектин + абамектин) и аверсекта комби (ивермектин + аверсектин С).

Материалы и методы

Изучение иммунотоксических свойств аверсекта форте (ивермектин + абамектин) и аверсекта комби (ивермектин + аверсектин С) проводили с применением реакции агглютинации и ГЗТ. Препарат для исследования вводили двукратно подкожно в терапевтической дозе (для мышей 0,0004 мл/20 г) в объеме 0,05 мл/гол. Введение испытуемых препаратов в десятикратной дозе приводило к гибели животных.

В каждой опытной группе было по 7–10 мышей линии СВА × С57BL/6 массой 18–20 г. Животным контрольных групп вводили растворитель в том же объеме.

При определении иммунотропных свойств комплексного препарата пользовались «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ» (2005).

Определение уровня агглютининов. Влияние препарата на антителообразование определяли в реакции гемагглютинации на фоне иммунизации мышей ЭБ. Титры агглютининов определяли в микроварианте с использованием микротитратора прямой реакции гемагглютинации с вычислением индекса реакции (ИР) = $\text{опыт}/\text{контроль}$. При последнем введении препарата одновременно мышей иммунизировали внутрибрюшинно 3%-ной взвесью ЭБ в объеме 0,5 мл/гол. Определяли изменение титров антител (\log_2) в сыворотке крови мышей на введение препаратов.

Критерием оценки реакции было изменение концентрации антител по сравнению с контролем. Если ИР = 0,5 и ниже, то препарат угнетает антителогенез, выше 1,3 — обладает стимулирующим эффектом.

Реакция ГЗТ. Влияние на Т-клеточный иммунитет *in vivo* оценивают у мышей по реакции ГЗТ к ЭБ. Одновременно с последним введением тестируемого препарата мышам внутрибрюшинно иммунизировали 3%-ной взвесью ЭБ (0,5 мл/гол.). На 5-е сутки вводили разрешающую дозу ЭБ — 10%-ную взвесь в объеме 0,02 мл в подушечки правых лап; в контрольную лапу вводили 0,9%-ный раствор NaCl в таком же объеме. По изменению



массы лап через 24 ч определяли сдвиг индекса воспаления (ИВ), который вычисляли по формуле:

$$\text{ИВ} = \frac{M \text{ опыт.} - M \text{ контр.}}{M \text{ контр.}} \times 100 \%,$$

где M опыт. — масса опытной лапы, мг; M контр. — масса контрольной лапы, мг.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «Student 200».

Результаты и обсуждение

Реакция прямой гемагглютинации основана на способности агглютининов, содержащихся в сыворотке крови иммунизированных ЭБ животных, «склеивать» ЭБ, используемые для иммунизации. Через 8 сут после иммунизации (7–10 сут — пик выработки антител) у опытных и контрольных животных отбирали пробы крови, готовили сыворотку и тестировали ее в реакции гемагглютинации, используя 1,5%-ную взвесь ЭБ.

Результаты опыта приведены в таблице 1.

Таблица 1

Оценка влияния аверсекта форте и аверсекта комби на выработку агглютининов в крови мышей (n = 10)

Препарат	Доза, мл	Титр антител (\log_2)	ИР, О/К
Аверсект форте	0,05	7,7±0,21 t = 1,33	0,96
Аверсект комби	0,05	7,4±0,22 t = 2,57	0,93
Контроль	ЭБ	8,0±0,0	—

Как следует из данных, приведенных в таблице, введение испытуемых препаратов в терапевтической дозе не оказывало угнетающего влияния на антителогенез, что выражалось в статистически недостоверном снижении титров антител (агглютининов) у мышей опытных групп до 7,7±0,21 и 7,4±0,22 (\log_2) по сравнению с контролем — 8,0±0,0 (\log_2), и индекс реакции составил соответственно 0,96–0,93.

Изучение действия лекарственных препаратов на клеточное звено иммунного ответа предполагает использование модельных систем, дающих представление о функциональной активности лимфоцитов Т-ряда. К таким тестам и относится реакция ГЗТ. Сенсибилизация организма белковыми антигенами ЭБ вызывает образование антигенспецифических Т-лимфоцитов. При повторном введении ЭБ (разрешающее введение) на месте введения развивается воспалительная реакция, интенсивность которой можно оценить [4].

Результаты исследования, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о том, что введение аверсекта форте в терапевтической дозе несколько тормозит индукцию ГЗТ в организме мышей по сравнению с контрольной группой животных — 7,10±0,57 и 10,71±1,95 % соответственно. При введении аверсекта комби в терапевтической дозе, хотя и происходит некоторое снижение ИВ до 9,07±2,51 %, но относительно показателя контрольной группы эта разница статистически недостоверна.

Таблица 2

Результаты реакции ГЗТ при введении аверсекта форте и аверсекта комби мышам (n = 7)

Препарат	Доза, мл	ИВ, %
Аверсект форте	0,05	7,10±0,57 t = 1,64
Аверсект комби	0,05	9,07±2,51 t = 0,48
Контроль	ЭБ	10,71±1,95

Заключение

Таким образом, аверсект комби и аверсект форте при введении мышам в терапевтической дозе не оказывают угнетающего действия на антителогенез. Титры агглютининов в крови опытных животных находятся практически на уровне контрольных животных — 0,93–0,96.

Введение аверсекта форте в терапевтической дозе тормозит выраженность воспалительной реакции ГЗТ на ЭБ, снижая ИВ до $7,10 \pm 0,57$ % по сравнению с показателями контрольных животных — $10,71 \pm 1,95$ %, что может свидетельствовать об угнетающем действии на клеточный иммунный ответ. Аверсект комби не оказывает отрицательного действия на формирование клеточного иммунного ответа. ИВ равен $9,07 \pm 2,51$ %.

Литература

1. Астафьев Б. А., Яроцкий Л. С., Лебедева М. Н. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. — М.: Наука, 1989. — С. 229–239.
2. Петров Р. В., Череев А. И. Т- и В-лимфоциты // Успехи современной биологии. — 1974. — Т. 77, № 1. — С. 90–105.
3. Ройт И. Основы иммунологии. — М.: Мир, 1991. — С. 281–285.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ. — М., 2005.

References

1. Astaf'ev B. A., Yarotskiy L. S., Lebedeva M. N. Eksperimental'nye modeli parazitov v biologii i meditsine [Experimental models of parasitic diseases in biology and medicine]. Moscow, Nauka, 1989, pp. 229–239.
2. Petrov R. V., Chereedev A. I. T- and B- lymphocytes. *Uspehi sovremennoy biologii*. [Advances in modern biology], 1974, vol. 77, no. 1, pp. 90–105.
3. Royt I. *Osnovy immunologii* [Fundamentals of immunology]. Moscow, Mir, 1991, pp. 281–285.
4. *Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju farmakologicheskikh veshhestv* [Textbook for experimental (pre-clinical) studies of pharmacological compounds], Moscow, 2005.

Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13280

Article history:

Received 05.05.2015

Accepted 07.09.2015

THE STUDY OF IMMUNOTOXIC PROPERTIES OF AVERSECT FORTE AND AVERSECT COMBI

Semenova M.V., Kurochkina K.G.

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St., e-mail: kurochkina@vniigis.ru

Abstract

Objective of research: Determination of possible immunotoxic properties of Aversect Forte (Ivermectin + Abamectin) and Aversect Combi (Ivermectin + Aversectin C).

Materials and methods: The immunotoxic properties of Aversect Forte and Aversect Combi were studied using the agglutination test and delayed hypersensitivity response.

Mice were injected subcutaneously twice daily with the drug at a therapeutic dose 0,05 ml/ind. In each experimental group, there were 7–10 mice of the line CBA × C57BL/6 with the mass of 18–20 g. The control group received solvent injections.

The effect of the drugs on antibody formation was determined by hemagglutination reaction on the background of immunization of mice with sheep erythrocytes. Agglutinin titres were detected



by a direct micro-hemagglutination test along with the calculation of Reaction Index.

The effect of drugs on the T-cell immunity *in vivo* was estimated using the delayed-type hypersensitivity reactions to sheep erythrocytes.

Mice were immunized with the 3% suspension of sheep erythrocytes injected into the abdomen simultaneously with the recent injection of the tested drug.

Results and discussion: The administration of tested drugs didn't have a suppressive effect on serogenesis in mice from experimental groups — $7,7 \pm 0,21$ and $7,4 \pm 0,22$ (log2) in comparison to the controls — $8,0 \pm 0,0$ (log2); Reaction Index was $0,96-0,93$, respectively.

