



РОССИЙСКИЙ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 38 Выпуск 4/2016

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. Скрябина

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://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskii-zhurnal/> (русский язык)
Website: <http://www.vniigis.ru/en/izdaniya/russian-parasitological-magazine/> (English)

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.: 11,933.

Журнал входит в Перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикации материалов докторских и кандидатских диссертаций.

Индексируется в наукометрических базах данных:

- 1. Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)** – соглашение от 02.07.2014
Информация о РИНЦ: http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp
Страница журнала в Научной Электронной библиотеке eLibrary: http://elibrary.ru/title_about.asp?id=26721
- 2. Журнал включен в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI) на платформе Web of Science**, состоящей из 652 лучших научных журналов России: <http://elibrary.ru/titles.asp>
Ссылка на индекс на платформе Web of Science: http://wokinfo.com/products_tools/multidisciplinary/rscli/
Список российских журналов включенных в RSCI:
http://wokinfo.com/media/pdf/RSCI_Journal_List.pdf?utm_source=false&utm_medium=false&utm_campaign=fa...
- 3. Электронная библиотека САБИ**
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>
- 4. Международная информационная система AGRIS** (International System for Agricultural Science and Technology)
соглашение о включении журнала в базу данных от 24.06.2015 № ЛП-1/117
Ссылка на международную информационную систему AGRIS:
<http://agris.fao.org/agris-search/index.do>
Подтверждение о включении Российского Паразитологического Журнала в формате PDF.
Ссылка на страницу Российского Паразитологического Журнала в БД AGRIS:
http://www.cnshb.ru/jour/jc_nj.asp?id=7171&g=2014&gazeta
- 5. Портал научных журналов 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-parazitologicheskii-gurnal>
- 6. Google Scholar (Google Академия)** – Соглашение включения в базу данных от 8.04.2015
Российский Паразитологический Журнал в системе Google Scholar:
<https://scholar.google.ru/scholar>



7. **Web of Science (Web of Knowledge)** – заявка на Соглашение включения в базу данных от 23.04.2015. Номер заявки: 150423-0585754
8. **Scopus (Elsevier Journals)** – 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>
9. **Ulrich's Periodicals Directory** — внесены в каталог периодических изданий 27.02.2015
<http://ulrichsweb.serialssolutions.com/login>
10. **КиберЛенинка** — это научная электронная библиотека открытого доступа (Open Access).
Ссылка: <http://cyberleninka.ru/journal/n/rossiyskiy-parazitologicheskiy-zhurnal>
Лицензионный договор № 22992-01от «17» сентября 2015 г.
11. **Издательство «Лань»** — электронно-библиотечная система.
Ссылка: http://e.lanbook.com/journal/issue.php?p_f_journal=2479&p_f_year=2009&p_f_issue=1
12. **Член Ассоциации научных редакторов и издателей (АНРИ)** договор № 19 /2015 от «11» сентября 2015 г.
13. **Центральная научная сельскохозяйственная библиотека (ФГБНУ ЦНСХБ)** — одна из крупнейших сельскохозяйственных библиотек мира, выполняющая функции отраслевой национальной библиотеки России по сельскому хозяйству и продовольствию.
Ссылка: <http://www.cnsnb.ru/izdat.shtml>

К публикации принимаются статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов, размещенных на сайте Издания (<http://www.vniigis.ru/>) и отправленные на e-mail: journal@vniigis.ru

1. правила оформления статей

<http://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskiy-zhurnal/pravila-oformleniya-statey/>

2. образец подачи статьи

<http://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskiy-zhurnal/obrazets-podachi-stati/>

3. архив номеров

<http://www.vniigis.ru/izdaniya/rossiyskiy-parazitologicheskiy-zhurnal/arkhiv-vypuskov-v-pdf/>

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 РАН (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)

Зиновьева С.В., доктор биологических наук, (Центр паразитологии ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН)

Курочкина К.Г., доктор биологических наук, (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Мальшева Н.С., доктор биологических наук, (Курский Государственный Университет)

Мигунова В.Д., доктор биологических наук, (ВНИИП им. К.И. Скрябина)

Мовсесян С.О., академик НАН Армении, (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 (РГП «Институт зоологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, Алматы, 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, Республика Беларусь)

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

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

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

Demiaszkiewicz A.W., доктор ветеринарных наук, профессор, Институт паразитологии им. В. Стефанского Польской академии наук (Варшава)

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

Santiago Mas-Coma, профессор, Департамент паразитологии, Университет Валенсия (Валенсия, Испания)

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)

Panayotova-Pencheva M.S., доктор биологических наук, Институт экспериментальной морфологии, патологии и антропологии с музеем (ИЕМПАМ) БАН (Болгария, София)

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



RUSSIAN JOURNAL OF PARASITOLOGY

Volume 38 Issue 4/2016

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, BolshayaCheremushkinskaya str., 28.

Phone/fax: 8 (495)-124-56-55; 8 (495)-124-33-35

E-mail: journal@vniigis.ru

Website: <http://www.vniigis.ru/en/izdaniya/russian-parasitological-magazine/>

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 11,933.

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.

1. Russian Index of Scientific Citation (RISC) – the agreement from 02.07.2014

Information about RSCI: http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp

Page of the journal in the Scientific Electronic Library «eLibrary»:

http://elibrary.ru/title_about.asp?id=26721

2. The journal is included in the database **Russian Science Citation Index (RSCI)** on the platform Web of Science, consisting of 652 best scientific journals of Russia: <http://elibrary.ru/titles.asp>

Link to the index on Web of Science: http://wokinfo.com/products_tools/multidisciplinary/rsci/

The list of Russian journals included in the RSCI:

http://wokinfo.com/media/pdf/RSCI_Journal_List.pdf?utm_source=false&utm_medium=false&utm_campaign=fa...

3. **Electronic library CABI**

agreement on the inclusion of the journal into the database from 12.06.2014

Link (Human Sciences section): <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-fromjournals-by-subject-area.pdf>

4. **International information system 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

Link to international information system AGRIS: <http://agris.fao.org/agris-search/index.do>

Confirmation on the inclusion of the Russian Journal of Parasitology in PDF format.

The link to the page of the Russian Journal of Parasitology in the database AGRIS:

http://www.cnshb.ru/jour/jc_g.asp?id=7171&gazeta=

5. **Portal of scientific journals Naukaru.ru** – The agreement №23/15 from 28.01.2015

Naukaru.ru - the portal of scientific periodicals, a platform for publishing articles and reading new materials.

Link: <http://naukaru.ru/journal/editorial/Rossiyskiy-parazitologicheskij-gurnal>

6. **Google Scholar (Google Academy)** – The agreement included in the database from 8.04.2015

Russian Journal of Parasitology in the system Google Scholar: <https://scholar.google.ru/scholar>



7. **Web of Science (Web of Knowledge)** – application for Agreement of inclusion in the database from 23.04.2015. Application number: 150423-0585754
8. **Scopus (Elsevier Journals)** – application for Agreement of inclusion in the database from 17.04.2015. The number of the application: C7A99E94EA6EF70D.
Link: <http://suggestor.step.scopus.com/progressTracker/index.cfm?trackingID=C7A99E94EA6EF70D>
9. **Ulrich's Periodicals Directory** – included in the catalog of periodicals 27.02.2015
<http://ulrichsweb.serialssolutions.com/login>
10. **CyberLeninka** — this is a scientific electronic library open access (Open Access).
Link: <http://cyberleninka.ru/journal/n/rossiyskiy-parazitologicheskiy-zhurnal>
License agreement № 22992-01от «17» September 2015.
11. **Publisher «Lan»** — electronic library system.
Link: http://e.lanbook.com/journal/issue.php?p_f_journal=2479&p_f_year=2009&p_f_issue=1
12. **Member of Association of scientific editors and publishers (ANRI)** the contract № 19 /2015 from «11» сентября 2015 г.
13. **Central scientific agricultural library (CSAL FSBI)** is one of the largest agricultural libraries in the world that perform the functions of a branch of the national library of Russia on agriculture and food.
Link: <http://www.cnsb.ru/izdat.shtm>

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.

Russian Journal of Parasitology is intend for researchers in the area of medical, veterinary and phytoparasitology from different countries: Russia, CIS, Middle East and Far abroad. Journal is the only publication in the Russia on veterinary parasitology and phytohelminthology.

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

Zinovieva S.V., doctor of biological sciences, Center for Parasitology of the A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the RAS

Kurochkina K.G., doctor of biological sciences, FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia

Malisheva N.S., Kursk State University, Russia

Migunova V.D., doctor of biological sciences, FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia

Movsesyan 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

Sergieiev 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, RSE “Institute of Zoology” of the science Committee of the Ministry of education and science of the Republic of Kazakhstan, Almaty, Kazakhstan

Shesteporov A.A., doctor of biological sciences, professor, FSBI ASRIP named after K.I. Skryabin at FASO Russia

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

Bankov I., professor, Institute of Experimental Morphology and Anthropology with Muzeum, Sofia, Bulgaria

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

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

Demiaszkiewicz A.W., professor, Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

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

Santiago Mas-Coma, professor, Human Parasitology Unit, Departamento de Parasitologia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

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

Panayotova-Pencheva M.S., doctor of biological sciences, Institute of Experimental Morphology and Anthropology with Muzeum, Sofia, Bulgaria

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



СОДЕРЖАНИЕ

ФАУНА, МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА ПАЗАРИТОВ

- АМИРОВ О.О., КАРИМОВА Р.Р., ШАКАРБОЕВ Э.Б., КУЧБОЕВ А.Э., КУЗНЕЦОВ Д.Н. Нематоды пищевой системы домашних жвачных Узбекистана 439–446
- ГАИПОВА М.Э., АКРАМОВА Ф.Д., САПАРОВ К.А., АЗИМОВ Д.А., ШАКАРБАЕВ У.А. Фауна и экология гельминтов крупного рогатого скота (*Bos taurus dom.*) Центрального Узбекистана 447–453
- 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. 454–461
- ELMAJDOUB O.L., RAHMAN W.A., WAJDII M.F.F., SITI AZIZAN M.N. Молекулярная классификация штаммов *Echinococcus granulosus* от крупного рогатого скота в Ливии 462–470

ЭКОЛОГИЯ И БИОЛОГИЯ ПАЗАРИТОВ

- МАТЮХИН А.В. Форезия пухоедов (Mallophaga) на мухах кровососках (Hippoboscidae). 471–474

ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МОНИТОРИНГ ПАЗАРИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

- БЕЛИМЕНКО В.В., САМОЙЛОВСКАЯ Н.А., НОВОСАД Е.В., ХРИСТИАНОВСКИЙ П.И. Риск-ориентированный мониторинг антропозоонозных цестодозов на основе геоинформационных систем. 475–487
- КРИВОРОТОВА Е.Ю., НАГОРНЫЙ С.А. Область применения температурных ЕРД-моделей дирофиляриоза. 488–495
- КРЯЖЕВ А.Л. Эколого-эпизоотические особенности трематодозов крупного рогатого скота, их терапия и профилактика в хозяйствах молочной специализации Вологодской области 496–501
- МИНЕЕВА О.В. Паразиты обыкновенной щиповки *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758 (Pisces: Cobitidae) в Саратовском водохранилище 502–508
- ШИБИТОВ С.К., САФИУЛЛИН Р.Т. Распространение *Buxtonella sulcata* (Jameson, 1926) крупного рогатого скота в Курганской области 509–514
- МОНАММЕД САЛЕН АЛ-АБОУДУ. Кросс-секционное исследование гельминтов желудочно-кишечного тракта жвачных животных копрологическими методами 515–520

ПАТОГЕНЕЗ, ПАТОЛОГИЯ И ЭКОНОМИЧЕСКИЙ УЩЕРБ

- ГРИШИНА Е.А. Роль цитокинов в развитии иммунитета при гельминтозах 521–526

БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ И ДИАГНОСТИКА

- БУРЕНИНА Э.А. Нуклеозиддифосфатазы цестод *Bothriocephalus scorpii* (Cestoda: Bothriocephalidae) 527–532

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА

- МУСАЕВ З.Г., АБДУЛМАГОМЕДОВ С.Ш., КУРОЧКИНА К.Г., МУСАЕВА М.Н., ШИХРАГИМОВ Э.М. Распространение и профилактика пироплазмидозов крупного рогатого скота в Республике Дагестан 533–538
- СУСЛОВ В.В., ЕНГАШЕВА Е.С., КЕДИК С.А., ШНЯК Е.А., МАКСИМОВА П.О. Пролонгированные формы антигельминтных препаратов 539–546

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ

- АРИСОВ М.В., ГЛАМАЗДИН И.Г., ДЁМИН А.И., АРТЕМОВ В.В. Исследование переносимости комплексного противопаразитарного препарата «Инспектор ошейник» 547–553
- КОЧЕТКОВ П.П., ВАРЛАМОВА А.И., АБРАМОВ В.Е., МИСЮРА Н.С., АБРАМОВА Е.В., АБРАМОВ С.В., КОШЕВАРОВ Н.И., АРХИПОВ И.А. Определение фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием 554–562
- СЕМЕНОВА М.В., КОВЕШНИКОВА Е.И. Оценка влияния препаратов аверсект форте и аверсект комби на эмбриональное развитие крыс 563–567

ПАЗАРИТОРЫ РАСТЕНИЙ

- БАБИЧ А.Г., БАБИЧ А.А. Концептуальные основы интегрированной защиты основных сельскохозяйственных культур от цистообразующих нематод 568–574
- УДАЛОВА Ж.В., ЗИНОВЬЕВА С.В. Индуцированная устойчивость растений как альтернатива химическим средствам защиты растений 575–582



CONTENTS

FAUNA, MORPHOLOGY AND SYSTEMATICS OF PARASITES

- AMIROV O.O., KARIMOVA R.R., SHAKARBOEV E.B., KUCHBOEV A.E., KUZNETSOV D.N. Nematodes of the digestive tract of domestic ruminants of Uzbekistan 439–446
- GAIPOVA M.E., AKRAMOVA F.D., SAPAROV K.A., AZIMOV D.A., SHAKARBAEV U.A. Fauna and ecology of helminths in cattle (*Bos taurus* Dom.) 447–453
- KUCHBOEV A.E., KARIMOVA R.R., RUZIEV B.Kh., SALAKHUTDINOV I.B., EGAMBERDIEV Sh.Sh. Morphological and molecular identification of some species of nematode of the family Protostrongylidae Leiper, 1926. 454–461
- ELMAJDOUB O.L., RAHMAN W.A., WAJDII M.F.F., SITI AZIZAH M.N. Molecular classification of *Echinococcus granulosus* strains from livestock animals in Libya 462–470

ECOLOGY AND BIOLOGY OF PARASITES

- MATYUKHIN A.V. The phoresy of the louse Mallophaga on the population of the louse-fly Hippoboscidae. 471–474

EPIZOOTOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND MONITORING OF PARASITIC DISEASES

- BELIMENKO V.V., SAMOYLOVSKAYA N.A., NOVOSAD E.V., KHRISTIANOVSKY P.I. GIS-based risk monitoring of zoonotic cestodiasis in human. 475–487
- KRIVOROTOVA E.Y., NAGORNY S.A. Areas of application of temperature based DDU models for dirofilariasis 488–495
- KRYAZHEV A.L. Ecology and epizootology of trematodosis in cattle, treatment and prevention in dairy cattle farms of Vologda region 496–501
- MINEEVA O.V. Parasites of the spiny loach *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758 (Pisces: Cobitidae) from Saratov Reservoir. 502–508
- SHIBITOV S.K., SAFIULLIN R.T. Prevalence of *Buxtonella sulcata* (Jameson, 1926) among cattle in the Kurgan region 509–514
- MOHAMMED SALEH AL-ABOODY. A cross-sectional of Gastro-Intestinal Helminthes of Ruminants by Coprological Examination 515–520

PATHOGENESIS, PATHOLOGY AND ECONOMIC DAMAGE

- GRISHINA E.A. The role of cytokines in the immunity development at helminthiasis 521–526

BIOCHEMISTRY, BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS

- BURENINA E.A. Nucleoside-diphosphatase of cestode *Bothriocephalus scorpii* (Cestoda: Bothriocephalidae). 527–532

TREATMENT AND PREVENTION

- MUSAEV Z.G., ABDULMAGOMEDOV S.Sh., KUROCHKINA K.G., MUSAEVA M.N., SHIHRAGIMOV A.M. Distribution and prevention of haemosporidia infections among the cattle in the Republic of Dagestan. 533–538
- SUSLOV V.V., ENGASHEVA E.S., KEDIK S.A., SHNYAK E.A., MAXIMOVA P.O. Prolonged forms of anthelmintic drugs 539–546

PHARMACOLOGY, TOXICOLOGY

- ARISOV M.V., GLAMAZDIN I.G., DYOMIN A.I., ARTEMOV V.V. Tolerability research of complex antiparasitic preparation «Inspector collar» 547–553
- KOCHETKOV P.P., VARLAMOVA A.I., ABRAMOV V.E., MISURA N.S., ABRAMOVA E.V., ABRAMOV S.B., KOSHEVAROV N.I., ARKHIPOV I.A. Determination of fenbendazole and its metabolites in milk by the method of liquid chromatography coupled with tandem mass-spectrometry 554–562
- SEMENOVA M.V., KOVESHNIKOVA E.I. Assessment of effects of drugs Aversect Forte and Aversect Combi on embryonic development of the rat 563–567

PARASITES OF PLANTS

- BABICH A.G., BABICH A.A. The conceptual basis of integrated, environmentally friendly system for the protection of major crops from cyst nematodes. 568–574
- UDALOVA Zh.V., ZINOVIEVA S.V. Induction of plant resistance to nematodes sedentary biogenic elicitors 575–582



ФАУНА, МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА ПАЗАРИТОВ

Поступила в редакцию 20.08.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:576.895.131
DOI: 10.12737/23067

Для цитирования:

Амиров О.О., Каримова Р.Р., Шакарбоев Э.Б., Кучбоев А.Э., Кузнецов Д.Н. Нематоды пищеварительной системы домашних жвачных Узбекистана // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 439–446

For citation:

Amirov O.O., Karimova R.R., Shakarboev E.B., Kuchboev A.E., Kuznetsov D.N. Nematodes of the digestive tract of domestic ruminants of Uzbekistan. Russian Journal of Parasitology. 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 439–446

НЕМАТОДЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДОМАШНИХ ЖВАЧНЫХ УЗБЕКИСТАНА

Амиров О.О.¹, Каримова Р.Р.¹, Шакарбоев Э.Б.¹, Кучбоев А.Э.¹, Кузнецов Д.Н.^{2,3}

¹Институт генофонда растительного и животного мира АН Республики Узбекистан, 100053, г. Ташкент, ул. Багишамол, д. 232, e-mail: a_kuchboev@rambler.ru

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

³Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119049, Москва, ул. Мятная, д. 28, корп. 1

Реферат

Цель исследования — изучение видового состава нематод пищеварительного тракта домашних жвачных Узбекистана, анализ сезонной динамики зараженности, выявление особенностей нематоценофауны в равнинной и предгорно-горной зонах.