The administration of Aversect Forte may cause a slight decrease in induction of delayed-type hypersensitivity reactions in mice in comparison with the controls: $7,10 \pm 0,57$ and $10,71 \pm 1,95$ %, respectively.

Regardless of slight decrease in inflammation index (up to $9,07 \pm 2,51$ %), when using Aversect Combi at the therapeutic dose, this difference is uncertain statistically in relation to the control values.

Keywords: Aversect Forte, Aversect Combi, immunotoxicity, delayed-type hypersensitivity reaction, antibody formation, hemagglutination reaction.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Поступила в редакцию 12.03.2015
Принята в печать 07.09.2015

УДК 619:616.995.121
DOI:10.12737/13281

Ястреб В.Б., Новик Т.С., Дриняев В.А., Чукина С.И., Авчук С.В., Тер–Симонян В.Г., Литвин А.А. Фармакокинетика аверсектина C_1 и празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения препарата авертель // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 94–101.

Yastreba V.B., Novik T.S., Drinyaev V.A., Chukina S.I., Avchuk S.V., Ter–Simonyan V.G., Litvin A.A. Pharmacokinetics of Aversectin C_1 and Praziquantel in dog blood after a single subcutaneous injection of Avertel. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 94–101.

ФАРМАКОКИНЕТИКА АВЕРСЕКТИНА C_1 И ПРАЗИКВАНТЕЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ СОБАК ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ПОДКОЖНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА АВЕРТЕЛЬ

В.Б. Ястреб¹, Т.С. Новик^{1, 2}, В.А. Дриняев^{1, 2}, С.И. Чукина^{1, 2}, С.В. Авчук², В.Г. Тер–Симонян², А.А. Литвин³

¹ *Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: yastreba@vniigis.ru*

² *ООО НБЦ «Фармбиомед»*

³ *Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова*

Реферат

Цель исследования — изучение фармакокинетики аверсектина C_1 и празиквантела в плазме крови собак после однократного применения авертеля.

Материалы и методы. Опыт проводили на 3 собаках, которым подкожно в области шеи вводили авертель в терапевтической дозе 0,5 мг/кг по аверсектину C_1 и 5 мг/кг по празиквантелу. Через 0; 0,5; 1; 2; 3; 6; 9; 12; 24; 36; 48 и 72 ч из вены предплечья отбирали кровь в пробирки с гепарином. Анализ проб плазмы крови собак на содержание аверсектина C_1 по сумме авермектинов V_{1a} и V_{2a} проводили методом жидкостной хроматографии высокого давления с флуоресцентным детектированием; чувствительность метода составляет 0,001 мг/л. Празиквантел определяли этим методом с ультрафиолетовым детектированием. Для расчетов фармакокинетических параметров применяли модельно-независимый метод с использованием программы «M-IND», позволяющей проводить первичную обработку данных «концентрация лекарственного вещества — время» и рассчитывать системные параметры лекарственного вещества методом статистических моментов.

Результаты и обсуждение. Аверсектин C_1 обнаруживали в плазме крови через 0,5 ч после введения авертеля. В последующее время концентрация его возрастала и на 24-й час отмечали максимальный уровень препарата, а затем его содержание снижалось. Аверсектин C_1 находили в крови собак и через 72 ч после введения авертеля. Празиквантел обнаружен через 0,5 ч после введения, а через 1 ч отмечали максимальную его концентрацию. Через 72 ч препарат не находили в крови собак. Максимальная концентрация аверсектина C_1 в плазме крови составила 13,4 нг/мл и выделяется он в 12 раз медленнее, чем празиквантел. Период полувыведения аверсектина C_1 составил 100,1 ч, а среднее пребывание в организме — 153,08 ч.

Ключевые слова: авертель, фармакокинетика, аверсектин C_1 , празиквантел, собаки, жидкостная хроматография высокого давления.

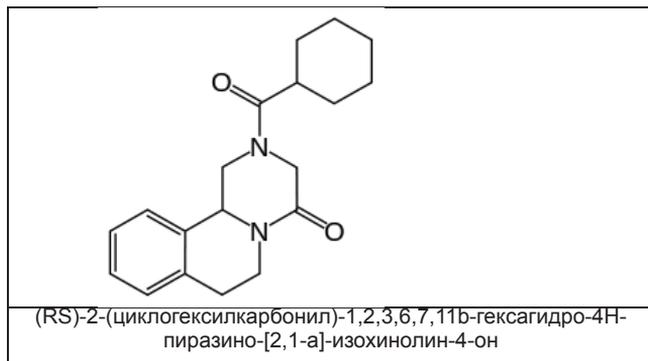
Введение

В предыдущие годы нами разработан комплексный противопаразитарный препарат авертель на основе аверсектина C_1 и празиквантела. Препарат испытан при паразитозах собак и кошек и проявил высокую эффективность и хорошую переносимость в терапевтической и трехкратно повышенной дозах [1–4].

Авертель представляет собой инъекционный раствор широкого спектра действия для лечения паразитозов у собак и кошек. В качестве действующих веществ содержит аверсектин C_1 (в 1 мл 5 мг) и празиквантел (в 1 мл 50 мг).

Аверсектин C_1 представляет смесь авермектинов B_1 , B_2 , A_1 и A_2 в определенном соотношении.

Структурная формула празиквантела приведена ниже.



Целью настоящих исследований было определение фармакокинетических параметров аверсектина C_1 (фракций B_{1a} и B_{2a}) и празиквантела после подкожного введения авертеля в плазме крови собак.

Материалы и методы

Исследования проводили на трех беспородных собаках массой 22–30 кг из приюта «Эко» (Москва). Содержание собак было групповым. Температура в помещении равнялась $20 \pm 2^\circ\text{C}$; влажность воздуха составляла $65 \pm 5\%$; животных содержали при 9-часовом освещении. Собак кормили сухим кормом. Потребление воды не ограничивали. Собак не подвергали обработке другими лекарственными препаратами.

Собакам подкожно в области шеи однократно вводили авертель в терапевтической дозе из расчета 0,1 мл/кг массы тела (0,5 мг/кг по аверсектину C_1 и 5 мг/кг по празиквантелу).

Через 0; 0,5; 1; 2; 3; 6; 9; 12; 24; 36; 48 и 72 ч из вены предплечья отбирали кровь в пробирки с гепарином. Образцы крови центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин. Отделяли плазму крови и переносили в пластиковые пробирки; до анализа пробы плазму крови хранили при -20°C .

Анализ проб плазмы крови собак на содержание аверсектина C_1 по сумме авермектинов B_{1a} и B_{2a} проводили ранее разработанным методом жидкостной хроматографии высокого давления с флуоресцентным детектированием; чувствительность метода составляет 0,001 мг/л. Празиквантел определяли методом на основе ВЭЖХ с УФ-детектированием.

Для расчетов фармакокинетических параметров применяли модельно-независимый метод с использованием программы «M-IND», позволяющей проводить первичную обработку данных «концентрация лекарственного вещества — время» в биожидкостях при различных способах введения и рассчитывать системные параметры лекарственного вещества методом статистических моментов.

В основе модельно-независимого метода статистических моментов лежит оценка площади под концентрационной кривой лекарственного вещества в плазме крови — AUC (Area Under Curve), площади под кривой «произведение времени на концентрацию — время» — AUMC (Area Under Multiplication Curve).

Расчет фармакокинетических параметров начинается с определения наклона терминального (линейного в полулогарифмической системе координат) участка концентрационной кривой и программа вычисляет константу скорости элиминации (k_{el}) и отвечающий ей период полувыведения лекарственного вещества ($t_{1/2el}$).

Среднее время удержания препарата в плазме крови (MRT; mean residence time) вычисляют по формуле:

$$MRT = AUMC/AUC$$

Общий клиренс (CL), определяющий способность организма к элиминации ЛВ, вычисляют следующим образом:

$$CL = \frac{D}{AUC},$$

где D — доза лекарственного вещества.

Кажущийся объем распределения (V_d), характеризующий в обобщенном виде способность лекарственных веществ к распределению в организме, вычисляют для внесосудистого (подкожного) введения по формуле:

$$CL = V_d \times k_{el}; V_d = CL/k_{el},$$

где k_{el} — константа скорости элиминации.

Полученные экспериментальные данные предварительно были подвергнуты математической статистической обработке с помощью программы «Origin v.7.0» в соответствии с требованиями. В таблицах, где приведены концентрации аверсектина C_1 и празиквантела в плазме крови, приведены средние арифметические значения (\bar{x}), соответствующие им стандартные отклонения (SD), коэффициент вариации (C.V.%). В таблицах, где приведены фармакокинетические параметры, представлены те же статистические характеристики выборки.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены концентрации аверсектина C_1 в плазме крови собак после однократного подкожного введения авертеля в дозе 0,5 мг/кг, а на рисунке 1 — усредненный фармакокинетический профиль аверсектина C_1 . Аверсектин C_1 обнаруживали уже через 0,5 ч после введения авертеля; в последующие периоды концентрация аверсектина C_1 постепенно возрастала. Через 24 ч отмечали максимальный уровень препарата; затем содержание аверсектина C_1 в плазме крови снижалось. Аверсектин C_1 находили в крови собак и через 72 ч после введения (рис. 1, 3).

Препарат авертель — комбинированный. Вторым его активным компонентом является празиквантел. Празиквантел также был обнаружен через 0,5 ч после введения, причем в последующий срок исследований, т. е. спустя 1 ч отмечали максимальную концентрацию в плазме крови (табл. 2). Празиквантел выявляли в плазме крови экспериментальных животных на протяжении 48 ч наблюдений и через 72 ч препарат не был обнаружен в плазме крови собак (рис. 2, 4).

Однако для более точного представления о фармакокинетике аверсектина C_1 и празиквантела были рассчитаны фармакокинетические параметры обоих активных веществ в плазме крови собак после подкожного введения авертеля.

В таблицах 3 и 4 приведены результаты фармакокинетического анализа аверсектина C_1 и празиквантела. Концентрации препарата определялись на протяжении 72 ч эксперимента. Максимальная концентрация аверсектина C_1 в плазме крови собак, в среднем, составила $13,42 \pm 0,62$ нг/мл. При этом время ее наступления равнялось 24,0 ч (у всех собак в опыте). По сравнению с празиквантелом аверсектин C_1 в 12 раз медленнее выводится из организма животных. Так, период полувыведения аверсектина C_1 колебался от 69,25 до 156,99 ч (в среднем, $100,16 \pm 49,28$ ч), а среднее время пребывания в организме составило $153,08 \pm 70,49$ ч ($109,13 - 234,38$ ч). Аверсектин C_1 в значительно меньшей степени связывается с белками крови по сравнению с празиквантелом. Среднее значение кажущегося объ-



ема распределения составило $101,37 \pm 51,82$ л/кг. Кажущийся объем распределения обычно не эквивалентен анатомическому объему, а отражает распределение препарата и степень его связывания в организме. Так, если препарат связывается преимущественно белками крови, то V_d будет меньше, чем действительный. С другой стороны, преимущественное связывание препарата во внесосудистом пространстве (как в нашем случае) приводит к превышению значения кажущегося объема распределения над реальным объемом. Исходя из того, что расчет V_d предполагает одинаковую концентрацию препарата по всему объему его распределения, величины V_d , превышающие общий объем жидкости, могут получаться в результате накопления в каком-либо участке тканей.

Из результатов таблицы 4 следует, что экстраполированная часть фармакокинетической кривой ($AUC_{t-\infty}$), т. е. часть кривой от последнего определения концентрации до бесконечности в суммарную величину площади под фармакокинетической кривой ($AUC_{0-\infty}$) значительного вклада не вносит. Эта величина, в среднем, составила $3,88 \pm 3,24$ %. Поэтому все последующие расчеты проведены с учетом экстраполированной части.

Установлено, что празиквантел быстрее всасывается из места введения в системный кровоток животных по сравнению с аверсектином C_{11} , поскольку время наступления максимальной концентрации празиквантела ($4,91 \pm 1,41$ мкг/мл) для данной выборки животных при таком способе введения составило более 8 ч (в среднем, $8,33 \pm 6,35$). Следует отметить, что у собаки № 2 наступление C_{max} зафиксировано через 1 ч после введения препарата.

Для празиквантела характерна медленная элиминация, т. к. период полувыведения, в среднем, составляет $7,99 \pm 2,08$ ч. Параметр, характеризующий длительность пребывания лекарственного вещества в организме — MRT составил, в среднем, $14,96 \pm 2,17$ ч. Учитывая подкожный путь введения авертеля, полученные данные позволяют отнести празиквантел к длительно живущим лекарственным ветеринарным средствам. Об этом косвенно свидетельствует средняя величина клиренса, равная $0,141 \pm 0,077$ л/ч/кг. При этом средняя величина кажущегося объема распределения (V_d) — $1,78 \pm 1,44$ л/кг говорит о том, что препарат распределяется во всех жидких средах организма и к его дозированию следует относиться с осторожностью, чтобы не вызвать его передозировки, обусловленной депонированием данного лекарственного вещества.

Таким образом, по величинам периода полувыведения и среднего времени удерживания в организме животных авертель относится к «долгоживущим» ветеринарным лекарственным средствам.

Литература

1. Новик Т. С., Ястреб В. Б., Чукина С. И. Переносимость препарата авертель в условиях субхронического опыта // Рос. паразитол. журнал. — 2015, № 2. — С. 104–112
2. Ястреб В. Б., Новик Т. С., Валиева Ж. М. Эффективность аверсекта плюс при цестодозах и нематодозах собак и кошек // Рос. паразитол. журнал. — 2012, № 3. — С. 121–124.
3. Ястреб В. Б. Эффективность аверсекта плюс против эктопаразитов у собак и кошек // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». — М., 2013. — С. 447–449.
4. Ястреб В. Б., Новик Т. С. Оценка противопаразитарной эффективности авертеля против эндо- и эктопаразитов у собак и кошек // Рос. паразитол. журнал. — 2014, № 4. — С. 105–113.

References

1. Novik T. S., Yastreb V. B., Chukina S. I. Avertel tolerance in dogs tested under subchronic conditions. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2015, no. 2, pp. 104–112.
2. Yastreb V. B., Novik T. S., Valieva Zh. M. Efficacy of preparation Aversekt Plus for cestodosis and nematodosis in dogs and cats. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2012, no. 3, pp. 121–124.
3. Yastreb V. B. Efficacy of Aversekt Plus applied against ectoparasites in dogs and cats. *Mater. dokl. nauch. konf. Vseros. o-va gel'mintol. RAN «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»* [Proceedings of scientific conference of All Russian Society of Helminthologists RAS «Theory and practice of struggle against parasitic diseases»]. Moscow, 2013, pp. 447–449.
4. Yastreb V. B., Novik T. S. Evaluation of antiparasitic efficacy of Avertel applied against endo- and ectoparasites in dogs and cats. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2014, no. 4, pp. 105–113.



Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13281

Article history:

Received 12.03.2015

Accepted 07.09.2015

PHARMACOKINETICS OF AVERSECTIN C₁ AND PRAZIQUANTEL IN DOG BLOOD AFTER A SINGLE SUBCUTANEOUS INJECTION OF AVERTEL

Yastreb V.B.¹, Novik T.S.^{1, 2}, Drinyaev V.A.^{1, 2}, Chukina S.I.^{1, 2}, Avchuk S.V.², Ter-Simonyan V.G.², Litvin A.A.³

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St., e-mail: yastreb@vniigis.ru

² Biological Science Center «Pharmbiomed Ltd.»

³ Scientific Research Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusov

Abstract

Objective of research: study of pharmacokinetics of Aversectin C₁ and Praziquantel in blood plasma of dogs after a single subcutaneous injection of Avertel.

Materials and methods: experiments were conducted on 3 dogs which received Avertel shots in the neck area at a therapeutic dose 0,5 mg/kg of Aversectin C₁ and 5 mg/kg of Praziquantel.

Blood was collected from the forearm vein into heparin test-tubes at 0; 0,5; 1; 2; 3; 6; 9; 12; 24; 36; 48 and 72 hr.

Analysis of dog blood for Aversectin C₁ (according to the total Avermectins B1 and B2a) was performed by the method of high-performance liquid chromatography with fluorescence detection; the sensitivity of the method was 0,001 mg/l. Praziquantel was identified by the same method using the ultraviolet detection. For evaluation of the pharmacokinetic properties, the model-independent analysis «M-IND» was applied which enables to perform the primary processing of data «drug concentration — time» and calculate the system parameters of drugs by the method of moments.

Results and discussion: Aversectin C₁ was detected in blood 0,5hr after Avertel injection.

Further, the drug concentration in blood has increased; at 24th hour, the highest level of drug was determined; then the drug concentration went down. Aversectine C₁ was also found in dog blood 72 hours after the Avertel injection. Praziquantel was identified 0,5hr after its injection, and 1hr later its highest concentration has been registered. 72 hours later the drug wasn't found in dog blood. The highest concentration of Aversectin C₁ in blood was 13,4 ng/ml, and it was being eliminated 12 times slower than Praziquantel. The elimination half-life of Aversectin C₁ was 100,1 hrs. and the average residence time of the drug in the body -153,08 hrs.