Материалы и методы. В 2014–2015 гг. в хозяйствах Ташкентской, Сырдарьинской, Джизакской, Наманганской, Кашкадарьинской, Сурхандарьинской, Навоийской, Бухарской областей и Автономной Республики Каракалпакстан по методу полного гельминтологического вскрытия отдельных органов исследовано 878 голов мелкого и 206 голов крупного рогатого скота.

Результаты и обсуждение. У домашних жвачных Узбекистана зарегистрировано 30 видов нематод пищеварительного тракта, в том числе: у овец 28, у коз 26, у крупного рогатого скота 22 вида. Наиболее высокие показатели, как по экстенсивности инвазии (ЭИ), так и по интенсивности инвазии (ИИ), отмечены у *Ostertagia ostertagi*, *Marshallagia marshalli*, *Teladorsagia circumcincta*, *Parabronema skrjabini*. Для большинства обнаруженных видов нематод было характерно нарастание ЭИ и ИИ в летние и осенние месяцы. Однако у *O. ostertagi*, *T. circumcincta*, *Marshallagia spp.*, *P. skrjabini* ЭИ была относительно стабильна во все сезоны, а ИИ нарастала к осени. В равнинной зоне зарегистрировано 26 видов нематод, из них высокие показатели ЭИ и ИИ имеют лишь 3 вида. В предгорно-горной зоне зарегистрировано 28 видов нематод, высокие показатели ЭИ и ИИ имеют 8 видов. Для равнинной и предгорно-горной зон общими являются 24 вида нематод. Полученные результаты позволяют сделать вывод о необходимости более активной борьбы с гельминтозами жвачных в Узбекистане. Нельзя игнорировать мероприятия по смене пастбищ, регулированию выпаса, необходимо применять профилактические дегельминтизации, соблюдать оптимальные условия содержания и кормления животных.

Ключевые слова: овцы, козы, коровы, пищеварительная система, нематоды, Узбекистан.



Введение

Скотоводство играет важную роль в экономике Узбекистана, способствуя росту материального благополучия граждан и страны в целом. Отдельные виды продукции скотоводческой отрасли, такие как каракуль, хорошо известны и за пределами республики. Существенный урон скотоводству способны наносить гельминтозы, широкому распространению которых способствуют природно-климатические условия Узбекистана.

Сведения о видовом составе гельминтов домашних жвачных Узбекистана отражены в работах ряда авторов [1, 2, 9–11]. Согласно этим данным, наибольшим числом видов характеризуются представители класса Nematoda. Этим фактом обусловлена и обширность задач по изучению нематод домашнего скота в республике. Не до конца выясненными остаются вопросы, связанные с особенностями таксономического состава нематод жвачных на равнинных, предгорных и горных ландшафтах, имеется необходимость конкретизировать сезонную динамику зараженности жвачных различными видами нематод. Проведенные в последнее время таксономические ревизии, затронувшие главным образом нематод семейства Trichostrongylidae [7, 8, 12–16], также пока не были учтены в работах по видовому составу нематод жвачных Узбекистана.

Таким образом, всестороннее изучение нематодофауны домашних жвачных в республике остается актуальной задачей. Основными целями настоящего исследования были получение данных о видовом составе нематод пищеварительного тракта домашних жвачных Узбекистана, анализ сезонной динамики зараженности и выявление особенностей нематодофауны в различных географических зонах страны.

Материалы и методы

Исследования домашних жвачных были проведены в течение 2014–2015 гг. в личных подсобных и фермерских хозяйствах Ташкентской, Сырдарьинской, Джизакской, Наманганской, Кашкадарьинской, Сурхандарьинской, Навоийской, Бухарской областей и Автономной Республики Каракалпакстан. Желудочно-кишечный тракт жвачных был исследован по методу полного гельминтологического вскрытия отдельных органов [5]. Этим методом исследовано 878 голов мелкого рогатого скота (в том числе 611 овец и 267 коз) и 206 голов крупного рогатого скота.

Камеральную обработку материала проводили на базе Лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии, Лаборатории общей паразитологии Института генофонда растительного и животного мира АН РУз, Лаборатории систематики и эволюции паразитов Центра паразитологии ИПЭЭ РАН.

При определении таксономической принадлежности обнаруженных нематод руководствовались данными литературы [3, 4, 6, 13].

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований у домашних жвачных Узбекистана зарегистрировано 30 видов нематод пищеварительного тракта, в том числе: у овец 28, у коз 26, у крупного рогатого скота 22 вида. Наиболее высокие показатели, как по экстенсивности инвазии (ЭИ), так и по интенсивности инвазии (ИИ), отмечены у видов *Ostertagia ostertagi*, *Marshallagia marshalli*, *Teladorsagia circumcincta*, *Parabronema skrjabini* (табл. 1). У нематод из подсемейства Ostertagiinae наряду с доминирующими (мажорными) морфами в большинстве случаев были обнаружены и минорные морфы: *Ostertagia lyrata* (*O. ostertagi* f. minor), *Marshallagia occidentalis* (*M. marshalli* f. minor), *Teladorsagia trifurcata* (*T. circumcincta* f. minor), *Orloffia kasakhstanica* (*O. bisonis* f. minor).

При анализе сезонной динамики зараженности установлено, что для большинства видов нематод характерно нарастание ЭИ и ИИ в летние и осенние месяцы. Однако для представителей подсемейства Ostertagiinae (*O. ostertagi*, *T. circumcincta*, *Marshallagia* spp.), а также для *P. skrjabini* характерны относительно стабильные показатели ЭИ в весенний, летний и осенний периоды при нарастании показателей ИИ к осени.

Нашими исследованиями были охвачены 8 из 12 областей Узбекистана и Автономная Республика Каракалпакстан. Обследованные территории принадлежат к равнинному и предгорно-горному гельминтогеографическим комплексам. В структуре нематодофауны жвач-



Таблица 1

Сезонная динамика зараженности домашних жвачных Узбекистана
нематодами пищеварительной системы

№ п/п	Семейство и вид нематод	Сезоны года					
		Весна		Лето		Осень	
		ЭИ, %	ИИ, экз.	ЭИ, %	ИИ, экз.	ЭИ, %	ИИ, экз.
Trichocephalidae							
1	<i>Trichocephalus ovis</i>	1,2	1–4	3,8	2–9	14,7	3–12
2	<i>T. skrjabini</i>	1,7	1–6	4,7	2–10	17,3	4–14
Syphaciidae							
3	<i>Skrjabinema ovis</i>	1,1	2–4	2,5	2–6	3,3	2–9
Ancylostomatidae							
4	<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	0,7	3–9	1,1	5–24	1,7	6–43
5	<i>B. phlebotomum</i>	0,9	3–11	1,3	5–26	1,9	8–51
Chabertiidae							
6	<i>Chabertia ovina</i>	0,9	1–16	7,3	3–39	14,3	7–65
7	<i>Oesophagostomum venulosum</i>	1,2	1–12	1,7	1–19	1,7	1–28
Trichostrongylidae							
8	<i>Trichostrongylus axei</i>	3,1	1–17	12,8	3–23	18,9	5–64
9	<i>Tr. colubriformis</i>	1,3	1–7	4,7	3–20	7,4	4–37
10	<i>Tr. probolurus</i>	1,0	3–4	3,8	5–7	6,3	5–14
11	<i>Tr. vitrinus</i>	2,3	2–5	6,4	6–10	8,7	5–40
12	<i>Tr. capricola</i>	1,8	1–8	3,7	3–21	7,8	5–38
13	<i>Tr. skrjabini</i>	2,6	2–6	9,3	6–22	15,6	5–47
14	<i>Haemonchus contortus</i>	2,3	14–16	5,6	16–20	13,7	18–53
15	<i>H. placei</i>	1,8	10–14	4,3	15–18	10,5	16–46
16	<i>Ostertagia ostertagi</i>	45,4	5–109	48,9	7–203	57,6	8–303
17	<i>O. gruehneri</i>	8,5	1–38	10,7	3–98	18,2	5–147
18	<i>Marshallagia marshalli</i>	49,7	4–78	52,1	16–192	58,1	20–228
19	<i>M. mongolica</i>	18,2	4–37	21,8	7–56	24,5	6–81
20	<i>M. dentispicularis</i>	16,3	1–18	22,1	4–27	23,4	5–39
21	<i>M. schumakovitschi</i>	19,5	3–14	22,2	4–28	26,8	3–42
22	<i>Orloffia bisonis</i>	6,5	1–9	6,9	2–10	11,2	3–61
23	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	47,8	3–105	50,4	7–155	55,4	8–187

№ п/п	Семейство и вид нематод	Сезоны года					
		Весна		Лето		Осень	
		ЭИ, %	ИИ, экз.	ЭИ, %	ИИ, экз.	ЭИ, %	ИИ, экз.
24	<i>Nematodirus abnormalis</i>	2,8	2–6	3,7	5–16	8,2	8–35
25	<i>N. helveticus</i>	2,9	2–8	4,3	6–17	9,6	9–39
26	<i>N. oiratianus</i>	3,7	2–10	5,6	6–21	10,8	10–48
27	<i>N. spathiger</i>	4,5	2–10	6,7	7–23	12,3	14–72
Habronematidae							
28	<i>Parabronema skrjabini</i>	44,2	5–52	52,1	8–146	56,7	18–223
Gongylonematidae							
29	<i>Gongylonema pulchrum</i>	0,5	1	2,4	1–7	4,9	3–12
Onchocercidae							
30	<i>Setaria labiato-papillosa</i>	1,9	1	8,5	2–23	12,1	6–39

ных этих комплексов выявлены определенные различия (табл. 2). Равнинная зона, включающая пустыню Кызылкум, плато Устюрт, Каршинскую, Сурхан-Шерабадскую и Джизакскую степи, занимает значительную часть территории Узбекистана. Эти местности с древности используют в качестве пастбищ для отгонного животноводства. Нематоды жвачных равнинного гельминтогеографического комплекса представлены 26 видами, из них преобладающими можно считать лишь 3 вида. Предгорно-горная зона, занимающая 24,5% территории Узбекистана, имеет более благоприятный климат и значительно превосходит равнинную зону по продуктивности пастбищ. Однако, природные условия предгорно-горной зоны благоприятны также и для распространения гельминтозов [2]. В предгорно-горном комплексе зарегистрировано 28 видов нематод, причем 8 видов характеризуются довольно высокими показателями зараженности. Нематодофауна двух обследованных гельминтофаунистических комплексов имеет довольно высокую степень общности: 24 вида нематод зарегистрированы и в равнинном, и в предгорно-горном комплексах.

Из 30 обнаруженных нами видов нематод подавляющее большинство (27) являются геогельминтами и лишь 3 вида — биогельминты. Таким образом, эпизоотический процесс при нематодозах жвачных Узбекистана может быть охарактеризован как двух- или трехкомпонентная система. В двухкомпонентной системе в циклах развития участвуют популяции возбудителей (нематоды семейств Trichoscephalidae, Syphacidae, Ancylostomidae, Chabertidae, Trichostrongylidae) и восприимчивые животные (жвачные). В трехкомпонентной системе участвуют нематоды (семейств Habronematidae, Gongylonematidae, Onchocercidae), а также популяции промежуточных хозяев (членистоногие) и дефинитивных хозяев (жвачные).

На протекание эпизоотического процесса определенное влияние оказывают и антропогенные факторы. Так, отмечаемый в последние годы рост зараженности домашних жвачных парабронемами связывают с ослаблением мер борьбы с зоофильными мухами и увеличением числа смешанных стад, где овцы и козы контактируют с верблюдами — основными источниками этой инвазии [9].

В условиях Узбекистана, как и во многих других регионах, заражение животных гельминтами происходит главным образом на пастбищах, где обитают промежуточные хозяева, а яйца и личинки паразитов имеют благоприятные условия для развития. В связи с этим, необходимо активизировать пастбищную профилактику гельминтозов жвачных, не игнорировать такие мероприятия, как смена пастбищ, регулирование выпаса, профилактические дегельминтизации, соблюдение оптимальных условий содержания и кормления животных.



Таблица 2

Видовой состав нематод пищеварительной системы домашних жвачных
в равнинном и предгорно-горном гельминтогеографических
комплексах Узбекистана

№ п/п	Семейство и вид нематод	Гельминтогеографический комплекс	
		равнинный	предгорно-горный
Trichocephalidae			
1	<i>Trichocephalus ovis</i>	+	+
2	<i>Trichocephalus skrjabini</i>	+	+
Syphaciidae			
3	<i>Skrjabinema ovis</i>	+	+
Ancylostomatidae			
4	<i>Bunostomum trigonocephalum</i>	+	++
5	<i>B. phlebotomum</i>	+	++
Chabertiidae			
6	<i>Chabertia ovina</i>	+	++
7	<i>Oesophagostomum venulosum</i>	+	+
Trichostrongylidae			
8	<i>Trichostrongylus axei</i>	+	+
9	<i>T. colubriformis</i>	–	+
10	<i>T. probolurus</i>	–	+
11	<i>T. vitrinus</i>	+	++
12	<i>T. capricola</i>	–	+
13	<i>T. skrjabini</i>	+	+
14	<i>Haemonchus contortus</i>	++	++
15	<i>H. placei</i>	+	+
16	<i>Ostertagia ostertagi</i>	+	+
17	<i>O. gruehneri</i>	+	++
18	<i>Marshallagia marshalli</i>	++	++
19	<i>M. mongolica</i>	+	+
20	<i>M. dentispicularis</i>	–	+
21	<i>M. schumakovitschi</i>	+	+
22	<i>Orloffia bisonis</i>	+	+
23	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	+	+
24	<i>Nematodirus abnormalis</i>	+	+
25	<i>N. helvetianus</i>	+	++
26	<i>N. oiratianus</i>	+	+
27	<i>N. spathiger</i>	+	+



Окончание таблица 2

№ п/п	Семейство и вид нематод	Гельминтогеографический комплекс	
		равнинный	предгорно-горный
Habronematidae			
28	<i>Parabronema skrjabini</i>	++	–
Gongylonematidae			
29	<i>Gongylonema pulchrum</i>	+	–
Onchocercidae			
30	<i>Setaria labiato-papillosa</i>	+	+

Примечание: ++ преобладает; + незначительное распространение; — отсутствует

Благодарность

Работа выполнена в рамках прикладного проекта ФА-А8-Т004 Академии наук Республики Узбекистан.

Литература

1. Асадов С.М. Гельминтофауна жвачных животных СССР и ее эколого-географический анализ. — Баку: Изд. АН АзССР, 1960. — 511 с.
2. Дадаев С.Д. Гельминты позвоночных подотряда Ruminantia Scopoli, 1777 фауны Узбекистана: автореф. дис. ... д-ра биол. наук — Ташкент, 1997. — 37 с.
3. Ивашкин В.М., Мухамадиев С.А. Определитель гельминтов крупного рогатого скота. — М.: Наука, 1981. — 260 с.
4. Ивашкин В.М., Орипов А.О., Сонин М.Д. Определитель гельминтов мелкого рогатого скота. — М.: Наука, 1989. — 255 с. 5. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды. — М.: Колос, 1984. — 208 с.
6. Кузнецов Д.Н. Методика дифференциации нематод подсемейства Ostertagiinae // Тр. Всерос. ин-та гельминтол. — 2006. — Т. 43. — С. 271–278.
7. Кузнецов Д.Н. Результаты сравнительного изучения спейсерных участков рибосомальной ДНК *Teladorsagia circumcincta* и *T. trifurcata* (Nematoda: Ostertagiinae) // Российский паразитологический журнал. — 2009. — № 2. — С. 16–23.
8. Кузнецов Д.Н. К вопросу о консpezifичности *Ostertagia ostertagi* и *Ostertagia lyrata* (Nematoda: Ostertagiinae) // Паразитология. — 2010. — Т. 44 (3). — С. 226–231.
9. Кучбоев А.Э., Амиров О.О., Шакарбоев Э.Б. Каримова Р.Р., Голованов В.И., Абраматов М.Б., Кузнецов Д.Н. Эпизоотология парабронемоза домашних жвачных Узбекистана // Ветеринария. — 2016. — № 4. — С. 28–31.
10. Орипов А.О. Трихостронгилидозы овец в Узбекистане и меры борьбы с ними: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. — Москва, 1983. — 35 с.
11. Султанов М.А., Азимов Д.А., Гехтин В.И., Муминов П.А. Гельминты домашних млекопитающих Узбекистана. — Ташкент: Фан, 1975. — 184 с.
12. Dallas J.F., Irvine R.J., Halvorsen O. DNA evidence that *Marshallagia marshalli* Ransom, 1907 and *M. occidentalis* Ransom, 1907 (Nematoda: Ostertagiinae) from Svalbard reindeer are conspecific. Int. J. Parasitol., 2001, V. 50 (2), pp. 101–103.
13. Drozd J. Polymorphism in the Ostertagiinae Lopez-Neyra, 1947 and comments on the systematics of these nematodes. Syst. Parasitol., 1995, V. 32, pp. 91–99.
14. Kuznetsov D.N. Taxonomic revision of the genus *Orloffia* (Nematoda: Ostertagiinae) based on an ITS-2 rDNA study. Biology Bulletin, 2011, V. 38 (6), pp. 608–614. DOI: 10.12737/23 10.1134/S1062359011060070
15. Stevenson L.A., Gasser R.B., Chilon N.B. The ITS-2 rDNA of *Teladorsagia circumcincta*, *T. trifurcata* and *T. davtiani* (Nematoda: Trichostrongyloidea) indicates that these taxa are one species. Int. J. Parasitol., 1996, V. 26 (10), pp. 1123–1126.
16. Zarlenga D.S., Hoberg E.P., Stringfellow F., Lichtenfels J.R. Comparisons of two polymorphic species of *Ostertagia* and phylogenetic relationships within the Ostertagiinae (Nematoda: Trichostrongyloidea) inferred from ribosomal DNA repeat and mitochondrial DNA sequences. J. Parasitol., 1998, V. 84 (4), pp. 806–812.



References

1. Asadov S.M. *Gel'mintofauna zhvachnyh zhyvotnyh SSSR i ee ekologo-geograficheskiy analiz*. [The helminth fauna of ruminants in USSR and it's ecological and geographical analysis]. Baku, Publ. of Azerbaijan Academy of Sciences, 1960. 511 p. (in Russian)
2. Dadaev S.D. *Gel'minty pozvonochnyh podotryada Ruminantia Scopoli, 1777 fauny Uzbekistana: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk* The helminths in vertebrates of the suborder *Ruminantia Scopoli, 1777* of Uzbekistan fauna. Abst. doct. diss... biol. sci.]. Tashkent, 1997. 37 p. (in Russian)
3. Ivashkin V.M., Muhamadiev S.A. *Opredelitel' gel'mintov krupnogo rogatogo skota*. [Determinant of cattle helminths]. M., Nauka, 1981. 260 p. (in Russian)
4. Ivashkin V.M., Oripov A.O., Sonin M.D. *Opredelitel' gel'mintov melkogo rogatogo skota* [Determinant of helminths in small cattle]. Moscow, Nauka, 1989. 256 p. (in Russian)
5. Kotel'nikov G.A. *Gel'mintologicheskie issledovaniya zhyvotnyh i okruzhayushhey sredy* [Helminthological studies of animals and environment]. M., Kolos, 1984. 208 p. (in Russian)
6. Kuznetsov D.N. A method for differentiation of nematodes of subfamily Ostertagiinae. *Tr. Vseros. in-ta gel'mintol.* [Proc. of All-Russian Institute of Helminthology named after K. I. Skryabin], 2006, vol. 43, pp. 271–278. (in Russian)
7. Kuznetsov D.N. Comparative study of spacer rDNA domains of *Teladorsagia circumcincta* and *T. trifurcata* (Nematoda: Ostertagiinae). *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2009, no. 2, pp. 16–23. (in Russian)
8. Kuznetsov D.N. On the conspecificity of *Ostertagia ostertagi* and *Ostertagia lyrata* (Nematoda: Ostertagiinae). *Parazitologiya* [Parasitology], 2010, vol. 44 (3), pp. 226–231. (in Russian)
9. Kuchboev A.E., Amirov O.O., Shakarboev E.B., Karimova R.R., Golovanov V.I., Abramotov M.B., Kuznetsov D.N. The epizootology of parabroneosis of domestic ruminants in Uzbekistan. [Veterinary Medicine], 2016, no. 4, pp. 28–31. (in Russian)
10. Oripov A.O. *Trihostrongilidozy ovets v Uzbekistane i mery bor'by s nimi. avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk*. [Trichostrongylidosis of sheep in Uzbekistan and measures for control of them. Abst. doct. diss... vet. sci.]. M., 1983. 35 p. (in Russian)
11. Sultanov M.A., Azimov D.A., Gehtin V.I., Muminov P.A. *Gel'minty domashnih mlekopitayushhih Uzbekistana*. [Helminths in domestic mammals of Uzbekistan]. Tashkent, Fan, 1975. 184 p. (in Russian)
12. Dallas J.F., Irvine R.J., Halvorsen O. DNA evidence that *Marshallagia marshalli* Ransom, 1907 and *M. occidentalis* Ransom, 1907 (Nematoda: Ostertagiinae) from Svalbard reindeer are conspecific. *Int. J. Parasitol.*, 2001, vol. 50 (2), pp. 101–103.
13. Drozd J. Polymorphism in the Ostertagiinae Lopez-Neyra, 1947 and comments on the systematics of these nematodes. *Syst. Parasitol.*, 1995, vol. 32, pp. 91–99.
14. Kuznetsov D.N. Taxonomic revision of the genus *Orloffia* (Nematoda: Ostertagiinae) based on an ITS-2 rDNA study. *Biology Bulletin*, 2011, vol. 38 (6), pp. 608–614. DOI: 10.12737/23 10.1134/S1062359011060070
15. Stevenson L.A., Gasser R.B., Chilon N.B. The ITS-2 rDNA of *Teladorsagia circumcincta*, *T. trifurcata* and *T. davtiani* (Nematoda: Trichostrongylidae) indicates that these taxa are one species. *Int. J. Parasitol.*, 1996, vol. 26 (10), pp. 1123–1126.
16. Zarlenga D.S., Hoberg E.P., Stringfellow F., Lichtenfels J.R. Comparisons of two polymorphic species of *Ostertagia* and phylogenetic relationships within the Ostertagiinae (Nematoda: Trichostrongyloidea) inferred from ribosomal DNA repeat and mitochondrial DNA sequences. *J. Parasitol.*, 1998, vol. 84 (4), pp. 806–812.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23067

Received 20.08.2016

Accepted 28.11.2016

NEMATODES OF THE DIGESTIVE TRACT OF DOMESTIC RUMINANTS IN UZBEKISTAN

Amirov O.O.¹, Karimova R.R.¹, Shakarboev E.B.¹, Kuchboev A.E.¹, Kuznetsov D.N.^{2,3}

¹Institute of the Gene Pool of Plants and Animals, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 232, Bogishamol St., Tashkent, 100053, Uzbekistan, e-mail: amirovoybek@rambler.ru

²The All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218, Moscow, B. Cheremushkinskaya St., 28, e-mail: dkuznetsov@mail.ru

³Center of Parasitology of A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, 119049, Moscow, Mytnaya St., 28, build. 1

Abstract

Objective of research. A study of species composition of nematodes parasitizing the digestive system of domestic ruminants in Uzbekistan, analysis of seasonal dynamics of infestation and features of the nematode fauna in plains and foothill-mountain areas.

Material and methods. In the period of 2014–2015, the digestive tracts of 206 head of cattle and 878 head of small cattle from the farms of Tashkent, Syr-Darya, Dzhizak, Namangan, Kashkadarya, Surkhandarya, Navoiy and Bukhara regions as well as Karakalpakstan autonomous republic were investigated by the method of full helminthological dissection.

Results and discussion. 30 nematode species were found in digestive tracts of domestic ruminants of Uzbekistan; 28 nematode species in sheep, 26 species in goats, and 22 species in cattle. The highest rates of extensity of infection (EI) and intensity of infection (II) were detected in *Ostertagia ostertagi*, *Marshallagia marshalli*, *Teladorsagia circumcincta* and *Parabronema skrjabini*. An increase of EI and II in summer and autumn period was typical for the most of the discovered nematode species.

However, EI in *O. ostertagi*, *T. circumcincta*, *Marshallagia* spp. and *P. skrjabini* was relatively stable in all seasons, but II increased to autumn. 26 nematode species were registered in plains; only 3 of them with high EI and II.

28 nematode species were registered in foothill-mountain areas, 8 of them showed high rates of EI and II. 24 species of nematodes are common in both areas.

The obtained results allow us to conclude that it is necessary to improve helminth control of ruminants in Uzbekistan. Alternation of pastures and regulation of grazing, as well as preventive dehelminthization should not be ignored; observe the optimal requirements for feeding and management of animals.

Keywords: sheep, goats, cows, digestive system, nematodes, Uzbekistan.

© 2016 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 (CA-BI.org/Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



ФАУНА, МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА ПАРАЗИТОВ

Поступила в редакцию 17.01.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:576.895.1
DOI: 10.12737/23068

Для цитирования:

Гаипова М.Э., Акрамова Ф.Д., Сапаров К.А., Азимов Д.А., Шакарбаев У.А. Фауна и экология гельминтов крупного рогатого скота (*Bos taurus dom.*) Центрального Узбекистана // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38 — Вып. 4. — С. 447–453

For citation:

Gaipova M.E., Akramova F.D., Saparov K.A., Azimov D.A., Shakarbaev U.A. Fauna and ecology of helminths in cattle (*Bos taurus Dom.*) of Central Uzbekistan // Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 447–453

ФАУНА И ЭКОЛОГИЯ ГЕЛЬМИНТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (*BOS TAURUS DOM.*) ЦЕНТРАЛЬНОГО УЗБЕКИСТАНА

Гаипова М.Э.¹, Акрамова Ф.Д.², Сапаров К.А.³, Азимов Д.А.², Шакарбаев У.А.²

¹Ташкентский государственный аграрный университет, Узбекистан

²Институт генофонда растительного и животного мира АН РУз, 100053, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Богишамол, 232, e-mail: ushakarbaev@mail.ru

³Ташкентский государственный педагогический университет, Узбекистан

Реферат

Цель исследования — изучение фауны и экологии гельминтов крупного рогатого скота Центрального Узбекистана.

Материалы и методы. Методом полных и неполных гельминтологических вскрытий исследован крупный рогатый скот. Собранных цестод, трематод и нематод изучали общепринятыми методами. В работе использованы также личинки трематод и нематод доминирующих видов паразитов, обнаруженных у промежуточных хозяев (моллюсков, муравьев и двукрылых насекомых).

Результаты и обсуждение. У крупного рогатого скота Центрального региона Узбекистана выявлено 32 вида гельминтов, из них 5 видов принадлежат к классу Cestoda, 6 — Trematoda и 21 — Nematoda. По характеру локализации гельминтов в организме хозяина охарактеризованы три группы сообществ паразитов.

Ключевые слова: цестоды, трематоды, нематоды, промежуточные хозяева, личинки, крупный рогатый скот, Узбекистан.

Введение

У крупного скота на обширной территории Узбекистана зарегистрировано около 80 видов гельминтов трех классов. Они представлены цестодами (12 видов), трематодами (12) и нематодами (47) [1]. Большое внимание уделяется учеными анализу видовой разнообразия паразитических червей у крупного рогатого скота северо-западного, северо-восточного, восточного и южного регионов Узбекистана где в разные годы проводились исследования рядом авторов [4, 5, 15, 16].

Несмотря на то, что паразиты у крупного рогатого скота в указанных выше регионах Узбекистана изучены достаточно хорошо, гельминтозы у животных в Центральном регионе Узбекистана слабо освещены. Как показывают результаты исследований последних лет [12, 13], зараженность крупного рогатого скота нематодами в хозяйствах Центрального региона Узбекистана достаточно высока. Это и побудило нас изучить фауну и экологию крупного рогатого скота, составляющего основу животноводства Узбекистана.

Материалы и методы

Вскрытие крупного рогатого скота Самаркандской, Бухарской и Навоийской областей проводили на убойных пунктах животноводческих хозяйств, мясокомбинатах в 2012–2016 гг. Методом полных гельминтологических вскрытий исследовано 25 животных из всех природных зон региона. Кроме того, исследовано также 326 комплектов отдельных органов этих животных.

При определении гельминтов мы пользовались руководствами отечественных и зарубежных авторов [1, 2, 8].

С целью выяснения круга промежуточных хозяев доминирующих видов трематод и нематод исследовано большое число беспозвоночных (двукрылые, муравьи, моллюски) общепринятыми методами [2, 3, 6, 7, 9–11] в период их активности — весной, летом и осенью каждого года.

Всего исследовано 10157 экз. беспозвоночных в местах концентрации крупного рогатого скота, из них двукрылые составили 3604 экз., муравьи 1000, пресноводные моллюски 3978 и наземные моллюски 1575 экз.

Результаты и обсуждение

Установлено, что гельминты крупного рогатого скота в Центральном регионе Узбекистана представлены 32 видами; из них 5 видов принадлежат классу Cestoda, 6 — классу Trematoda и 21 — классу Nematoda. Зараженность животных составила цестодами 27,3%, трематодами 46,1 и нематодами 89,3% (табл. 1. рис.).

Представители пяти видов цестод Cyclophillida Beneden in Braun², 1900 в исследованном регионе отмечены в единичных экземплярах в Самаркандской, Бухарской и Навоийской областях. *Monezia benedeni* (Moniez, 1879) и *M. expansa* (Rudolphi, 1810) обнаружены в тонком отделе кишечника у крупного рогатого скота разного возраста в равнинной зоне региона. Три вида *Taenia hydatigena* (Pallas, 1766), *Taeniarhynchus saginatus* (Goeze, 1782) и *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) представлены личиночными стадиями цестод как в равнинной, так и в предгорной зонах. Инвазированность животных указанными цестодами по областям колебалась от 22,2 до 35,0%.

Таблица 1

Инвазированность крупного рогатого скота гельминтами в разрезе областей исследованного региона

Заражено, %		
цестодами	трематодами	нематодами
Самаркандская область		
35,0	65,2	94,8
Бухарская область		
24,8	24,4	84,6
Навоийская область		
22,2	48,7	89,0
По региону		
27,3	46,1	89,3

Трематоды представлены видами из отрядов Fasciolida Skrjabin et Guschanskaja, 1962 (2 вида), Paramphistomida Skrjabin et Schulz, 1937 (3 вида) и Plagiorchiida La Rue, 1957 (1 вид). Зараженность исследованных животных колебалась в пределах 24,4–65,2%. Наибольшая инвазированность отмечена в увлажненных территориях Самаркандской области (65,2%) при достаточно высокой интенсивности инвазии. У отдельных животных Пайарикского, Булунгурского, Иштыханского и Каттакурганского районов найдены фасциолы (*F. hepatica*, *F. gigantica*) в количестве от 13 до 353 экз.