Keywords: Avertel, pharmacokinetics, Aversectin C₁, Praziquantel, dogs, high-performance liquid chromatography.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Таблица 1

Концентрации аверсектина С₁ в плазме крови собак после однократного подкожного введения авертелы
(доза аверсектина С₁ 0,5 мг/кг)

Показатель	Время после введения авертелы, ч											
	0	0,5	1	2	3	6	9	12	24	36	48	72
Концентрация аверсектина С ₁ , нг/мл	0	1,64	5,24	6,66	5,64	4,64	7,31	10,63	12,92	12,36	11,55	10,49
	0	2,18	4,29	8,25	5,85	4,06	8,1	12,54	14,12	12,88	10,65	9,14
	0	1,61	3,94	4,53	6	6	4,16	5,75	9,56	13,22	11,14	10,38
	0,00	1,81	4,49	6,48	5,83	4,29	7,05	10,91	13,42	12,13	10,86	9,22
SD	0,00	0,32	0,67	1,87	0,18	0,31	1,20	1,51	0,62	0,89	0,61	1,23
CV%	0,00	17,72	14,98	28,80	3,10	7,23	16,95	13,84	4,65	7,37	5,64	13,30

Таблица 2

Концентрации празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения авертелы
(доза празиквантела 5,0 мг/кг)

Показатель	Время после введения авертелы, ч											
	0	0,5	1	2	3	6	9	12	24	36	48	72
Концентрация празиквантела, мкг/мл	0	0,08	0,58	0,54	0,56	0,51	0,27	6,26	0,12	0,10	0,09	0
	0	0,32	3,44	0,27	0,27	0,35	0,23	0,16	1,52	0,14	0,12	0,11
	0	1,65	0,93	0,61	0,61	0,69	0,28	0,18	5,02	0,19	0,13	0,12
	0,000	0,683	1,650	0,473	0,533	0,340	0,203	4,267	0,150	0,117	0,107	0,000
SD	0,000	0,846	1,560	0,180	0,172	0,149	0,059	2,458	0,036	0,015	0,015	0,000
CV%	0,00	123,76	94,55	37,93	32,17	43,92	28,82	57,61	24,04	13,09	14,32	0,00

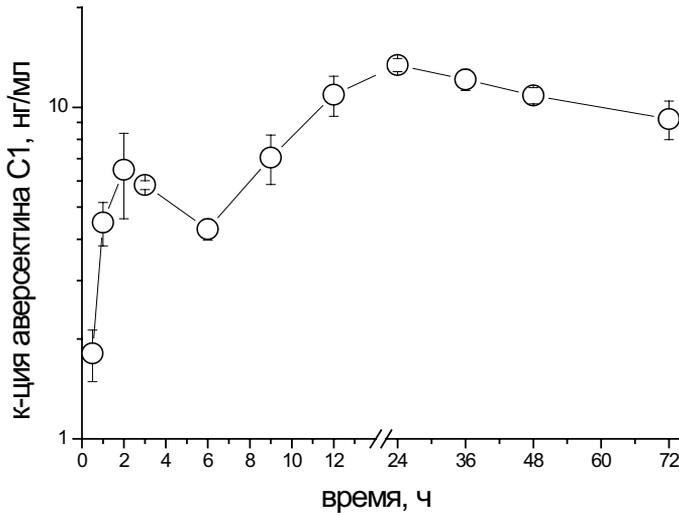


Рис. 1. Усредненный фармакокинетический профиль аверсектина C₁ в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертеля в дозе 0,5 мг/кг

(n = 3; $-x \pm SD-x \pm SD$)

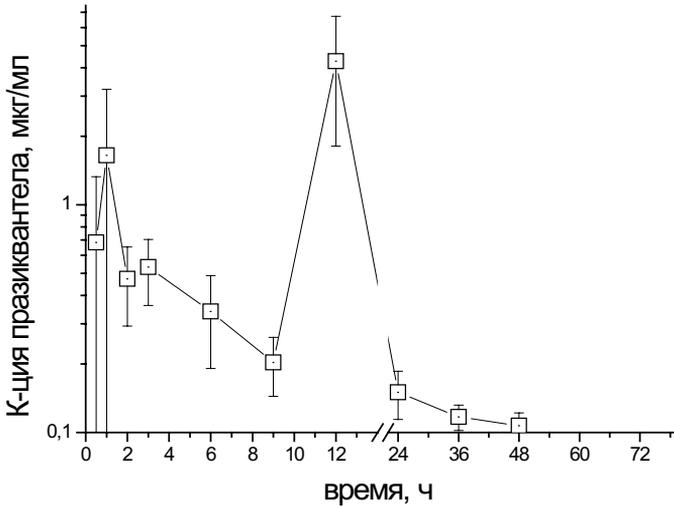


Рис. 2. Усредненный фармакокинетический профиль празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертеля в дозе 5,0 мг/кг

(n = 3; $-x \pm SD-x \pm SD$)



Таблица 3

Фармакокинетические параметры аверсектина С₁ в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертелы (доза аверсектина С₁ 0,5 мг/кг)

№ животного	Параметры									
	AUC ₀₋₁ (нг/мл×ч)	AUC _{0-∞} (нг/мл×ч)	Вклад экстра- полированной части (%)	T _{max} (ч)	C _{max} (нг/мл)	Cl _{po} (л/ч/кг)	k _{el} (ч ⁻¹)	t _{1/2el} (ч)	MRT (ч)	V _d (л/кг)
1	775,41	3151,34	75,39	24	12,92	0,645	0,004	156,99	234,38	161,206
2	780,17	1759,29	55,65	24	14,12	0,641	0,009	74,253	115,72	71,210
3	697,36	1500,60	53,53	24	13,22	0,717	0,01	69,249	109,13	71,699
	750,98	2137,07	61,53	24,0	13,42	0,668	0,008	100,16	153,08	101,372
SD	46,50	887,85	12,06	0,0	0,62	0,043	0,003	49,276	70,49	51,819
CV%	6,19	41,55	19,60	0,00	4,65	6,42	41,93	49,20	46,05	51,12

Таблица 4

Фармакокинетические параметры празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертелы (доза празиквантела 5,0 мг/кг)

№ животного	Параметры									
	AUC ₀₋₁ (нг/мл×ч)	AUC _{0-∞} (нг/мл×ч)	Вклад экстра- полированной части (%)	T _{max} (ч)	C _{max} (нг/мл)	Cl _{po} (л/ч/кг)	k _{el} (ч ⁻¹)	t _{1/2el} (ч)	MRT (ч)	V _d (л/кг)
1	54,61	55,44	1,51	12,0	6,26	0,090	0,108	6,44	13,28	0,835
2	20,06	21,70	7,57	1,0	3,44	0,230	0,067	10,36	17,41	3,439
3	47,10	48,35	2,57	12,0	5,02	0,103	0,097	7,18	14,19	1,066
	40,59	41,83	3,88	8,33	4,91	0,141	0,091	7,99	14,96	1,780
SD	18,17	17,79	3,24	6,35	1,41	0,077	0,021	2,08	2,17	1,441
CV%	44,77	42,52	83,34	76,21	28,81	54,77	23,41	26,00	14,49	80,96



Поступила в редакцию 13.04.2015
Принята в печать 02.09.2015

УДК 634.8
DOI:10.12737/13267

Мигунова В.Д., Рябченко Н.Ф. Влияние антагонистических бактерий *Serratia plymuthica* и *Bacillus subtilis* на развитие ризоктониоза на растениях салата // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 102–105.

Migunova V.D., Ryabchenko N.F. The influence of antagonistic bacteria *Serratia plymuthica* and *Bacillus subtilis* on affection of salad plants by *Rhizoctonia solani*. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 102–105.

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *SERRATIA PLYMUTHICA* И *BACILLUS SUBTILIS* НА РАЗВИТИЕ РИЗОКТОНИОЗА НА РАСТЕНИЯХ САЛАТА

В.Д. Мигунова, Н.Ф. Рябченко

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К. И. Скрабина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: migunova@vniigis.ru

Реферат

Цель исследования — анализ фунгицидного действия комплекса бактерий *Serratia plymuthica* и *Bacillus subtilis* по отношению к паразитическому грибу *Rhizoctonia solani* на растениях салата.