Paramphistomida у животных региона представлен тремя видами (*Paramphistomum ichikawai*, *Calicophoron calicophorum*, *Liorchis scotiae*), которые отмечены в единичных экземплярах.



В исследуемом регионе отряд Plagiorchiida представлен одним видом *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819), который обнаружен в ряде районов Самаркандской и Навоийской областей. Экстенсивность инвазии в исследованных районах Самаркандской области колебалась в пределах 60,0–70,0% при интенсивности инвазии от 15 до 288 экз.

Наибольшим видовым разнообразием в Центральном регионе характеризуется класс Nematoda. Нами у крупного рогатого скота зарегистрирован 21 вид из 5 отрядов. Широко представлены нематоды отрядов Strongylida (Railliet et Henry, 1913) (11 видов) и Spirurida (Railliet, 1914) (6 видов) (рис.). Отмеченные нами нематоды зарегистрированы практически во всех исследованных областях региона. Общая зараженность животных нематодами составляет 89,3% при интенсивности инвазии от единиц до сотен экземпляров.

Класс	Отряд	Семейство	Вид
Cestoda	Cyclophillida	Anoplocephalidae	<i>Monezia benedeni</i> <i>M. expansa</i>
		Taeniidae	<i>Taenia hydatigena</i> (larvae) <i>Taeniarhynchus saginatus</i> (larvae) <i>Echinococcus granulosus</i> (larvae)
Trematoda	Fasciolida	Fasciolidae	<i>Fasciola hepatica</i> <i>F. gigantica</i>
	Paramphistomida	Paramphistomidae	<i>Paramphistomum ichikawai</i> <i>Calicophoron calicophorum</i> <i>Liorchis scotiae</i>
	Plagiorchiida	Dicrocoeliidae	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>
Nematoda	Trichocephalida	Trichocephalidae	<i>Trichocephalus ovis</i> <i>T. skrjabini</i>
	Rhabditida	Strongyloididae	<i>Strongyloides papillosus</i>
	Strongylida	Chabertidae	<i>Chabertia ovina</i> <i>Oesophagostomum radiatum</i>
		Trichostrongylidae	<i>Trichostrongylus axei</i> <i>T. vitrinus</i> <i>Haemonchus placei</i> <i>H. contortus</i> <i>Marshallagia marshalli</i> <i>Nematodihus helvetianus</i> <i>N. oiratianus</i> <i>Ostertagia ostertagi</i> <i>Teladorsagia circumcincta</i>
	Pseudaliida ²	Dictyocaulidae	<i>Dictyocaulus viviparus</i>
	Spirurida	Gongylonematidae	<i>Gongylonema pulchrum</i>
		Habronematidae	<i>Parabronema skrjabini</i>
		Thelaziidae	<i>Thelazia rhodesi</i>
		Onchocercidae	<i>Onchocerca lienalis</i>
		Setariidae	<i>Setaria labiatopapillosa</i>
	Stephanofiliariidae	<i>Stephanofilaria stilesi</i>	

Рис. 2. Таксономический состав и видовое разнообразие гельминтов крупного рогатого скота в исследованном регионе[□]

Таким образом, фауна гельминтов крупного рогатого скота Центрального региона Узбекистана представлена 32 видами, что мало отличается от таковой других регионов Узбекистана [1, 5, 15, 16].

Значительному распространению паразитических червей в исследованном регионе способствуют благоприятные для развития и сохранения инвазионных элементов абио-

тические и биотические факторы, обуславливающие циркуляцию паразитов в природных и урбанизированных территориях.

Важным звеном в распространении ряда видов гельминтов является наличие промежуточных хозяев, роль которых выполняют представители как беспозвоночных, так и позвоночных животных (табл. 2).

Таблица 2

Промежуточные хозяева доминирующих паразитов у крупного рогатого скота в исследованном регионе

Семейство	Число видов	Промежуточные хозяева	
		первые	вторые
Fasciolidae	2	Lymnaeidae	
Paramphistomidae	3	Planorbidae	
Dicrocoeliidae	1	Hydromiidae Bradybaenidae	Formicidae
Anoplocephalidae	3	Oribatidae	
Taeniidae	3	Bovidae	
Habronematidae	1	Muscidae	
Onchocercidae	1	Simulidae	
Setariidae	1	Culicidae	

В конкретном случае расселительную функцию паразитов могут выполнять мигрирующие животные — обитатели водных и наземных ценозов. Об этом свидетельствует значительная зараженность животных, выполняющих роль промежуточных хозяев паразитических червей.

Общая зараженность моллюсков в водоемах Самаркандской области личинками фасциол составила 1,09% и Melanoididae 2,05%, зараженность Planorbidae личинками парамфистом и каликофор — 0,6%. В наземных моллюсках Hydromiidae и Bradybaenidae зарегистрированы церкарии *Dicrocoelium dendriticum*, а в муравьях — метцеркарии этой трематоды.

У представителей Diptera мы находили личинок нематод *Parabronema skrjabini*, *Onchocerca lienalis* и *Setaria labiatopapillosa* (табл. 3).

Таблица 3

Естественная зараженность некоторых беспозвоночных — промежуточных хозяев личинками гельминтов крупного рогатого скота

Беспозвоночные	Исследовано, экз.	Заражено, %		
		число, экз.	трематодами	нематодами
Lymnaeidae	1002	12	1,09	
Planorbidae	1001	6	0,6	
Physidae	1010	—	—	
Melanoididae	965	25	2,05	
Hydromiidae	850	12	1,03	
Bradybaenidae	725	6	0,8	
Formicidae	1000	10	0,3	
Muscidae	1200	16		1,3
Simulidae	1200	8		0,7
Culicidae	1204	16		1,33

Приведенные материалы свидетельствуют об относительной стабильности биоценологических связей компонентов систем «цестоды — животные», «трематоды — животные» и «нематоды — животные», которые обеспечивают циркуляцию инвазии в условиях Центрального региона Узбекистана.



Полученные нами данные по количественному составу фауны гельминтов крупного рогатого скота Центрального региона Узбекистана с учетом их биологии, жизненных циклов и экологии позволяют выделить следующие типы сообществ:

- 1) гельминты, паразитирующие в пищеварительном тракте;
- 2) гельминты, паразитирующие в паренхиматозных органах и мышцах;
- 3) гельминты, паразитирующие в полостях и под кожей.

В целом, сообщества гельминтов первой группы исследуемого региона включают популяции большинства видов (21). Цестоды составляют 2 вида, трематоды 3 и нематоды 16 (рис. 2).

Сообщество второй группы состоит из личиночных стадий цестод *Taeniarhynchus saginatus*, *Echinococcus granulosus*, половозрелых трематод *Fasciola hepatica*, *F. gigantica*, *Dicrocoelium dendriticum* и нематод *Dictyocaulus viviparus*.

К третьей группе сообществ следует отнести *Taenia hydatigena* (larvae), *Thelazia rhodesi*, *Setaria labiatopapillosa*, *Onchocerca lienalis* и *Stephanofilaria stilesi* (рис. 2).

Распределение сообществ гельминтов в регионе зависит от множества факторов и современного экологического фона. Здесь наблюдается доминирование паразитов первого типа сообщества, т. е. паразитов пищеварительной системы.

В настоящее время отмечена тенденция широкого распространения ряда гельминтозов у крупного рогатого скота в регионе и ухудшения эпизоотической ситуации. В хозяйствах, расположенных в поймах рек и вблизи водоемов у животных регистрируют энзоотические вспышки фасциолёза и парамфистомоза. Экстенсивность дикроцелиозной инвазии возрастает в хозяйствах предгорной зоны. В зоне равнин заметно повышается инвазированность животных парабронхами, онхоцерками, сетариями. Из личиночных тениидозов следует отметить эхинококкоз и тениаринхоз, которые остаются проблемой ветеринарии и медицины и в настоящее время.

Все это предполагает проведение мониторинга паразитарных болезней и совершенствование методов их диагностики и профилактики.

Заключение

Видовое разнообразие гельминтов у крупного рогатого скота Центрального региона Узбекистана представлено достаточно богато. Доминирующими по видовому составу гельминтов в исследуемом регионе являются представители отрядов Strongylida и Spirurida; среди них наиболее заметными в сообществах нематод являются виды семейства Trichostrongylidae.

Наиболее патогенными являются представители семейств Taeniidae (личинки) и Fasciolidae, Dicrocoeliidae, которые и в настоящее время представляют важную проблему ветеринарии и медицины.

Работа выполнена в рамках фундаментальных исследований Ф5-ФА-0-18691 Академии наук Республики Узбекистан.

Литература

1. Азимов Д.А., Дадаев С.Д., Акрамова Ф.Д., Сапаров К.А. Гельминты жвачных животных Узбекистана. — Ташкент: Фан, 2015. — 224 с.
2. Anderson R.C. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. New York: CABI, 2000, 672 p.
3. Агринский Н.И. Насекомые и клещи, вредящие сельскохозяйственным животным. — М., 1962. — 289 с.
4. Гехтин В.И. О гельминтофауне крупного рогатого скота Каракалпакской АССР // Полезные и вредные беспозвоночные животные Узбекистана. Ташкент, 1967. — С. 116–120.
5. Дадаев С.Д. Гельминты позвоночных подотряда Ruminantia Scopoli, 1777 фауны Узбекистана: автореф. дис. ...д-ра биол. наук. — Ташкент, 1997. — 56 с.
6. Жадин В.И. Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. — М.—Л.: Изд-во АН СССР, 1952. — С. 164–180.
7. Здун В.И. Личинки трематод в прісноводных моллюскібі України ССР. — Киев: Вид-во АН УРСР, 1961. — 143 с.
8. Ивашкин В.М., Мухамадиев С.А. Определитель гельминтов крупного рогатого скота. — М., 1981. — 260 с.



9. Круглов Н.Д. Моллюски семейства прудовиков Европы и Северной Азии. — Смоленск: Изд. СГПУ, 2005. — 508 с.
10. Лихарев И.М., Раммельмейер Е. С. Наземные моллюски фауны СССР. Определители по фауне СССР. — М.–Л., 1952. — Вып. 43. — 512 с.
11. Пазилов А., Азимов Д.А. Наземные моллюски (Gastropoda, Pulmonata) Узбекистана и сопредельных территорий. — Ташкент: Фан, 2003. — 316 с.
12. Сапаров К.А., Голованов В.И., Акрамова Ф.Д., Шакарбоев Э.Б., Азимов Д.А. Эколого-фаунистический анализ нематод подотряда Filariata — паразитов млекопитающих Узбекистана // Российский паразитологический журнал. — М., 2012. — № 4. — С. 29–37.
13. Сапаров К.А. Фауна, распространение и экология филляриат птиц и млекопитающих Узбекистана: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Ташкент, 2016. — 66 с.
14. Скрыбин К.И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. — М.–Л.: МГУ, 1928. — 45 с.
15. Султанов М.А., Муминов П.А., Сарысаков Ф.С. и др. Паразитические черви животных Ферганской долины. — Ташкент: Фан, 1971. — 268 с.
16. Султанов М.А., Азимов Д.А., Гехтин В.И., Муминов П.А. Гельминты домашних млекопитающих Узбекистана. — Ташкент: Фан, 1975. — 184 с.

References

17. Agrinskiy N.I. *Nasekomye i kleshchi, vredyashchie selskohozyaystvennym zhyvotnym* [Insects and ticks damaging agricultural animals]. M., 1962. 289 p. (In Russian)
18. Anderson R.C. *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. New York, CAB, 2000. 672 p.
19. Azimov D.A., Dadaev S.D., Akramova F.D., Saparov K.A. *Gel'minty zhvachnykh zhyvotnykh Uzbekistana* [Helminths in ruminants from Uzbekistan]. Tashkent, Fan, 2015. 224 p. (In Russian)
20. Dadaev S.D. *Gelminti pozvonochnykh podotryada Ruminantia Scopoli, 1777 fauny Uzbekistana: avtoref. diss...dok. biol. nauk.* [Helminths in vertebrates of the suborder Ruminantia Scopoli, 1777 from the fauna of Uzbekistan. Abst. doct. diss... biol. sci.]. Tashkent, 1997. 56 p. (In Russian)
21. Gekhtin V.I. On the helminth fauna in cattle of Karakalpakskaya ASSR. *Poleznye i vrednye bespozvonochnye zhyvotnye Uzbekistana* [Useful and harmful invertebrates of Uzbekistan]. Tashkent, 1967, pp. 116–120. (In Russian)
22. Ivashkin V.M., Muhamadiev S.A. *Opredelitel gel'mintov krupnogo rogatogo skota* [Determinant of cattle helminths]. M., 1981, 260 p. (In Russian)
23. Kruglov N.D. *Mollyuski semeystva prudovikov Evropy i Severnoy Azii*. [Mollusks of the family Lymnaeidae from Europe and North Asia]. Smolensk, Publ. of Smolensk State Pedagogical University, 2005. 508 p. (In Russian)
24. Likharev I.M., Rammelmeyer E.S. *Nazemnye mollyuski fauny SSSR. Opredeliteli po faune SSSR* [Terrestrial mollusks of the USSR fauna. Determinants on fauna of the USSR]. M.–L., 1952, iss. 43, 512 p. (In Russian)
25. Pazilov A., Azimov D.A. *Nazemnye mollyuski (Gastropoda, Pulmonata) Uzbekistana i sopredelnykh territoriy* [Terrestrial mollusks (Gastropoda, Pulmonata) of Uzbekistan and adjacent areas]. Tashkent, Fan, 2003. 316 p. (In Russian)
26. Saparov K.A., Golovanov V.I., Akramova F.D., Shakarboev E.B., Azimov D.A. Ecological and faunistic analysis of nematodes of the suborder Filariata — parasites in mammals of Uzbekistan. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal* [Russian Journal on Parasitology]. M, 2012, no. 4, pp. 29–37. (In Russian)
27. Saparov K.A. *Fauna, rasprostraneniye i ekologiya fillyariat ptits i mlekopitayushih Uzbekistana: avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk* [Fauna, distribution and ecology of Filariata in birds and mammals of Uzbekistan. Abst. doct. diss...biol. sci.]. Tashkent, 2016, 66 p. (In Russian)
28. Skryabin K.I. *Metod polnih gel'mintologicheskikh vskrytiy pozvonochnykh, vklyuchaya cheloveka* [Method of complete helminthological autopsies of vertebrates including humans]. M.–L., Publ. of Moscow State University, 1928. 45 p. (In Russian)
29. Sultanov M.A., Muminov P.A., Sarisakov F.S. *Paraziticheskie chervi zhyvotnih Ferganskoj doliny* [Parasitic worms in animals from Fergana Valley]. Tashkent, Fan, 1971. 268 p. (In Russian)
30. Sultanov M.A., Azimov D.A., Gekhtin V.I., Muminov P.A. *Gelminty domashnih mlekopitayushchih Uzbekistana* [Helminths in domestic mammals of Uzbekistan]. Tashkent, Fan, 1975. 184 p. (In Russian)
31. Zhadin V.I. *Mollyuski presnykh i solonovatykh vod SSSR* [Mollusks of fresh and brackish waters of the USSR]. M.–L., Publ. Acad. Sci. USSR, 1952, pp. 164–180. (In Russian)
32. Zdun V.I. *Lichinki trematod v pristonodnykh mollyuskib Ukrainu SSR* [Larval trematodes in freshwater mollusks from Ukrainian SSR]. Kiev, Publ. Acad. Sci. Ukrainian SSR, 1961. 143 p. (In Russian)
33. Anderson R.C. *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. New York, CAB, 2000. 672 p.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23068

Received 17.01.2016

Accepted 28.11.2016

**FAUNA AND ECOLOGY OF HELMINTHS IN CATTLE (*BOS TAURUS* DOM.)
OF CENTRAL UZBEKISTAN**

Gaipova M.E.¹, Akramova F.D.², Saparov K.A.³, Azimov D.A.², Shakarbaev U.A.²

¹Tashkent State Agrarian University, Uzbekistan

²Institute of Gene Pool of Plants and Animals, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan 232 Bogishamol St., Tashkent 100053, Uzbekistan, e-mail: ushakarbaev@mail.ru

³Tashkent State Pedagogical University, Uzbekistan

Abstract

Objective of research: The purpose of research is to study the fauna and ecology of helminths in cattle from Central Uzbekistan.

Material and methods. The cattle was investigated by the method of complete and incomplete helminthological autopsies. Cestodes, trematodes and nematodes were examined using the common methods. Larvae of trematodes and nematodes from dominant parasite species found in intermediate hosts (molluscs, insects, ants and dipterous) are also described in this paper.