Материалы и методы. Опыт проводили в пластиковых кюветах с грунтом на растениях салата. В каждой кювете выращивали по 12 растений салата. Растения салата в первом кювете служили контролем и не были заражены. Во втором контрольном кювете были растения салата, инокулированные *R. solani*. Третий кювет обработали смесью *Serratia plymuthica* и *Bacillus subtilis* (400 мл/м²), четвертый — химическим стандартом Монсерен (2 л/м²). После инокуляции кюветы выдерживали в течение 72 ч в климатической камере при 18°С. Спустя 14 и 31 суток по 6 растений салата срезали на уровне почвы и взвешивали. Регистрировали массу растений, число живых растений, число пораженных растений, число пораженных листьев салата.

Результаты и обсуждение. При обработке листьев салата смесью *S. plymuthica* и *B. subtilis* и монсереном получен статистически значимый фунгицидный эффект. Эффективность препарата на основе комплекса двух бактерий аналогична эффективности химического препарата монсерен. Биомасса растений в контроле без патогена на 40 % была выше, чем в контроле, инокулированным *R. solani*. Протективный эффект смеси *S. plymuthica* и *B. subtilis* был сравним с вариантом, обработанным монсереном.

Ключевые слова: *Serratia plymuthica*, *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, выживаемость, биомасса растений.

Введение

Rhizoctonia solani — почвенный патоген, вызывающий заболевания многих видов растений, в том числе сельскохозяйственных. Паразитический гриб *R. solani* способен выживать в почве в течение многих лет в виде склероций или в мицелиальной форме на органическом веществе. Склероции очень устойчивы и выживают при неблагоприятных условиях. Контроль *R. solani* затрудняется тем, что он является паразитом широкого круга хозяев, а также способен к сапротрофному росту.

Ризоктониоз салата впервые был описан Стоном и Смитом [14] в штате Массачусетс. Девис с соавторами [5] пришли к выводу, что этот патоген встречается везде, где выра-



шивают салатные культуры. Первые симптомы заболевания проявляются как побурение с дальнейшим повреждением главных жилок внутренней стороны листа или повреждением основания стебля. Заболевание быстро распространяется, что может привести к загниванию листьев. Сообщается о потери до 70 % урожая салата, выращиваемого в Соединенных Штатах Америки в полевых условиях при поражении ризоктониозом. Данные Лауна [8] показывают ежегодные экономические потери до 250 000 Евро при производстве салата на юге Германии. Сорты, обладающие генетической устойчивостью к *R. solani*, не существуют. Хотя это заболевание можно контролировать химическими методами, эффективность существующих разрешенных препаратов не достаточна. Альтернативные методы контроля заболевания также не существуют, хотя различные антагонистические грибы и бактерии могут ингибировать развитие заболевания, вызываемого [1, 2, 10, 15, 16].

Результаты современных исследований показали, что использование биоагентов может быть перспективным для контроля *R. solani* [9]. За последнее время выделены организмы, способные подавлять развитие *R. solani*. Это грибы *Gliocladium virens* (G-21), *Trichoderma harzianum* [13], бактерии *Burkholderia cepacia* (= *Pseudomonas cepacia*) [3], *Bacillus subtilis* (GB03) [11], *B. subtilis* (MBI600) [17]. Коммерческие препараты FZB24, Phytovit, Mycostop и Prestor показали эффективность против *R. solani* на разных культурах [12]. Современный препарат Prestor, состоящий из спор и мицелия *Gliocladium catenulatum* (J1446), может контролировать развитие болезней, вызываемых *Pythium sp.* и *R. solani*. Основным принципом действия этого агента — микопаразитизм [6]. В настоящее время препарат Prestor зарегистрирован в Финляндии и проходит регистрацию в Европе. Mycostop — препарат, содержащий споры почвенной бактерии *Streptomyces griseoviridis* (K61), которая ограничивает развитие и питание грибных патогенов, колонизируя корни растений и выделяя фунгицидные вещества и литические ферменты в ризосферу [6]. Препарат зарегистрирован во многих странах, в основном против заболеваний, вызываемых *Fusarium sp.*, *Pythium sp.*, *Phomopsis sp.*, *Alternaria sp.*, *Botrytis sp.*, *Phytophthora sp.* и *R. solani* на овощных культурах. Phytovit — препарат на основе бактерии *Bacillus subtilis* (B2g), выделенной из ризосферы озимого рапса. Также известен биологический агент FZB24, состоящий из штамма *B. subtilis* FZB24. Подобно Phytovit, FZB24 увеличивает биомассу корневой и надземной биомассы, повышает устойчивость растений к патогенам [7].

Все это свидетельствует о высокой актуальности поиска и анализа действия биологических агентов, естественных регуляторов патогенов растений.

Целью настоящего исследования был анализ фунгицидного действия комплекса бактерий *Serratia plymuthica* и *Bacillus subtilis* по отношению к паразитическому грибу *R. solani* на растениях салата.

Материалы и методы

Опыт проводили в пластиковых кюветах с грунтом на растениях салата. Объем кювет 10,4 л (ширина 32 см, длина 43,5, высота 7,5 см), поверхность 0,139 м². В каждой кювете выращивали по 12 растений салата. Растения салата в первом кювете служили контролем и не были заражены. Во втором контрольном кювете были растения салата, инокулированные *R. solani*. Третий кювет обработали смесью *S. plymuthica* и *B. subtilis* (400 мл/м²), четвертый — препаратом монсерен (2 л/ м²).

После инокуляции кюветы выдерживали в течение 72 ч в климатической камере при 18°C для улучшения развития патогена. Спустя 14 и 31 сут по 6 растений салата срезали на уровне почвы и взвешивали. Регистрировали массу растений, число живых растений, число пораженных растений, число пораженных листьев салата.

Результаты и обсуждение

Искусственная инокуляция прошла удачно. Поражение листьев салата в контроле, инокулированным *R. solani*, значительно превышает этот же показатель в контроле без патогена.

При обработке листьев салата смесью *S. plymuthica* и *B. subtilis* и монсереном получен статистически значимый фунгицидный эффект. Эффективность препарата на основе комплекса двух бактерий аналогична эффективности химического препарата монсерен. Биомасса растений в контроле без патогена на 40 % была выше, чем в контроле, инокулированным *R. solani*. Биомасса растений, обработанных бактериями была ниже, чем в вариан-

те с монсереном. Протективный эффект смеси *S. plymuthica* и *B. subtilis* был сравним с вариантом, обработанным монсереном.

Заключение

Таким образом, фунгицидная эффективность смеси антагонистических бактерий *S. plymuthica* и *B. subtilis*, проанализированная по отношению к *R. solani* на растениях салата, сравнима с препаратом монсерен, используемым в сельскохозяйственной практике. Отмеченную фитотоксичность бактериальных культур необходимо исследовать в последующих опытах, а также провести анализ действия бактерий при обработке листьев растений салата и при обработке почвы, где растут растения.

Данная работа показывает, что использование антагонистических бактерий является перспективным направлением в развитии экологически чистого сельского хозяйства.

Литература

1. Benyagoub M., Jabaji-Hare S. H., Chamberland H., Charest P. M. Cytochemical and immunocytochemical investigation of the mycoparasitic interaction between *Stachybotrys elegans* and its host *Rhizoctonia solani* (AG-3) // Mycol. Res. — 1996. — Vol. 100. — P. 79–86.
2. Carisse O., Bassam S. E., Benhamou N. Effect of *Microsphaeropsis* sp. strain P130A on germination and production of sclerotia of *Rhizoctonia solani* and interaction between the antagonist and the pathogen // Phytopathology. — 2001. — V. 91. — P. 782–791.
3. Cartwright D. K., Benson M. D. *Pseudomonas cepacia* strain 5.5B and method of controlling *Rhizoctonia solani* there with // U. S. patent 5. — P. 288.
4. Cherif M., Sadfi N., Benhamou A. et al. Ultrastructure and cytochemistry of in vitro interactions of the antagonistic *Bacillus cereus* X16 and *B. thuringiensis* 55T with *Fusarium roseum* var. *sambucinum*. // J. Pl. Pathol. — 2002. — Vol. 84. — P. 83–93.
5. Davis R. M., Subbarao K. V., Raid R. N., Kurtz E. A. Compendium of lettuce diseases. APS Press. — 1997. — P. 15–16.
6. Kemira AGRO OY. The mode of action of *Gliocladium catenulatum* J1446 // Biocontrol infoletter 9. Kemira AGRO OY, Helsinki, Finland. — 2000.
7. Kilian M., Steiner B., Junge H., Schmiereknecht R. FZB24® *Bacillus subtilis* — mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality // Pfl. Schutz-Nachr. Bayer — 2000. — V. 53. P. 72–93.
8. Laun N. Zur Wirkung von FZB24 WG gegen *Rhizoctonia* an Salat // Gemüse. — 2002. — Vol. 38. — P. 14–15.
9. Sneh B., Jabaji-Hare S. H., Neate S. M., Dijst G. (eds.). *Rhizoctonia* species. Taxonomy, Molecular Biology, Ecology; Pathology and Control. Kluwer, Dordrecht. — 1996. — P. 507–514.
10. Mukherjee P. K., Mukhopadhyay A. N., Sarmah D. K., Shrestha S. M. Comparative antagonistic properties of *Gliocladium virens* and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* — its relevance to understanding the mechanisms of biocontrol // J. Phytopathol. — 1995. — Vol. 143. — P. 275–279.
11. Raupach G. S., Kloepper J. W. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growthpromoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation // Plant Dis. — 2000. — Vol. 84. — P. 1073–1075.
12. Schmiereknecht G., Bochow H., Junge H. Biologische Kontrolle knollen und bodenbürtiger Erkrankungen der Kartoffel // Meded. Fac. Landbouww. Rijksuniv. — 1997. — P. 1055–1062.
13. Spiegel Y., Chet I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel // Integ. Pest Manag. Rev. 3. — 1998. — P. 169–175.
14. Stone G. E., Smith R. E. The rotting of greenhouse lettuce // Mass. Agric. Exp. Stn. Bull. — 1900. — P. 69.
15. Thrane C., Nielsen M. N., Sorensen J., Olsson S. *Pseudomonas fluorescens* DR54 reduces sclerotia formation, biomass development, and disease incidence of *Rhizoctonia solani* causing damping-off in sugar beet // Microb. Ecol. — 2001. — Vol. 42. — P. 438–445.
16. Utkhede R. S., Koch C. A. Chemical and biological treatments for control of gummy stem blight of greenhouse cucumbers // Europ. J. Pl. Pathol. — 2002. — V. 108. — P. 443–448.
17. Wright B., Rowse H. R., Whipps J. M. Application of beneficial microorganisms to seeds during drum priming // Biocontrol Sci. Techn. — 2003. — Vol. 13. — P. 599–614.

References

1. Benyagoub M., Jabaji-Hare S.H., Chamberland H., Charest P.M. Cytochemical and immunocytochemical investigation of the mycoparasitic interaction between *Stachybotrys elegans* and its host *Rhizoctonia solani* (AG-3). Mycol. Res. — 1996. Vol. 100, pp. 79–86.



2. Carisse O., Bassam S.E., Benhamou N. Effect of *Microsphaeropsis* sp. strain P130A on germination and production of sclerotia of *Rhizoctonia solani* and interaction between the antagonist and the pathogen. *Phytopathology*. 2001. Vol. 91, pp. 782–791.
3. Cartwright D.K., Benson M.D. *Pseudomonas cepacia* strain 5.5B and method of controlling *Rhizoctonia solani* therewith. U. S. patent 5. 288. 633.
4. Cherif M., Sadfi N., Benhamou A., Boudabbous A., Boubaker M. R. Hajlaoui Y. Ultrastructure and cytochemistry of in vitro interactions of the antagonistic *Bacillus cereus* X16 and *B. thuringiensis* 55T with *Fusarium roseum* var. *sambucinum*. *J. Pl. Pathol.* 2002. Vol. 84, pp. 83–93.
5. Davis R. M., Subbarao K. V., Raid R. N., Kurtz E. A. Compendium of lettuce diseases. APS Press 1997. pp. 15–16.
6. Kemira AGRO OY. The mode of action of *Gliocladium catenulatum* J1446. *Biocontrol infoletter* 9. Kemira AGRO OY, Helsinki, Finland. 2000.
7. Kilian M., Steiner B., Junge H., Schmiedeknecht R. FZB24® *Bacillus subtilis* — mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pfl.Schutz–Nachr. Bayer*. 2000. Vol. 53, pp. 72–93.
8. Laun N. Zur Wirkung von FZB24 WG gegen *Rhizoctonia* an Salat. *Gemüse*. 2002. V. 38, pp. 14–15.
9. Sneh B., Jabaji–Hare S. H., Neate S. M. Dijst G. (eds.). *Rhizoctonia* species. *Taxonomy, Molecular Biology, Ecology; Pathology and Control*. Kluwer, Dordrecht. 1996. pp. 507–514.
10. Mukherjee P. K., Mukhopadhyay A. N., Sarmah D. K., Shrestha S. M. Comparative antagonistic properties of *Gliocladium virens* and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* — its relevance to understanding the mechanisms of biocontrol. *J. Phytopathol.* 1995. Vol.143, pp. 275–279.
11. Raupach G. S., J. W. Kloepper. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growthpromoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Dis.* 2000. Vol. 84, pp. 1073–1075.
12. Schmiedeknecht G., Bochow H., Junge H. Biologische Kontrolle knollen und bodenbürtiger Erkrankungen der Kartoffel. *Meded. Fac. Landbouww. Rijksuniv.*1997. pp. 1055–1062.
13. Spiegel Y., Chet I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. *Integ. Pest Manag. Rev.* 3. 1998. pp. 169–175.
14. Stone G. E., Smith R. E. The rotting of greenhouse lettuce. *Mass. Agric. Exp. Stn. Bull.* 1900. pp. 69.
15. Thrane C., Nielsen M. N., Sorensen J., Olsson S. *Pseudomonas fluorescens* DR54 reduces sclerotia formation, biomass development, and disease incidence of *Rhizoctonia solani* causing damping-off in sugar beet. *Microb. Ecol.* 2001. Vol. 42, pp. 438–445.
16. Utkhede R. S., Koch C. A. Chemical and biological treatments for control of gummy stem blight of greenhouse cucumbers. *Europ. J. Pl. Pathol.* 2002. Vol. 108, pp. 443–448.
17. Wright B., Rowse H. R. Whipps J. M. Application of beneficial microorganisms to seeds during drum priming. *Biocontrol Sci. Techn.* 2003. Vol. 13, pp. 599–614.

Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13282

Article history:

Received 13.04.2015

Accepted 02.09.2015

**THE INFLUENCE OF ANTAGONISTIC BACTERIA *SERRATIA PLYMUTHICA*
AND *BACILLUS SUBTILIS* ON AFFECTION OF SALAD PLANTS
BY *RHIZOCTONIA SOLANI***

Migunova V.D., Ryabchenko N.F.

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K. I. Skryabin, 117218, Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St., e-mail: migunova@vniigis.ru

Abstract

High efficiency of mixture of two bacterial strains *Serratia plymuthica* and *Bacillus subtilis* was shown against development of *Rhizoctonia solani* on plants of salad variety Leny (Nunhems). Survival, biomass of plants, and number of affected plants and leaves were analyzed in the experiment. Efficiency of application of a preparation of mixture bacterial strains was comparable with the chemical preparation Monceren L recommended for suppression of this disease caused *Rhizoctonia solani*.

Keywords: *Serratia plymuthica*, *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, survival, plants biomass.



Поступила в редакцию 27.02.2015
Принята в печать 24.08.2015

УДК 619:616.993.192.1
DOI:10.12737/13283

Худяков А.А., Сафиуллин Р.Т. Методические положения по борьбе с кокцидиозами свиней в хозяйствах промышленного типа // Российский паразитологический журнал. Москва. 2015. Вып. 3. С. 106–109.
Hudyakov A.A., Safiullin R.T. Methodical guidelines for the struggle against coccidiosis of pigs in factory farms. Russian Journal of Parasitology. Moscow. 2015. Vol. 3. P. 106–109.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПО БОРЬБЕ С КОКЦИДИОЗАМИ СВИНЕЙ В ХОЗЯЙСТВАХ ПРОМЫШЛЕННОГО ТИПА

А.А. Худяков, Р.Т. Сафиуллин

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28, e-mail: safiullin@vniigis.ru (Одобрены на заседании секции «Инвазионные болезни животных» 25 сентября 2014 г.)