Results and discussion: 32 helminth species were identified in cattle from the central region of Uzbekistan: 5 species belong to the class Cestoda, 6 species — to the class Trematoda and 21 species — to the class Nematoda. Based on the nature of helminth localization in the host body, three groups of parasite communities were detected.

Keywords: cestodes, trematodes, nematodes, intermediate hosts, larvae, Uzbekistan.

© 2016 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 (CA-BI.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 01.12.2015
Принята в печать 28.12.2016

УДК 619:576.895.131
DOI: 10.12737/14273

Для цитирования:

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. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 454–461

For citation:

Kuchboev A.E., Karimova R.R., Ruziev B.Kh., Salakhutdinov I.B., Egamberdiev Sh.Sh. Morphological and molecular identification of some species of nematode of the family Protostrongylidae Leiper, 1926 // Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 454–461

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

Кучбоев А.Э.¹, Каримова Р.Р.¹, Рузиев Б.Х.², Салахутдинов И.Б.³, Эгамбердиев Ш.Ш.³

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

²Каршинский государственный университет, Узбекистан, г. Карши

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

Реферат

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

Материалы и методы. Гельминтологический материал собирали от диких и домашних полорогих и наземных моллюсков из разных областей Узбекистана. Для изучения морфологии протостронгилид использовали методы Боева и Anderson. Личинок первой стадии изучали путём исследования проб фекалий. При этом учитывали отличительные морфологические признаки личинок без дорсального кутикулярного шипа у вершины хвоста (для видов Protostrongylinae) и с шипом (для видов Muelleriinae, Vastrestrongylinae и др.), а также длину, форму хвоста и размеры тела личинки. Для изучения личинок третьей стадии протостронгилид отделяли ножки у зараженных моллюсков *X. candacharica* и помещали их в искусственный желудочный сок. Для изучения филогенетических взаимодействий протостронгилид использовали частичные нуклеотидные последовательности рибосомальной ДНК (ITS2) видов *Protostrongylus rufescens*, *P. shiozawai*, *Ortostrongylus macrotis*, *Cystocaulus ocreatus* и *Umingmakstrongylus pallikuukensis*. Филогенетический анализ проведен при помощи программного обеспечения ClustalX 2.0.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных морфологических и молекулярных исследований у полорогих выявлено 5 видов протостронгилид: *Protostrongylus rufescens*, *P. hobmaieri*, *Protostrongylus sp.*, *Spiculocaulus leuckarti* и *Cystocaulus ocreatus*. Морфологический и молекулярно-генетический анализ позволил уточнить видовое и пространственное распределение эндемичных протостронгилид.

Ключевые слова: Protostrongylidae, полорогие, моллюски, rDNA, ITS-2.

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 зарегистрировано 15 видов паразитов полорогих [2–4].



В биологическом отношении нематоды семейства Protostrongylidae занимают особое положение среди родственных групп. В процессе эволюции они перешли к обитанию в условиях суши на всех стадиях своего развития. 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].

Молекулярные исследования этой группы нематод ограничены. 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]. Ранее 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) стала возможной идентификация видов 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 как взрослых паразитов, так и личинок. Корреляция молекулярных последовательностей между взрослыми (подтвержденной 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 установление филогенетической взаимосвязи среди видов протостронгилид.

Материалы и методы

Сбор материала. 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 (X) candacharica* в предгорно-горных зонах Наманганской, Ташкентской, Джизакской и Сурхандарьинской областей Узбекистана.

Морфологическое изучение. 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. Учитывали отличительные морфологические признаки личинок без дорсального кутикулярного шипа у вершины хвоста (для видов Protostrongylinae) и с шипом (для видов Muelleriinae, Varestrostrongylinae и др.), а также длину, форму хвоста и размеры тела личинки.

Для изучения личинок третьей стадии (L3) протостронгилид отделяли ножки у зараженных моллюсков *X. candacharica* и помещали их в искусственный желудочный сок. В этой среде разрушался чехлик (панцирь) 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 разных модификаций (ML 2000 с цифровой камерой и Olympus CX31).

Выделение ДНК, амплификация и секвенирование. 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`-TTAGTTTCTTTTCCCTCCGCT-3`), 0,2 мкл Taq полимеразы (5 ед./мкл), воды до 25 мкл при следующем температурном режиме: 94 °С в течение 30 с, 40 циклов (94 °С в течение 10 с, 55 °С — 30 с, 72 °С в течение 30 с) и финальная амплификация 72 °С в течение 10 мин. ПЦР продукты были очищены 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 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

В результате проведенных исследований домашних и диких животных обнаружены половозрелые нематоды 4 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 фекалиями выделяются из организма дефинитивного хозяина. В общих чертах они 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, 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, что эти личинки принадлежат одному из родов подсемейству *Protostrongylinae* 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 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 *Protostrongylus rufescens* и *P. hobmaieri* составляет 380 пар нуклеотидов (п.н.), *Spiculocaulus leuckarti* — 388, *Cystocaulus ocreatus* — 399. L3 имеет одинаковый молеку-



лярный размер, аналогичный видам нематод рода *Protostrongylus* и составляет 380 п.н. L1 домашних коз (без кутикулярного шипика у вершины хвоста) имеет около 400 п.н.

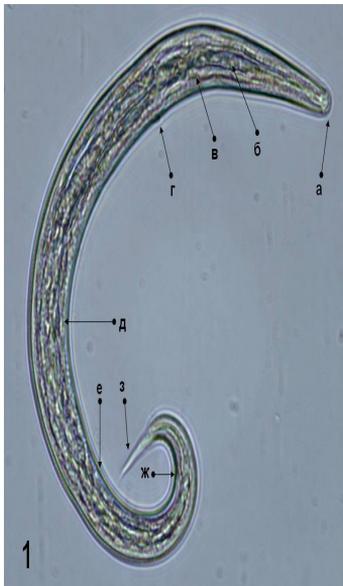


Рис. 1. Микрофотография L1 *Protostrongylus* sp. (ув. $\times 400$):
а — головной конец; б — пищеводно-кишечный переход; в — нервное кольцо;
г — экскреторное отверстие; д — кишечник;
е — половой зачаток; ж — анус; з — хвост

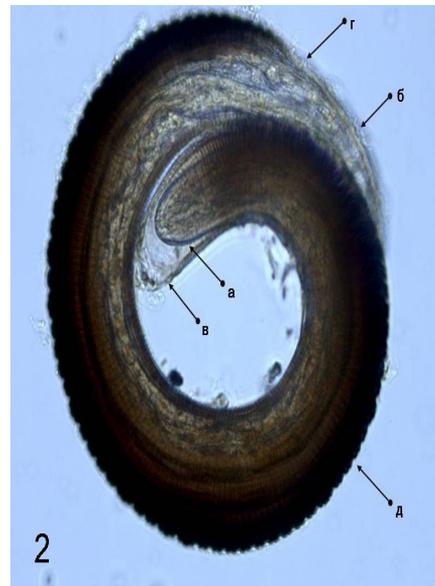


Рис. 2. Микрофотография L3 протостронгилид, извлеченной из ноги моллюска (ув. $\times 400$):
а — головной конец; б — хвостовой конец;
в, г — хитинизированные бороздки на головной и хвостовой частях личинки;
д — панцирь

Амплификаты были очищены и секвенированы на генетическом анализаторе. Полученные нуклеотидные последовательности были сравнены опубликованными последовательностями региона ITS-2 при помощи BLAST международного генетического банка NCBI (blast.ncbi.nlm.nih.gov). 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 (таб. 1). Было выявлено, что последовательности L3 протостронгилид коррелировали с данными NCBI, также идентифицирован 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*.

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. учитываются 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).

Номера полученных сиквенсов ITS-2 в базе данных NCBI GenBank

Вид нематод	Стадии	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*, показывающее также близкое генетическое родство.

Второй кластер также может быть разделен 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 *Caprinae* 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, в том числе эндемичных протостронгилид.

Результаты этих исследований позволяют расширить взгляды по затронутой проблеме и идентифицировать географические разновидности паразитов.

Литература

1. Азимов Д.А., Акрамова Ф.А., Хусанов А., Кучбоев А.Э. Структура и функционирование нематод семейства Protostrongylidae Leiper, 1926 // Доклады 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.

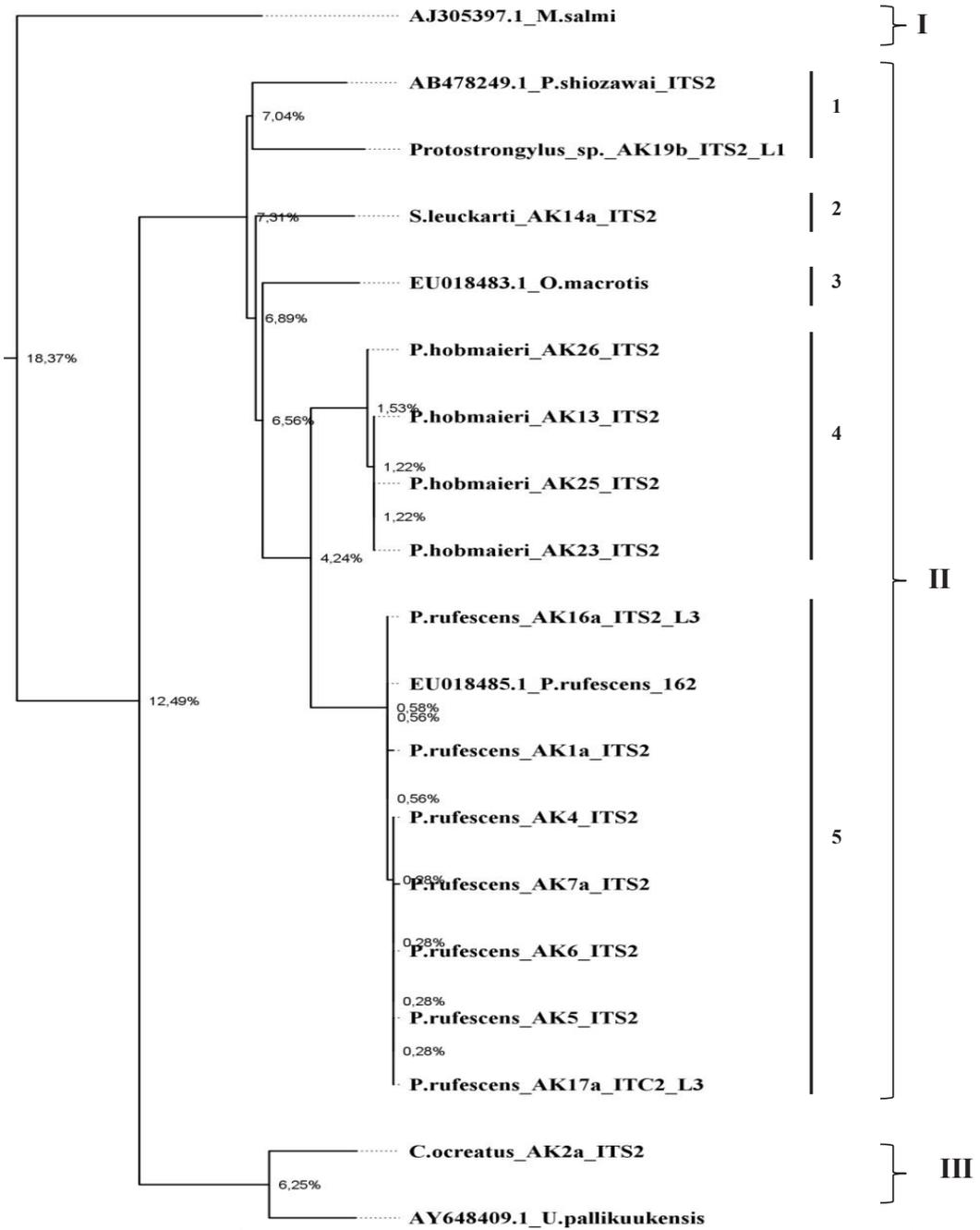


Рис. 3. Укоренённое филогенетическое дерево, построенное при помощи метода NJ (1000 повторений) для 19 образцов нематод различных видов (в качестве корневого вида использован образец нематод *Metastrongylus salmi*)



7. Anderson R.C. Key to genera of the superfamily Metastrongyloidea. — No. 5. In CIN Keys to the nematode parasites of vertebrates, R. C. Anderson, A. G. Chabaud and S. Willmott (eds.). Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK. 1978. — P. 1–40.
8. Carreno R.A., Nadler S.A. Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Parasitology*, 2003, 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 are 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. *Journal of Parasitology*, 2005, Vol. 91, pp. 574–584.
11. Kutz S.J., Asmundsson I., Hoberg E.P. et al. 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 Journal 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. *Journal of Wildlife Diseases*, 2006, Vol. 42, pp. 527–535.
13. Asmundsson I., Mortenson J., Hoberg E.P. Muscieworms, *Parelaphostrongylus andersoni* (Nematoda: Protostrongylidae), discovered in Columbia white-tailed deer from Oregon and Washington: Implications for biogeography and host associations. *Journal 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.

References

1. Azimov D.A., Akramova F.A., Husanov A., Kuchboev A.E. Structure and functioning of nematodes of the family Protostrongylidae Leiper, 1926. *Doklady AN Ruz.* [Proc. Acad. of Sci. of the Rep. Uzb.]. Tashkent, 1998, no. 10, pp. 39–41.
2. Boev S.N. *Osnovy nematologii. Protostrongilidy* [Essentials of nematology. Protostrongylids]. M., Nauka, 1975, vol. 25. 266 p.
3. Kontrimavichus V.L., Delyamure S.L., Boev S.N. *Osnovy nematologii. Metastrongiloidei domashnih i dikih zhivotnyh* [Essentials of nematology. Metastrongylidae in domestic and wild animals]. M., Nauka, 1976, vol. 26. 239 p.
4. Kulmammatov E.N., Isakova D.T., Azimov D.A. *Gel'minty pozvonochnyh gornyh ekosistem Uzbekistana*. [Helminths in vertebrates of mountain ecosystems of Uzbekistan]. Tashkent, Fan, 1994. 151 p.
5. Kuchboev A.E. *Populyacionnaya ehkologiya, sistematika nematod semeystva Protostrongylidae Leiper, 1926 i funktsional'no-metabolicheskie processy v sisteme «parazit–hozyain»*. Avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk [Population ecology, systematics of nematodes of the family Protostrongylidae Leiper 1926 and functional metabolic processes in host-parasite relationship. Abst. doct. diss... biol. sci.]. 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. sci.]. Tashkent, 2008. 21 p.
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, pp. 1–40.
8. Asmundsson I., Mortenson J., Hoberg E.P. Muscieworms, *Parelaphostrongylus andersoni* (Nematoda: Protostrongylidae), discovered in Columbia white-tailed deer from Oregon and Washington: Implications for biogeography and host associations. *Journal of Wildlife Disease*, 2008, vol. 44, pp. 16–27.
9. Carreno R.A., Nadler S.A. Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Parasitology*, 2003, 89, pp. 965–973.
10. 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, pp. 118–128.
11. 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. *Journal of Parasitology*, 2005, vol. 91, pp. 574–584.
12. Kutz S.J., Asmundsson I., Hoberg E.P. et al. 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 Journal of Zoology*, 2007, vol. 85, pp. 1143–1156.



13. 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.

14. Mortenson J.A., Abrams A., Rosenthal B. et al. *Parelaphostrongylus odocoilei* in Columbian black-tailed deer from Oregon. *Journal of Wildlife Diseases*, 2006, vol. 42, pp. 527–535.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/14273

Received 01.12.2016

Accepted 28.11.2016

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

Kuchboev A.E.¹, Karimova R.R.¹, Ruziev B.Kh.², Salakhutdinov I.B.³, Egamberdiev Sh.Sh.³

¹Institute of the Gene Pool of Plants and Animals Uzbek Academy of Sciences, 100053, Tashkent, 232 Bogishamol St., e-mail: a_kuchboev@rambler.ru

²Karshi State University, Karshi

³The Center of Genomics and Bioinformatics under Uzbek Academy of Sciences, Ministry of Agriculture of Uzbekistan, «Uzpakhtasanoat» Association, Tashkent

Abstract

Objective of research. The purpose of this research is to carry out morphological and molecular genetic identification and to determine phylogenetic relationship among *Protostrongylidae* species.

Materials and methods. Helminthological material was collected from domestic hollow-horned ruminants and land mollusks in different areas of Uzbekistan. The morphology of protostrongylids was studied using the methods of Boev (1975) and Anderson (1978). The first-stage larvae were investigated by examination of fecal samples from animals taking into account remarkable morphological features of larvae without dorsal cuticular thorn at the tail point (for *Protostrongylinae*) and with thorn (for *Muelleriinae*, *Varestrongylinae* et al.] as well as length, tail form and body size of larvae. To study the morphology of the third-stage protostrongylid larvae, the feet of infected mollusks *X. candacharica* were separated and placed into the artificial gastric juice. Nucleotide sequences ITS-2 regions of species *Protostrongylus rufescens*, *P. shiozawai*, *Ortostrongylus macrotis*, *Cystocaulus ocreatus* and *Umingmakstrongylus pallikuukensis* were used to study phylogenetic relations between protostrongylids. The phylogenetic analysis was conducted using the software Clustal X 2.0.