Реферат

Приведены сведения по кокцидиозам свиней в хозяйствах промышленного типа. Чаще заражаются и тяжело переболевают изоспорозом поросята 7–30-дневного возраста, а эймериозом — поросята до двухмесячного возраста. В среднем, эймериозом поражено 24,3 % свиней, изоспорозом — 15,1 и балантидиозом — 32,4 %. Возбудителями болезни являются 9 видов кокцидий. Диагноз на кокцидиоз устанавливают на основании результатов исследований фекалий по методу Фюллеборна, Дарлинга или МакМастера. Для лечения свиней назначают ампролиум и его премиксные формы в дозе 0,005 % массы корма в пересчете на ДВ в течение 1–2 мес; нифулин — 5 г/10 кг корма в течение 5–7 сут; хлортетрациклин гидрохлорид по 10 мг/кг 3–5 сут; сульфадимезин по 5 г на животное в сочетании с зоаленом (0,03 г/кг) или биоветином (0,06 г/кг) 2 раза в сутки в течение 4–5 сут; химкокцид — 20 мг/кг 4–5 сут; химкокцид-7 — 420 мг/кг; фармкокцид — 25 мг/кг; хиниофон — 40 мг/кг; трихопол — 15 мг/кг 2 раза в сутки 3–4 сут; ригедазол 25%-ный гранулят — 1 г/10 кг корма; биофузол — 125 мг/кг; салинофарм 60 — 30 мг/кг 2–3 раза в сутки до улучшения клинического состояния и прекращения выделения ооцист. Для профилактики применяют салиномицин 12%-ный из расчета 330 г на 1 тонну корма поросьятам до 120-дневного возраста. Проводят механическую очистку помещений. Для дезинвазии используют 7%-ный раствор аммиака, 10%-ный горячий раствор однохлористого йода, 10%-ную горячую эмульсию ксилонафта, 2%-ную водную эмульсию технического ортофена, 4–5%-ный горячий (не менее 80 °С) раствор щелочи. Растворы следует применять однократно при 3-часовой экспозиции из расчета 1 л на 1 м² обеззараживаемой поверхности с твердым покрытием и 2–3 л на обычную почву. Для химиофилактики эймериоза рекомендуется уже в первый месяц жизни давать поросьятам с кормом 1 раз в сутки в течение 6–7 сут химкокцид-7 в дозе 210 мг/кг, трихопол — 10 мг/кг, фармкокцид — 15 мг/кг, хиниофон — 40 мг/кг или толтразурил в дозе 30–50 мг/кг на 3–5-е сутки жизни поросят.

Ключевые слова: поросята, кокцидиозы, ущерб, диагностика, лечение, профилактика.

Среди паразитических простейших наиболее часто встречаются кокцидиозы (изоспороз, эймериоз) и балантидиоз, которые поражают свиней разного возраста, но наибольшее отрицательное влияние на организм они оказывают у молодняка. Чаще заражаются и тяжело переболевают изоспорозом поросята 7–30-дневного возраста, а эймериозом — поросята до двухмесячного возраста. Свиньи более старших возрастных групп болеют в легкой форме. Переболевшие поросята остаются носителями возбудителей болезни.



Ущерб от кокцидиозов складывается из гибели поросят, снижения производственных показателей (привесов, сохранности молодняка, племенной ценности поголовья), увеличения конверсии корма, затрат на диагностику, лечение и профилактику заболевания. При этом, к кокцидиостатикам, применяемым для профилактики, наступает привыкание или же возрастает до 50–60 % адаптивная резистентность кокцидий.

По данным ВНИИП им. К. И. Скрябина, в среднем, эймериозом поражено 24,3 % свиней, изоспорозом — 15,1 и балантидиозом — 32,4 %. Потеря прироста массы тела на одного больного эймериозом поросенка составляет 2,8 кг, изоспорозом — 1,6, балантидиозом — 3,1 кг. У зараженных эймериями поросят летальность достигает 12 % от заболевших (Р. Т. Сафиуллин, 2006).

Согласно результатам проведенных исследований, в 2005–2009 гг. средняя экстенсивность заражения свиней эймериями по стране составила 24,3 % с колебаниями по федеральным округам от 10,5 до 35,2 %, балантидиями — 32,4 % с колебаниями от 15,1 до 53,6 %.

Возбудителями болезни являются простейшие организмы — эймерии и изоспоры. В настоящее время описано 13 видов кокцидий, однако такие исследователи как J. M. Veterling (1965), И. И. Вершинин (1996) считают реально существующими 9 видов кокцидий: *Eimeria deblickei*, *E. suis*, *E. scabra*, *E. perminuta*, *E. spinosa*, *E. polita*, *E. porci*, *E. neodeblickei* и *Isospora suis*.

Диагностика. При жизни диагноз на кокцидиоз у свиней ставят комплексно: на основании эпизоотологических данных, симптомов болезни, патологоанатомических изменений и, главным образом, результатов исследований фекалий по методу Фюллеборна, Дарлинга или МакМастера. Диагноз не вызывает сомнений при наличии симптомов болезни (поносы, истощение) и большого числа ооцист (до 100 и более) в фекалиях. Однако, клинически (диарея) болезнь может проявиться за 1–3 сут до начала массового выделения ооцист с фекалиями. В связи с этим, через 2–3 сут копроскопические исследования следует повторить.

В неблагополучных по кокцидиозам хозяйствах наряду с общими ветеринарно-санитарными мероприятиями проводят периодически копроскопические исследования на наличие ооцист кокцидий в следующие сроки:

- поросята-сосуны — в 14–20-дневном возрасте;
- поросята-отъемыши — в 30–50-дневном и 120-дневном возрасте (перед переводом на откорм);
- ремонтный молодняк — один раз за весь период выращивания;
- свиноматки — за 2 недели перед случкой и в эти же сроки перед опоросом;
- хряки — 2 раза в год.

При установлении диагноза на кокцидиозы следует учитывать интенсивность инвазии. При обнаружении небольшого числа ооцист (до 10 в поле зрения микроскопа) не следует считать основной причиной болезни кокцидиоз, так как лишь интенсивная инвазия вызывает у поросят появление клинических признаков болезни. Кроме того, отсутствие ооцист в препарате при однократном исследовании фекалий не может служить основанием для исключения эймериоза, так как возможно попадание материала от животных, у которых не закончилось развитие паразита и ооцисты еще не сформировались. Поэтому, следует исследовать не менее 5–7 животных из каждой возрастной группы и учитывать наличие клинических признаков, специфических патологоанатомических изменений и интенсивность кокцидиозной инвазии.

При оценке результатов исследований проб фекалий от инвазированных кокцидиями поросят по числу обнаруженных ооцист следует руководствоваться 3-бальной шкалой: единичные и до 10 — 1 бал, низкий уровень заражения; свыше 10 и до 30 ооцист — 2, средний; свыше 30 — 3 бала, высокий уровень заражения.

Предлагаемая авторами шкала разработана на основе анализа результатов собственных исследований, проведенных в свиноводческих хозяйствах России.

Посмертно диагноз ставят по результатам патологоанатомического вскрытия и микроскопического исследования соскобов слизистой оболочки с пораженных участков тонкого кишечника.

При постановке диагноза на кокцидиозы следует учитывать видовой состав возбудителей. Кокцидий родов *Eimeria* и *Isospora* дифференцируют по структуре спорулированных ооцист, структуре и локализации эндогенных стадий, хозяйинной специфичности, продолжительности препатентного периода развития и спорогонии.

Дифференцируют кокцидиозы от гельминтозов (аскаридоза, стронгилоидоза, эзофагостомоза, трихоцефалеза). Для их исключения используют методы Фюллеборна, Дарлинга, Котельникова–Хренова, Щербовича, которыми исследуют фекалии с целью обнаружения яиц, имеющих более крупные размеры, характерную цветовую окраску и структуру. Кокцидиозы следует также отличать от балантидиоза, трипонемоза, колибактериоза и сальмонеллеза.

Лечение. При кокцидиозах свиней испытано большое число лекарственных препаратов. Однако, немногие из них обладают достаточной эффективностью.

При кокцидиозах, прежде всего, организуют правильное содержание и полноценное кормление животных. Для лечения свиней назначают ампролиум и его премиксные формы в дозе 0,005 % массы корма в пересчете на ДВ в течение 1–2 мес; нифулин — 5 г/10 кг корма в течение 5–7 сут; хлортетрациклин гидрохлорид по 10 мг/кг 3–5 сут; сульфадимезин по 5 г на животное в сочетании с зоаленом (0,03 г/кг) или биоветином (0,06 г/кг) 2 раза в сутки в течение 4–5 сут; химкокцид — 20 мг/кг 4–5 сут; химкокцид-7 — 420 мг/кг; фармкокцид — 25 мг/кг; хиниофон — 40 мг/кг; трихопол — 15 мг/кг 2 раза в сутки 3–4 сут; ригедазол 25%-ный гранулят — 1 г/10 кг корма; биофузол — 125 мг/кг; салинофарм 60 — 30 мг/кг 2–3 раза в сутки до улучшения клинического состояния и прекращения выделения ооцист.