Results and discussion. Based on morphological and molecular examinations, five species of protostrongylid nematodes: *Protostrongylus rufescens*, *P. hobmaieri*, *Protostrongylus sp.*, *Spiculocaulus leuckarti* and *Cystocaulus ocreatus* were found in hollow-horned ruminants. The morphological and molecular-genetic analysis of detected nematodes enables precise identification of species and spatial distribution of endemic protostrongylids.

Keywords: Protostrongylidae, hollow-horned animals, mollusks, rDNA, ITS-2.

© 2016 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 (CA-BI.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 01.09.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:576.895.131
DOI: 10.12737/23069

Для цитирования:

Elmajdoub O.L., Rahman W.A., Wajdii M.F.F., Siti Azizah M.N. Молекулярная классификация штаммов Echinococcus granulosus от крупного рогатого скота в Ливии // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 462–470

For citation:

Elmajdoub O.L., Rahman W.A., Wajdii M.F.F., Siti Azizah M.N. Molecular classification of Echinococcus granulosus strains from livestock animals in Libya. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 462–470

МОЛЕКУЛЯРНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ШТАММОВ ECHINOCOCCUS GRANULOSUS ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ЛИВИИ

Elmajdoub O.L.¹, Rahman W.A.², Wajdii M.F.F.², Siti Azizah M.N.²

¹Кафедра зоологии, Колледж естественных наук, Университет Мисураты, Ливия, e-mail: elmajdoubayla@sci.misuratau.edu.ly

²Институт биологических наук Университета Малайзии, 11800 Минден, Пенанг

Реферат

В данном исследовании представлено распространение различных штаммов *E. granulosus* овцы, крупного рогатого скота и верблюда. Обычный вид овечьего штамма G1 обнаруживают, в основном, у овец и крупного рогатого скота, однако верблюды также могут быть заражены этим штаммом.

Напротив, верблюжий штамм G6, чаще всего, находили у верблюдов и реже у овец и крупного рогатого скота.

Однако, в ходе исследований установлена вероятность наличия криптических видов, тесно связанных с обоими генотипами крупного рогатого скота в Ливии, что является подтверждением высокого уровня мутаций у некоторых видов.

Исходя из того, что на территории Ливии отмечается преобладание хозяев штамма *E. granulosus*, необходимо провести дополнительные исследования циклов передачи инвазии и генотипов *E. granulosus*. Кроме того, рекомендуется провести обследование потенциальных промежуточных хозяев, включая частных владельцев собак, являющихся дефинитивными хозяевами, используя при этом молекулярные устройства высокого разрешения, такие как микросателлитные маркеры.

Ключевые слова: *Echinococcus granulosus*, печень, легкие, обычный вид овечьего штамма G1.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23069

Received 01.09.2016

Accepted 28.11.2016

MOLECULAR CLASSIFICATION OF *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*
STRAINS FROM LIVESTOCK ANIMALS IN LIBYAElmajdoub O.L.¹, Rahman W.A.², Wajdii M.F.F.², Siti Azizah M.N.²¹ Zoology Department, Science College, Misurata University, Libya, e-mail: elmajdoublayla@sci.misuratau.edu.ly² School of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia, 11800 Minden, Penang

Abstract

This study demonstrates the distribution of various *E. granulosus* strains in sheep, cattle and camel. The common sheep strain G1 is mainly found in sheep and cattle, but also parasitized camels. In contrast, the camel strain G6 is found mainly in camels and rarely in sheep and cattle. However, the study also revealed the possible presence of cryptic species that are closely related to both genotypes in livestock of Libya as evident by high mutations in several specimens. Based on the occurrence of overlapping hosts of *E. granulosus* in Libya, more research on the transmission cycles and genotypes of *E. granulosus* in Libya is required. In addition, it is suggested that surveys on potential intermediate hosts, including in humans with dogs as the major final host in Libya using higher resolution molecular tools such as microsatellite markers is recommended.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, liver, lung, common sheep strain G1.

Introduction

Through the past five decades, significant phenotypic and genetic variabilities have been recognized and identified in various strains of *E. granulosus* isolated from different regions (Van Herwerden *et al.*, 2000; Thompson and McManus 2001, 2002; Pearson *et al.*, 2002 and Huttner *et al.*, 2008). These studies have revealed that the different strains of *E. granulosus* consist of heterogeneous groups of genetic variants (McManus, 2002). Thompson (1995) illustrated that different strains may display variations in morphology, host specificity, development rate, pathogenicity and geographical distributions. Moreover, many studies have been conducted to determine the host and geographic ranges of these strains, and whether genetic variations were characteristic and specific to the different endemic areas throughout the world (Jenkins and Thompson, 2005). Thompson and Kumaralilake (1982) observed that some strains of *E. granulosus* share similar morphological characters but showed epidemiological differences; thus, this parasite showed high diversity. Identification of strain types of *E. granulosus* is very important in strategizing and implementing an *Echinococcosis* control and management programmer.

Until now, 10 strains or genotypes, namely G1- G10 have been recognized and described in *E. granulosus* based on mitochondrial and nuclear gene analyses (Bowles *et al.*, 1992, 1994; Scott *et al.*, 1997; Lavikainen *et al.*, 2003; Thompson *et al.*, 2008; Saarma *et al.*, 2009). According to mitochondrial data, *E. granulosus* has been traditionally assigned to the various taxonomic species in relation to the G1- G10 genotypes; *E. granulosus sensu stricto* (G1, G2, and G3), *E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5), and *E. canadensis* (G6-G10) (Nakao *et al.*, 2007; Moks *et al.*, 2008). However, recent studies based on nuclear data categorized the genotypes (G6- G10) into two strains; cervid genotypes G8 and G10 belonging to *E. canadensis*, whilst camel and pig genotypes G6, G7 belonged to *E. intermedium* (Saarma *et al.*, 2009).

The aim of this study was to determine *E. granulosus* genotypes present in Libyan livestock by molecular genetic strain typing. For the analysis, the mitochondrial (ATP6) and nuclear (Act II) genes were utilized.

Materials and Methods

Parasite samples

Hydatid cyst samples were collected from the major slaughtered livestock namely sheep, camel and cattle from government abattoirs located in four regions in Libya from January to end of 2010. In total, 120 samples were used for molecular analysis, from liver, lung and other organs from the three major livestock. To obtain fertile cysts, the protoscoleces were collected from the sediment of hydatid sand by pipette under sterile conditions and rinsed three times with normal saline. Suspensions of protoscoleces were fixed in 90% (v/v) ethanol and then stored at -20°C until DNA extraction. To obtain infertile cysts, the thin germinal layer from the wall cyst was cut into small pieces and washed with normal saline and then stored at -20°C for further processing.

DNA extraction

The protoscoleces were washed several times in nucleic acid-free water to remove the alcohol preservation solution. Genomic DNA was extracted using a QIAamp DNeasy mini kit (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's protocol.

Electrophoresis was preceded on a 1% agarose gel with GelRed Nuclei Acid Gel Stain as marker, at 100 volt for 30 min to assess the success of DNA extraction. After that, the agarose gel was visualized in a gel documentation system (GENE Flash, Syngene Bio Imaging, USA) for the presence of the extracted DNA bands. To investigate the presence of sterile cyst (from cattle), DNA extraction was conducted on 25 mg of the cut pieces of infertile germinal layer and placed into a 1.5 ml Eppendorf tube. Then according to the manufacturer's protocol.

Polymerase chain reaction (PCR) amplification

The partial fragments of the mitochondrial gene (ATP6) were PCR-amplified on the DNA extract using specific primers designed by Xiao *et al.* (2005).

ATP6 forward: 5'- GCA TCA ATT TGA AGA GTT GGG GAT AAC-3'

ATP6 reverse: 5'- CCA AAT AAT CTA TCA ACT ACA CAA CAC-3'

The PCR reaction contained 5.5 μL of 5X PCR buffer, 4 μL 25 mM MgCl_2 solution, 0.3 μL of 5u/ μL Taq DNA polymerase, 0.7 μL of 10 mM dNTP (Promega, USA), 0.5 μL of each primer and 2.0 μL of the target DNA in a total volume of 25 μL . The PCR protocol consisted of an initial incubation at 94°C for 30 s, 35 cycles at 94°C , 55°C for 30 s and 72°C for 1 min, 72°C for 5 min in the final extension, The PCR amplification was conducted using the Mastercycler Gradient-Thermal cyler (Eppendorf, Germany).

The Act II fragment was PCR amplified using primers specifically designed by De Silva *et al.* (1993).

Act II forward: 5'- TCT TCC CCT CTA TCG TGG G-3'

Act II reverse: 5'- CTAATG AAA TTA GTG CTT TGT GCG C-3'

The PCR was carried out in a 25 μL volume containing 2 μL target DNA, 5 μL of 5X PCR buffer, 5 μL 25 mM MgCl_2 solution, 0.25 μL of 5u/ μL Taq DNA polymerase, 0.5 μL of 10 mM dNTP (Promega, USA), 0.5 μL of each primer. The PCR conditions were as follows: 94°C for 30 s, 40 cycles at 94°C for 30 s, 60°C for 30 s and 72°C for 1.5 min, and then a final extension at 72°C for 5 min, The PCR amplification used the Mastercycler Gradient- Thermal cyler (Eppendorf, Germany).

After the PCR amplification, PCR products were assessed by electrophoresis in a 1.5% agarose gel using GelRed Nuclei Acid Gel Stain as marker at 100 volt for 25 min. finally the purified DNA samples were sent to the service provider for sequencing procedure (First BASE Laboratories Sdn. Bhd. and Centre of Chemical Biology, CCB at Universiti Sains Malaysia).

Data analysis

The obtained sequences were edited using MEGA 5.05 program (Tamura *et al.*, 2007). The genetic relationships between haplotypes were determined by constructing phylogeny trees based on Neighbour-Joining (NJ). GenBank sequences of *E. granulosus* were downloaded for comparisons with the current data for each gene. For ATP6 gene the following GenBank sequences were used- Acc. No AF 297617.1 sheep strain and AB208063.1 camel strain G6. For Act II gene the GenBank sequences AF 528499.1 sheep strain G1 and AF 528500.1 camel strain G6 were used to compare with the sequences in this study.



Results

A total of 120 *E. granulosus* samples were successfully amplified by using the optimized PCR conditions. Length of partial fragment of ATP6 mtDNA was 513bp and partial fragment of Act II DNA fragment was 267bp in length.

Multiple sequence alignments of ATP6 and Act II genes were carried out for 102 individuals from livestock hydatid cyst (60 sheep, 31 camels and 11 cattle) and 89 individuals from livestock hydatid cyst (54 sheep, 25 camels and 10 cattle) respectively using MEGA 5 Software ClustalW (1.6) DNA weight matrix. Blastn search showed that all the aligned sequences belonged to ATP6 and Act II genes with high similarities (96-100%).

Neighbour Joining (NJ) analysis

The Neighbour-Joining (NJ) analysis of ATP6 gene was carried out based on Kimura 2-parameter as presented in Fig 1. The same GenBank sequences of *E. granulosus* from the previous sheep population study (AB 208063.1; AB235847.1; AB031283.1) were included. Two main clusters were formed; the first cluster consisted of mixed populations (different organs from different animals) with a low bootstrap confidence level of 51% and a second cluster with high support (99%). This cluster was divided into seven internal subclusters with low to moderate support but with no obvious genetic relationships to host or organ types. The GenBank (AB031283.1) representing sheep strain grouped in this cluster. The second monophyletic cluster with 99% support consisted of four subclusters.

Unlike Cluster 1, the second cluster was generally made up of parasites of camel origin with GenBank taxon (AB 208063.1) and (AB235847.1) representing camel strain grouping in this cluster. However, there were two exceptions, namely of parasites from host sheep, SMT1 (KF255896) and SMT2 (KF255899) grouping into this cluster. This provided further evidence of the previous population analysis that these two sheep parasite sequences in the mesentery are more closely related to camel strain. The four subclusters were low to moderately support. These internal subclusters did not show any obvious pattern to specific organs.

The NJ tree formed with 1000 replicates of Act II gene is presented in Fig 2. Sheep strain (gi 22653316) and camel strain (gi 22653318) GenBank haplotypes. There was no phylogenetic structuring into major clusters. However, a strongly supported cluster (99%) was observed consisting of several haplotypes (KP843657 with groups of KP843653, KP843652, KP843647, KP843639, KP843626) from mixed populations and the GenBank G6 camel strain haplotype. Four weakly supported and a single moderately supported terminal clusters consisting of mixed populations (different organs from different regions) were also observed.

Discussion

To date, six genotypes of *E. granulosus* complex have been identified in Africa; G1 (sheep strain), G2 (Tasmanian sheep strain), G4 (horse strain), G5 genotype (cattle strain) and the G6 (camel strain) genotypes (Thompson and McManus, 2002; Dinkel *et al.*, 2004; Huttner *et al.*, 2008 and Casulli *et al.*, 2010). Limited studies in Libya, primarily conducted by Tashani *et al.* (2002) in eastern Libya reported that all livestock animals (sheep, cattle and camels) were infected with the same genotype of *E. granulosus* (G1, sheep strain). Another study by Abushhewa *et al.* (2010) from different areas in Libya recorded two groups; the first group belonging to G1-G3, and the second group belonging to G6-G10. Thus, the present study is a valuable contribution of data on the population genetics, diversity as well as complements existing taxonomic knowledge of this parasitic species from various organs in different hosts from Libya based on each of a mitochondrial and nuclear gene.

The DNA sequence variation of the partial mtDNA ATP6 of *E. granulosus* conducted in this investigation has indicated the transmission of two main strains in livestock animals (sheep, camels and cattle) in Libya. This study is the first documentation on ATP6 sequences of *E. granulosus* from livestock in Libya and has provided data on the common strain distributed in Libya of *E. granulosus*.

Various mutations in different populations of sheep, camels and cattle were observed. Of these, 80.5% and 19.4% haplotypes belonged to common sheep strain (G1) and camel strain (G6) respectively. These findings corresponded to the results by Eryildiz and Sakru (2012) in a Turkish

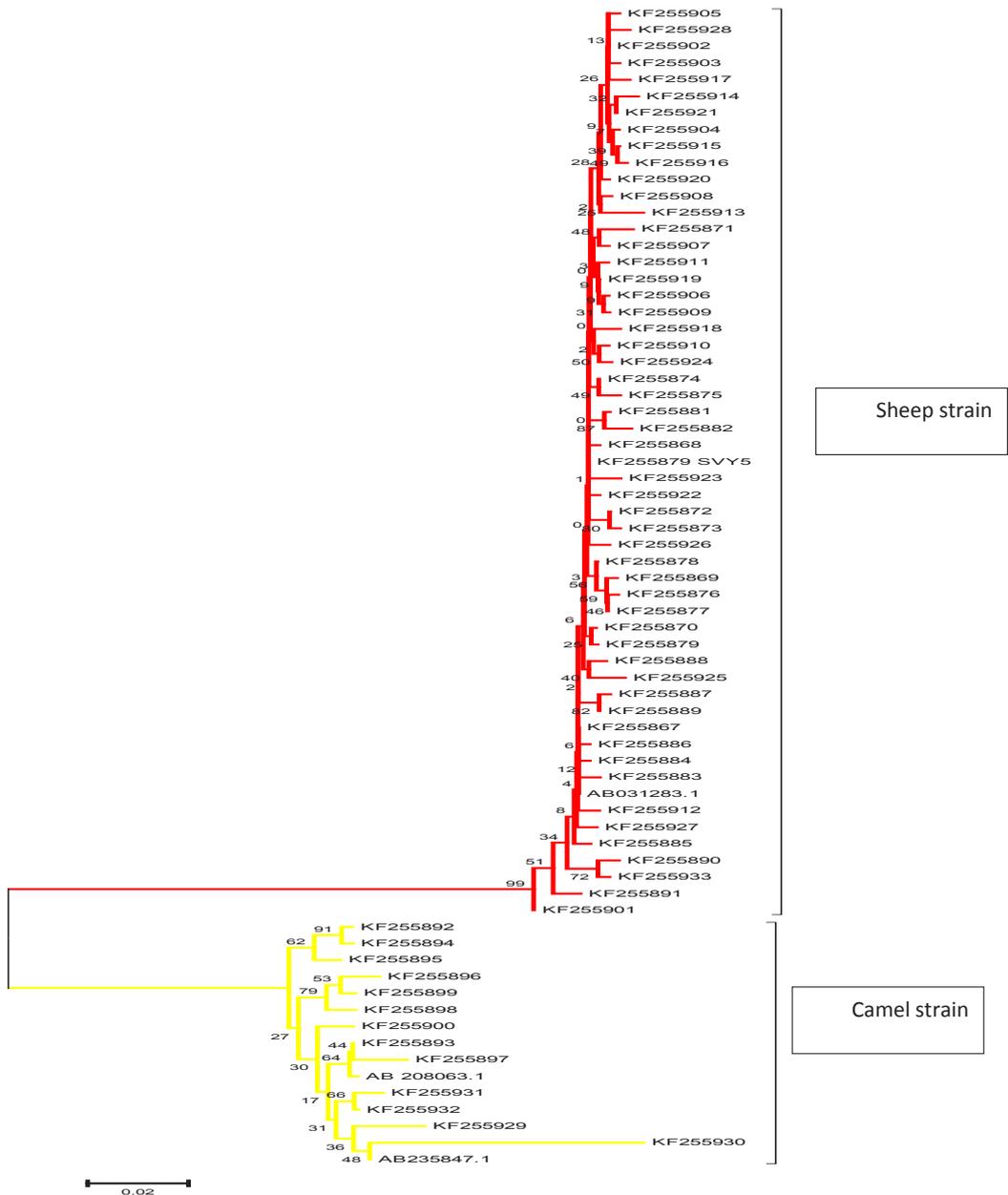


Fig 1. Neighbour joining phylogenetic tree of *E. granulosus* haplotypes from Libyan combined sheep, cattle and camel livestock of ATP6 gene.

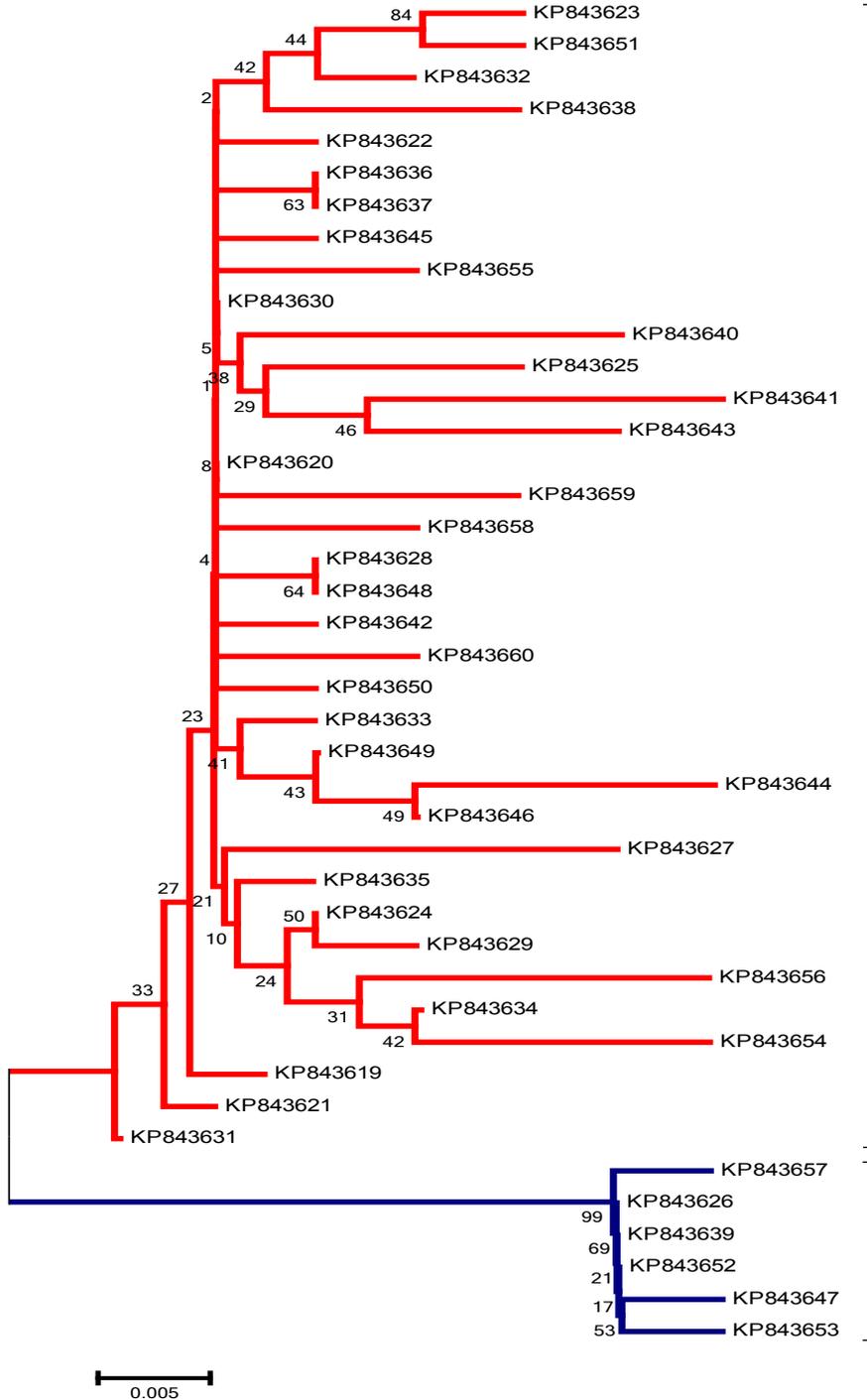


Fig 2. Neighbour joining phylogenetic tree of *E. granulosus* haplotypes from Libyan livestock of Act II gene.



study, who recorded that most of their isolates, belonged to G1-G3. Only one isolate belonged to G6-G10. Moreover, Hailemariam *et al.* (2012) recorded similar findings in an Ethiopian study which observed 87% of livestock samples were identified as G1 and 13% as the G6. On the other hand, Abushhewa *et al.* (2010) in a Libyan study reported that all isolates from camels belonged to camel strain G6. This indicated the all camels in their study lived in the private pastures with no connection to sheep farms.

Phylogenetic analysis of *E. granulosus* populations in livestock

Phylogenetic analysis based on NJ method generated trees with similar topologies, which appeared less efficient based on the clustering and bootstrap approaches. Generally, in the present study, the topology of the NJ tree from combined sheep, camel and cattle populations, showed that all sheep populations referred to as G1 genotype sheep strain combined together, while only two individuals belonged to G6 genotype camel strain. However, all cattle individuals belonged to sheep strain, while several individuals from camels belonged to the sheep strain while the rest belonged to camel strain. Previous studies conducted in Libya by Tashani *et al.* (2002) recorded that all *E. granulosus* isolates from different livestock (sheep, cattle and camels) belonged to the common sheep strain (G1). In addition, the present study showed that all hydatid cysts from cattle were sterile; due to the infection by the common sheep strain (G1). This was also observed by Tashani *et al.* (2002).

Abushhewa *et al.* (2010) in their study on Libya and Omer *et al.* (2011) in a study in Sudan reported that all *E. granulosus* isolates from camels (100%) belonged to the G6-G10 complex. Interestingly, 87% of cattle hydatid cysts investigated by Abushhewa *et al.* (2010) and 99% by Omer *et al.* (2011) belonged to the G6 genotype. More recent evidence by Abdel Aaty *et al.* (2012) and Omer *et al.* (2011) reported that all isolates from sheep, camels, pigs and cattle were identified as G6 camel strain in Egypt and Sudan. Thus their findings suggested that the camel strain play the major role in the transmission cycle of *E. granulosus* in Egypt and Sudan.

Considering the overall livestock, high substitution rates were observed in haplotypes closely related to G6. Furthermore, a single sample (camel liver) from this group had unusually high nucleotide substitutions. This sample was closely related to GenBank G6 Acc No AB208063.1 (97%) and GenBank G7 Acc no. AB235847.1 G7 (96%). Farjallah *et al.* (2007) found G7 in slaughtered camels from Tunisia and Mauritania. This is the first record of a strain belonging to G7 or very closely related to it. Therefore, it is suggested that the prevalence reported in this study is due to the movement of livestock animals from neighboring countries such as Tunisia or due to the occurrence of high random mutation in this sample.

Furthermore, many related studies in North Africa correspond to the present findings; from Algeria, Bart *et al.* (2004) observed two distinct well supported clusters (G1 and G6) based on the mitochondrial (ND1, COX1) genes. The same situation was observed in Middle Africa, from Kenya and Sudan, where many genetic studies (Bowles *et al.*, 1992; Wachira *et al.*, 1993 and Dinkel *et al.*, 2004) have demonstrated the importance of G1 and G6 in livestock. But Dinkel *et al.* (2004) also noted other strains in Kenya originating from pig and in Sudan from cattle (*E. ortleppi*).

Nuclear gene Act II

To further investigate the strain identity of *E. granulosus* from sheep, camels and cattle in Libya, a 262 bp of Act II gene sequence data was analyzed. This is attributed to the lower mutation rates of nuclear markers compared to mitochondrial DNA. According to the phylogenetic tree two main genotypes, G1 (common sheep strain) and G6 (camel strain) with 98-100% homology with GenBank (AF528499 and AF528500 respectively) were observed. These findings were in agreement with previous studies by Gudewar *et al.* (2009) in India and Maillard *et al.* (2007) in Africa using the same Act II gene. Bart *et al.* (2006) used BG1/3 nuclear gene to identify *E. granulosus* among sheep, cattle and pigs, and identified two genotypes, a sheep strain and the pig strain.

The present results showed that most of individuals from different sheep populations were placed in common sheep strain (G1), while only two samples (Misurata liver and mesentery) populations were placed in camel strain (G6). The results from mitochondrial and nuclear markers revealed that most of the sheep hydatid cysts from different organs in different areas belonged to the sheep strain, but were rarely infected by camel strain. This indicates that generally the camel



strain was not effective in infecting the sheep host in Libya with several exceptions — in four sheep individuals, specifically 3 individuals from mesentery organ and another from liver organ infected with the camel strain. The G1 genotype is effective in infecting different organs in camels and cattle. In contrast, the camel strain is ineffective to infect the cattle host i.e. all cattle individuals were only infected with sheep strain. For the nuclear marker only two samples from liver and lung cattle were infected by camel strain G6, while the sheep strain G1 was more suitable to infect cattle host than the G6. However, all hydatid cysts in different organs of cattle were sterile. This indicates that sheep and camel strains are not adapted for propagation in cattle in Libya. Furthermore, the G6 strain infection was also recorded in several individuals of sheep and cattle based on the nuclear gene, an observation also previously noted by Kamenetzky *et al.* (2002) in Argentina and Haag *et al.* (2004). Thus, both the mitochondrial and nuclear gene analyses generated two main clades (G1 and G6) of *E. granulosus* which represented the common intermediate hosts (sheep, cattle and camels) from Libya as identified based to the Genbank databases.

Why are there incidences of G1 and G6 being present in the same host? An explanation that could be put forward is the interaction between the camel-dog and sheep-dog cycles. Dog is the final host of this parasite. Due to the co-existence of camels with sheep and cattle together in a close neighborhood, cross transmission of camel and sheep strains may occur in different livestock as a result of overlapping cycles. Clearly, more focused studies on the G1 and G6 in overlapping hosts of *E. granulosus* in Libya need to be conducted. In addition, there is a possibility of cross fertilization between genotypes of G1 and G6 in the dog which is the final host and thus, producing a hybrid genotype.

References

1. Abushhewa, M. H., M. H. S. Abushhiwa, M. J. Nolan, A. R. Jex, B. E. Campbell, A. Jabbar and R. B. Gasser. 2011. Genetic classification of *Echinococcus granulosus* cysts from humans, cattle and camels in Libya using mutation scanning-based analysis of mitochondrial loci. *Molecular and Cellular Probes* 24(6):346-351.
2. Bart, J. M., K. Bardonnet, M. C. B. Elfegoun, H. Dumon, L. Dia, D. A. Vuitton and R. Piarroux. 2004. *Echinococcus granulosus* strain typing in North Africa: Comparison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. *Parasitology* 128(2):229-234.
3. Bowles, J., D. Blair and D. P. McManus. 1992. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and Biochemical Parasitology* 54(2):165-173.
4. Bowles, J., D. Blair and D. P. McManus. 1994. Molecular genetic characterization of the cervid strain ('northern form') of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 109(2):215-221.
5. Da Silva, C. M. D., H. B. Ferreira, M. Picon, N. Gorfinkiel, R. Ehrlich and A. Zaha. 1993. Molecular cloning and characterization of actin genes from *Echinococcus granulosus*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 60(2):209-220.
6. Farjallah, S., M. Busi, M. O. Mahjoub, B. B. Slimane, K. Said and S. D'Amelio. 2007. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and Mauritania by mitochondrial rnsS gene sequencing. *Parassitologia* 49(4):239-246.
7. Gudewar, J., D. Pan, A. K. Bera, S. K. Das, A. Konar, J. R. Rao, A. K. Tiwari and D. Bhattacharya. 2009. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* of Indian animal isolates on the basis of nuclear and mitochondrial genotype. *Molecular Biology Reports* 36(6):1381-1385.
8. Haag, K. L., F. J. Ayala, L. Kamenetzky, A. M. Gutierrez and M. Rosenzvit. 2004. Livestock trade history, geography, and parasite strains: The mitochondrial genetic structure of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Journal of Parasitology* 90(2):234-239.
9. Hailemariam, Z., M. Nakao, S. Menkir, A. Lavikainen, T. Yanagida, M. Okamoto and A. Ito. 2012. Molecular identification of unilocular hydatid cysts from domestic ungulates in Ethiopia: Implications for human infections. *Parasitology International* 61(2):375-377.
10. Huttner, M., M. Nakao, T. Wassermann, L. Siefert, J. D. F. Boomker, A. Dinkel, Y. Sako, U. Mackenstedt, T. Romig and A. Ito. 2008. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937 (Cestoda: Taeniidae) from the African lion *International Journal for Parasitology* 38(7):861-868.
11. Jenkins, D. J., T. Romig and R. C. A. Thompson. 2005. Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp. — A global update. *International Journal for Parasitology* 35(11-12):1205-1219.
12. Kamenetzky, L., A. M. Gutierrez, S. G. Canova, K. L. Haag, E. A. Guarnera, A. Parra, G. E. García and M. C. Rosenzvit. 2002. Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. *Infection, Genetics and Evolution* 2(2):129-136.



13. Lavikainen, A., M. J. Lehtinen, T. Meri, V. Hirvelä-Koski and S. Meri. 2003. Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 127(3):207-215.
14. Maillard, S., M. C. Benchikh-Elfegoun, J. Knapp, J. M. Bart, P. Koskei, B. Gottstein and R. Piarroux. 2007. Taxonomic position and geographical distribution of the common sheep G1 and camel G6 strains of *Echinococcus granulosus* in three African countries. *Parasitology Research* 100(3):495-503.
15. McManus, D. P. 2002. The molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* and cystic hydatid disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 96(SUPPL. 1):S1/151-S151/157.
16. Omer, R. A., A. Dinkel, T. Romig, U. Mackenstedt, A. A. Elnahas, I. E. Aradaib, M. E. Ahmed, K. H. Elmalik and A. Adam. 2011. A molecular survey of cystic echinococcosis in Sudan. *Veterinary Parasitology* 169(3-4):340-346.
17. Pearson, M., T.H.Le., L.H. Zhang, D. Blair, T.H.N. Dai and D.P. McManus 2002. Molecular taxonomy and strain analysis in *Echinococcus*. In: craig, P. and Z. Pawlowski (Eds). Cestode Echinococcosis and cysticercosis an emergent and global problem IOs Press, Amsterdam, the Netherlands, pp: 205-219.
18. Scott, J. C., J. Stefaniak, Z. S. Pawlowski and D. P. McManus. 1997. Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: Identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology* 114(1):37-43.
19. Tamura, K., J. Dudley, M. Nei and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24(8):1596-1599.
20. Tashani, O. A., L. H. Zhang, B. Boufana, A. Jegi and D. P. McManus. 2002. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 96(4):369-381.
21. Thompson, R. C. A and D. P. McManus 2001. Aetiology: parasites and life cycles. In: Eckert, J., Gemmell, M.A., Meslin, F.X. and Pawlowski, Z.S. (eds) WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in humans and animals a public health problem of global concern. *World Organisation for Animal Health, Paris*, pp: 1-19.
22. Thompson, R. C. A. 1995. Biology and systematic of *Echinococcus* and Hydatid disease. Thompson R.C.A and Laymbery, A.J. (eds). *CAB International Wallingford, Oxen*, 1-37.
23. Thompson, R. C. A. 2008. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Experimental Parasitology* 119(4):439-446.
24. Thompson, R. C. A. and D. P. McManus. 2002. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in Parasitology* 18(10):452-457.
- Thompson, R. C. A. and L. M. Kumaratilake. 1982. Intraspecific variation in *Echinococcus granulosus*: the Australian situation and perspectives for the future. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 76(1):13-16.
- Van Herwerden, L., R. B. Gasser and D. Blair. 2000. ITS-1 ribosomal DNA sequence variants are maintained in different species and strains of *Echinococcus*. *International Journal for Parasitology* 30(2):157-169.
- Van Herwerden, L., R. B. Gasser and D. Blair. 2000. ITS-1 ribosomal DNA sequence variants are maintained in different species and strains of *Echinococcus*. *International Journal for Parasitology* 30(2):157-169.
- Wachira, T. M., J. Bowles, E. Zeyhle and D. P. McManus. 1993. Molecular examination of the sympatry and distribution of sheep and camel strains of *Echinococcus granulosus* in Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 48(4):473-479.
- Xiao, N., J. Qiu, M. Nakao, K. Nakaya, H. Yamasaki, Y. Sako, W. Mamuti, P. M. Schantz, P. S. Craig and A. Ito. 2003. Short report: Identification of *Echinococcus* species from a yak in the Qinghai-Tibet plateau region of China. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69(4):445-446.