Для профилактики применяют салиномицин 12%-ный из расчета 330 г на 1 тонну корма поросатам до 120-дневного возраста.

Профилактика и меры борьбы. Салиномицин в дозе 250 г на 1 т корма для санации супоросных свиноматок перед опоросом при назначении в течение 30 сут показал высокую лечебно-профилактическую эффективность и надежность.

Стандартные схемы профилактики с целью подготовки свинарников, родильных станков и гнезд химическими препаратами (формалином, едким натрием в концентрации не ниже 4 % при нагревании рабочих растворов не ниже 80 °С) показывают недостаточную эффективность. После освобождения свинарников от животных необходимо проводить механическую очистку помещений от навоза и других загрязнений, тщательно вымыть горячей водой, затем проводить дезинфекцию.

Для дезинфекции используют 7%-ный раствор аммиака, 10%-ный горячий раствор хлорида йода, 10%-ную горячую эмульсию ксилонафта, 2%-ную водную эмульсию технического ортофена, 4–5%-ный горячий (не менее 80 °С) раствор щелочи. Растворы следует применять однократно при 3-часовой экспозиции из расчета 1 л на 1 м² обеззараживаемой поверхности с твердым покрытием и 2–3 л на обычную почву.

Дезинвазию помещений проводят в соответствии с «Правилами проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного надзора» (2002). Вышеуказанные химические средства губительно действуют на ооцисты эймери, однако они не нашли широкого применения в ветеринарной практике. Креолин, формалин, натриевая и калиевая щелочи в концентрациях, применяемых в ветеринарной практике для дезинфекции, не оказывают губительного действия на ооцисты.

В последние годы на рынке ветеринарных препаратов появились средства нового поколения, в том числе кенококк, содержащий поверхностно-активные вещества, обладающие очищающими и увлажняющими свойствами, который позволяет успешно бороться со всеми видами загрязнений.

Полученные нами в ходе производственного испытания результаты дают основание полагать, что испытанная и рекомендуемая концентрация (4 %) и доза (0,5 л на 1 м²) кенококка являются оптимальными с точки зрения лечебно-профилактической эффективности при кокцидиозах и балантидиозе свиней.

Установлено, что кенококк в процессе дезинвазии оказывает губительное действие на ооцист и цист паразитических простейших и, возможно, на яйца нематод. Использование кенококка для дезинвазии свинарников позволяет избежать огромных потерь, связанных с возникновением и распространением кокцидиозной инвазии у поросят.

Для химиофилактики эймериоза рекомендуется уже в первый месяц жизни давать поросатам с кормом 1 раз в сутки в течение 6–7 сут химкокцид-7 в дозе 210 мг/кг, трихопол — 10 мг/кг, фармкокцид — 15 мг/кг, хиниофон — 40 мг/кг или толтразурил в дозе 30–50 мг/кг на 3–5-е сутки жизни поросят. При необходимости курс лечения повторяют через неделю. Это позволяет профилактировать и другие кишечные протозоозы у поросят. Можно использовать биветин внутрь в дозе 0,96 г/кг массы 2 раза в сутки в течение 4 сут подряд и повторно через каждые 8 сут.



Высокая эффективность при изоспорозе поросят получена при применении толтразури-ла в дозе 30–50 мг/кг массы тела внутрь однократно на 3–5-е сутки жизни молодняка про-филактическим курсом.

Таким образом, борьба с кокцидиозами свиней должна носить комплексный характер, проводиться планоно, учитывая степень чувствительности кокцидий в данном хозяйстве к используемым кокцидиостатикам и средствам дезинвазии.

Russian Journal of Parasitology

DOI: 10.12737/13283

Article history:

Received 27.02.2015.

Accepted 24.08.2015.

**METHODICAL GUIDELINES FOR THE STRUGGLE AGAINST COCCIDIOSIS
OF PIGS IN FACTORY FARMS**

Hudyakov A.A., Safiullin R.T.

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K. I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St., e-mail: safiullin@vniigis.ru

(Approved at the meeting of the section «Infectious diseases in animals», September 25, 2014)

Abstract

Data on coccidiosis of pigs in factory farms are provided. Piglets aged 7–30 days are infected more often with isosporiasis, and suffer from this disease; piglets up to two months — with eimeriosis. On the average, 24,3 % of pigs are infected with eimeriosis, 15,1 — with isosporiasis, and 32,4 % — with balantidiasis. Causative agents of this disease are nine types of coccidia. The diagnosis for coccidiosis is made according to the results of fecal examination by Fullenborn, Darling or McMaxter methods. In treatment of pigs the following drugs are administered: Amprolium and its premixes during 1–2 months at the dose 0,005 % of feed mass as equivalent to the active ingredient; Nifuline — 5 g/10 kg of feed mass during 5–7 days; chlortetracycline hydrochloride — 10 mg/kg during 3–5 days; Sulfadimezinum — 5 g per animal along with zoalene (0,03 g/kg) or biovetine (0,06 g/kg) 2 times daily during 4–5 days; Chimcoccid 20 mg/kg during 4–5 days; Chimcoccid-7 — 420 mg/kg; Pharmcoccid — 25 mg/kg; Chiniophonum — 40 mg/kg; Trichopol — 15 mg/kg 2 times daily during 3–4 days; Rigidazole granulate 25% – 1 g per 10 kg of feed mass; Biofuzolium — 125 mg/kg; Salinopharm — 60–30 mg/kg 2–3 times daily to improve the clinical status and stop oocysts releasing. For preventive purposes we use Salinomycin 12 % calculated as 330 g per 1 tonne of feed for piglets 120 days of age. Mechanical cleaning of premises is conducted. 7%-solution of ammonia, warm 10 % solution of iodine monochloride, warm 10 % emulsion of ksilonaft, 2 % water emulsion of technical orthophenum, hot 4–5 % alkali solution (not less than 80 °C) are used for disinvasion. The solutions should be applied once at 3 hour exposure (1 liter per 1 m² of hard surface and 2–3 l of normal surface). In the chemoprophylaxis of eimeriosis it is recommended to give the piglets in first month of life along with the feed: Chimcoccid-7 1 time daily within 6–7 days at the dose of 210 mg/kg; Trichopol — 10 mg/kg; Pharmcoccid — 15 mg/kg; Chiniophone — 40 mg/kg or Toltrazurilum at the dose of 30–50 mg/kg on 3–5 days of piglets' life.

Keywords: piglets, coccidiosis, damage, diagnostics, treatment, prophylaxis.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



Federal State Budget Institution «All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin» by Federal Agency of Scientific Organizations (FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin FASO Russia)

PRIMARY GOALS OF INSTITUTE'S ACTIVITIES INCLUDE:



Conducting of fundamental and priority scientific research, performing of experimental designed works, implementation of scientific achievements and progressive experience aimed at gaining new knowledge in the field of parasitology, ensuring veterinary and phytosanitary welfare in country, increasing crop and livestock productivity, improvement food supplies of country due to livestock production of high biological and sanitary quality; protection of human health against parasitic zoonoses and environmental protection against the parasitic infections.

Address: 117218, 28 str. Bolshaya Cheremushkinskaya, Moscow, Russia

All-Russian Scientific Research Institute of Helminthology named after K.I. Skryabin

<http://vniigis.ru/>

Telephone/Fax: +7 (499) 124-56-55

Director of the Institute, corresponding member of RAS, doctor of veterinary sciences, Professor, Alexandr Uspenskiy - director@vniigis.ru

Secretary Director Larisa Stepanova - secretar@vniigis.ru

Deputy Director on science, doctor of veterinary sciences, Professor

Ivan Arkhipov - arhipov@vniigis.ru

Deputy Director on innovations, PhD in biological sciences

Nina Samoylovskaya - samoylovskaya@vniigis.ru

Deputy Director for financial and economic issues

Kiryakova Natalia Ivanovna - gny.vigis@yandex.ru

Secretary of the scientific Council of the Institute, PhD in veterinary sciences

Viktor Shubaderov - uchsecretar@vniigis.ru

Secretary of the dissertation Council, doctor of biological Sciences, Professor

Vera Berezhko - vigis.ds@yandex.ru

Technical Secretary of the dissertation Council, PhD in biological sciences

Amina Khaidarova - amina7161@yandex.ru

Secretary of the all-Russian Society of Helminthologists RAS, doctor of veterinary sciences Karine

Karine Kurochkina - vog@vniigis.ru

Secretary of the coordination Council of the Institute, PhD in veterinary sciences

Tatiana Ershova - ershova@vniigis.ru

The Institute was founded in 1932 by academician K.I. Skryabin.