© 2016 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 (CA-BI.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 03.09.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 595.751.4+595.774.2
DOI: 10.12737/23070

Для цитирования:

Матюхин А.В. Форезия пухоедов (*Mallophaga*) на мухах кровососках (*Hippoboscidae*) // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 471–474

For citation:

Matyukhin A.V. The phoresy of the louse *Mallophaga* on the population of the louse-fly *Hippoboscidae*. *Russian Journal of Parasitology*, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 471–474

ФОРЕЗИЯ ПУХОЕДОВ (*MALLOPHAGA*) НА МУХАХ КРОВСОСКАХ (*HIPPOBOSCIDAE*)

Матюхин А.В.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071, Москва, Ленинский просп., 33, e-mail: amatyukhin53@mail.ru

Реферат

Цель исследований — изучение роли форезии пухоедов на мухах кровососках.

Материалы и методы. За 1997–2015 гг. отловлено более 10000 птиц, с которых собрано и исследовано около 2000 кровососок.

Результаты и обсуждение. Отмечено 12 случаев форезии пухоедов на мухах кровососках: 7 случаев форезии *Columbicola columbae* на кровососках *Pseudolynchia canariensis*, собранных с сизых голубей *Columba livia*; один — форезии пухоеда *Ricinus rubeculae* на кровососке *Orniyomyia fringillina* с зарянки *Erithacus rubecula*; один — форезии пухоеда на *O. avicularia* с грача *Corvus frugilegus*; один — форезии пухоеда на *O. avicularia* с кукушки *Cuculus canorus*; один — форезии пухоеда на *Ornithoica turdi* с соловья *Luscinia luscinia*; один случай форезии пухоеда на *O. chloropus* с варакушки *Luscinia svecica*.

Ключевые слова: форезия, птицы, пухоеды, мухи-кровососки.

Введение

Первые сведения о форезии пухоедов (*Mallophaga*) на мухах кровососках (*Hippoboscidae*) содержатся в работе Aube [3]. Марков [2] первым обсудил это явление в отечественной литературе. Занимаясь изучением паразитофауны скворцов *Sturnus vulgaris* в Старом Петергофе, он выявил случаи форезии пухоеда *Philopterus sturni* у 25% мух кровососок *Ornithomyia chloropus*. Кроме того, он провел краткий анализ описанных в литературе случаев форезии, обсудил разные точки зрения на это явление и пришел к выводу о направленном действии этого явления и ... «что природная малая подвижность пухоедов подотряда *Ischnocera* возмещается явлением форезии».

Keirans [7] при анализе литературы о форезии пухоедов на кровососках взял на себя нелегкий труд проанализировать все доступные литературные сведения о форезии более чем за сто лет. Автор считает, что форезии — это связь между двумя видами, при которой одно животное прикрепляется к другому и уносится от потенциально неоптимальной среды. Меньший по размерам пухоед *Mallophaga* при помощи своих мандибул прикрепляется к большей по размерам мухе кровососке и транспортируется от менее благоприятных условий обычно мертвой птицей. Однако, еще чаще кровососки с форезирующими пухоедами снимаются с абсолютно здоровых и живых птиц. В этом случае вопрос неоптимальной среды не актуален. Соглашаясь с точкой зрения Farish, Axtell [6], Keirans полагает, что вместо пассивного определения форезии как дисперсии, необходимо признать более точное понятие и широкое признание термина «перевозка». С другой стороны, Ansari [4] указывает,

что перенос пухоедов мухами птиц чисто случайное, а не обычное явление. Поскольку почти все виды пухоедов — специализированные паразиты птиц, в то время как кровососки, в том числе и *Omithomya* полигостальны, многие авторы полагают, что форезия имеет небольшую ценность выживания для пухоеда. Однако, Corbet [5] показал, что обмен мух был более обычен между птицами того же вида, чем между разными видами. Corbet объясняет этот факт тем, что птицы одного вида, как правило, обитают вместе. Таким образом, чем больше стая птиц, тем более обычна форезия пухоедов на мухах.

У пухоедов *Mallophaga* в период размножения от хозяина-донора (родителя) к реципиенту (птенцу) передаются все стадии развития. Прямая передача хозяин-хозяин предполагает более широкие перспективы на выживание, чем любые другие способы. С другой стороны, поскольку расселение присуще каждой особи, эти бескрылые эктопаразиты столкнулись с последней отчаянной ситуацией — ползком, перемещаясь к кончикам волос или перьев в поисках проходящего мимо животного или форезии. Возможно, форезия как механизм выживания и расселения используется чаще, чем это было до сих пор известно [7].

Материалы и методы

За 19 лет (1997–2015 гг.) отловлено более 10000 особей птиц, с которых собрано и исследовано около 2000 кровососок.

Результаты и обсуждение

С 5.7.2002 по 13.10.2015 нами отмечены:

— 7 случаев форезии *Columbicola columbae* на кровососках *Pseudolynchia canariensis*, собранных с сизых голубей *Columba livia*;

— один случай форезии пухоеда *Ricinus rubeculae* на кровососке *Orniyhomyia fringillina* с зарянки *Erithacus rubecula*;

— один случай форезии пухоеда на *Ornithomyia avicularia* с грача *Corvus frugilegus*;

— один случай форезии пухоеда на *O. avicularia* с кукушки *Cuculus canorus*;

— один случай форезии пухоеда на *Ornithoica turdi* с соловья *Luscinia luscinia*;

— один случай форезии пухоеда на *Ornithomya chloropus* с варакушки *L. svecica*.

Как видно из наших данных, явление форезии — очень редкое (табл.)

Таблица 1

Пухоеды на мухах кровососках Палеарктики

№ п/п	Муха-кровососка	Птица-хозяин	Дата	Место обнаружения	Пухоеды	Число
1	<i>Pseudolynchia canariensis</i>	<i>Columba livia</i>	5.7.2002	Москва	<i>Columbicola columbae</i>	3
2	<i>P. canariensis</i>	<i>C. livia</i>	11.9.2004	Москва	<i>C. columbae</i>	1
3	<i>P. canariensis</i>	<i>C. livia</i>	1.8.2005	Москва	<i>C. columbae</i>	1
4	<i>P. canariensis</i>	<i>C. livia</i>	27.7.2007	Москва	<i>C. columbae</i>	3
5	<i>P. canariensis</i>	<i>C. livia</i>	14.11.2010	Тульская область	<i>C. columbae</i>	2
6	<i>P. canariensis</i>	<i>C. livia</i>	16.12.2013	г. Ростов	<i>C. columbae</i>	1
7	<i>P. canariensis</i>	<i>C. livia</i>	13.10.2015	Москва	<i>C. columbae</i>	3
8	<i>Orniyhomyia fringillina</i>	<i>Erithacus rubecula</i>	10.8.2012	Карелия	<i>Ricinus rubeculae</i>	3
9	<i>O. avicularia</i>	<i>Corvus frugilegus</i>	3.7.2013	г. Ростов	<i>Mallophaga sp.</i>	1
10	<i>O. avicularia</i>	<i>Cuculus canorus</i>	7.7.2013	Куршская коса	<i>Mallophaga sp.</i>	4
11	<i>O. chloropus</i>	<i>Luscinia svecica</i>	8.8.2007	Карелия	<i>Mallophaga sp.</i>	3
12	<i>Ornithoica turdi</i>	<i>L. luscinia</i>	15.8.2010	ПМП- Молдова	<i>Mallophaga sp.</i>	1

В своей работе Дубинин [1] указывает, что в общих колониях, населенных 10–12 видами птиц, обычно явление перекрестного заражения пухоедами и другими видами эктопарази-



тов. Из 27 видов пухоедов, отмеченных у колониальных птиц пять (19%) видов встречаются на несвойственных им видах.

В Мурманской области на всех видах птиц, за исключением скопы, ласточек и голубей, паразитирует один вид кровососок *Or. chloropus*, который переносит на себе пухоедов всех видов птиц, на которых она паразитирует. В Московской области обитает два вида кровососок (*Or. avicularia* и *Or. fringillina*), которые также паразитируют на всех видах птиц. В Ростовской области на всех птицах паразитируют два вида кровососок (*Or. avicularia*, *Ornithoica turdi*).

Обитая на 1 га припойменного леса в Московской области 1–2 пары рябинников, с которыми описаны пухоеды *Brueelia antimarginalis*, *Brueelia marginata*, *Menacanthus eurysternus*, *Phlopterus bischoffi*, *Ricinus elongates*, в течение гнездового сезона чаще всего контактирует с любыми другими видами птиц и реже с дроздовыми. Поэтому, *O. avicularia* или *O. fringillina* могут перенести на рябинника любой вид пухоеда другого вида птицы и, только, случайно специфичный.

До прилета на места гнездования из мест зимовок на птицах паразитируют местные кровососки, которые могут переносить на палеарктических мигрантов неспецифичных пухоедов. Поэтому для диагностики специфичных для вида птиц пухоедов их исследования в Палеарктике необходимо проводить в начале гнездования — до массового вылета мух-кровососок (с момента прилета до начала июня). Если действительно роль форезии очень велика, на птицах должны быть найдены не специфичные виды пухоедов.

Очевидно, что пухоеды «форезирующие» на специализированных видах кровососок, могут иметь перспективное будущее: голубиная кровососка *Ps. canariensis* может перелететь на соседнего голубя и пухоед *C. collumbae*, встретившись там с неблизкородственными особями своего вида увеличит свою жизнеспособность (за счет гетерозиса).

В условиях Московской области голуби обитают на чердаках вместе с галками и, соответственно, могут обмениваться мухами-кровососками между собой. Так, *O. avicularia* и *Ps. canariensis* могут переносить на себе пухоедов того и другого вида птиц.

Заключение

Согласно нашим данным, форезия — явление очень редкое и, в большей степени, неадаптивное, поскольку ведет к гибели большей части форезирующих пухоедов. Форезия может быть адаптивна только в моновидовых колониях птиц (сизые голуби, ласточки, шурки) и в одновидовых скоплениях любых видов птиц. Во всех остальных случаях форезия гарантирует, как правило, неадресное попадание пухоеда на птицу и соответственно дальнейшую гибель.

Очевидно, что форезия, пыльные ванны, купание и, как следствие, обмен между птицами неспецифичными видами пухоедов имеет огромное значение для их систематики. Все это необходимо учитывать при описании новых видов и определении их видовой принадлежности.

Литература

1. Дубинин В.Б. Исследования адаптаций эктопаразитов. II. Экологические адаптации перьевых клещей и пухоедов // Паразитол. сб. зоол. ин-та АН СССР. — 1947. — Вып. IX. — С. 191–222.
2. Марков Г.С. Явление форезии у пухоедов // Зоол. журн. — 1938. — Т. 17. — С. 634–636.
3. Aube C. Observation relative aux anoplures qui s'attachent aux insectes pour se faire transporter la ou ils doivent trouver une nourriture qui leur est commun avec eux. Ann. Soc. Ent. Fr., 1857, V. 3, pp. 161–162.
4. Ansari M. Associations between the Mallophaga and the Hippoboscidae infesting birds. J. Bombay Nat. Hist. Soc., 1947, V. 46, pp. 509–516.
5. Corbet G.B. The phoresy of Mallophaga on a population of *Ornithomyia fringillina* Curtis (Dipt., Hippoboscidae). Entomol. Mon. Mag., 1956, V. 92, pp. 207–211.
6. Farish D.J., Axtell R.C. Phoresy redefined and examined in *Macrocheles musca domesticae* (Acarina: Macrochelidae). Acarologia, 1971, V. 13, pp. 16–29.
7. Keirans J.E. A review of the phoretic relationship between Mallophaga (Phthiraptera: Insecta) and Hippoboscidae (Diptera: Insecta). J. Med. Entomol., 1975, V. 12, pp. 71–76.



Reference

1. Dubinin V.B. Research of ectoparasite adaptations. Ecological adaptations of feather mites and lice. *Parazitol. sb. zool. in-ta AN SSSR*. [Parasitol. Proc. of Zool. Inst. Acad. of Sci.], 1947, i. IX, pp. 191–222.
2. Markov G.S. The phenomenon of phoresy in lice. *Zool. zhurn.* [Russian Journal of Zoology], 1938, vol. 17, pp. 634–636.
3. Aube C. Observation relative aux anoplures qui s'attachent aux insectes pour se faire transporter la ou ils doivent trouver une nourriture qui leur est commune avec eux. *Ann. Soc. Ent. Fr.*, 1857, vol. 3, pp. 161–162.
4. Ansari M. Associations between the Mallophaga and the Hippoboscidae infesting birds. *J. Bombay Nat. Hist. Soc.*, 1947, vol. 46, pp. 509–516.
5. Corbet G.B. The phoresy of Mallophaga on a population of *Ornithomyia fringillina* Curtis (Dipt., Hippoboscidae). *Entomol. Mon. Mag.*, 1956, vol. 92, pp. 207–211.
6. Farish D.J., Axtell R.C. Phoresy redefined and examined in *Macrocheles musca domesticae* (Acarina: Macrochelidae). *Acarologia*, 1971, vol. 13, pp. 16–29.
7. Keirans J.E. A review of the phoretic relationship between Mallophaga (Phthiraptera: Insecta) and Hippoboscidae (Diptera: Insecta). *J. Med. Entomol.*, 1975, vol. 12, pp. 71–76.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23070

Received 03.09.2016

Accepted 28.11.2016

THE PHORESY OF THE LOUSE MALLOPHAGA ON THE POPULATION OF THE LOUSE-FLY HIPPOBOSCIDAE

Matyuhin A.V.

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, 119071, Moscow, Leninsky Ave., 33, e-mail: amatyukhin53@mail.ru

Abstract

Objective of research: To study the role of phoresy of the louse Mallophaga on the population of the louse-fly Hippoboscidae.

Material and methods: In 1997–2015 more than 10000 birds were caught; from them about 2000 louse-flies Hippoboscidae were collected and studied.

Results and discussion: 12 cases of phoresy of the louse Mallophaga on the louse-fly Hippoboscidae were recorded: 7 cases of phoresy of *Columbicola columbae* on pigeon louse flies *Pseudolynchia canariensis* collected from pigeons (*Columba livia*); one case — phoresy of the louse *Ricinus rubeculae* on the louse fly *Ornithomyia fringillina* from the robin (*Erithacus rubecula*); one case — phoresy of the louse on the louse fly *O. avicularia* from the rook (*Corvus frugilegus*); one — phoresy of the louse on louse fly *O. avicularia* from the cuckoo (*Cuculus canorus*); one — phoresy of the louse on the louse fly *Ornithoica turdi* from the nightingale (*Luscinia luscinia*); one case — phoresy of the louse on the louse fly *O. chloropus* from *Luscinia svecica*.

Keywords: phoresy, birds, louse, louse fly.

© 2016 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 (CA-BI.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 14.04.2016
Принята в печать 14.09.2016

УДК 619: 616.993.192.5.995.1: 576.893.192.6
DOI: 10.12737/23071

Для цитирования:

Белименко В.В., Самойловская Н.А., Новосад Е.В., Христиановский П.И. Риск-ориентированный мониторинг антропозоонозных цестодозов на основе геоинформационных систем // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 475–487

For citation:

Belimenko V.V., Samoylovskaya N.A., Novosad E.V., Khristianovsky P.I. GIS-based risk monitoring of zoonotic cestodiasis in human. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 475–487

РИСК-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ МОНИТОРИНГ АНТРОПОЗООНОЗНЫХ ЦЕСТОДОЗОВ НА ОСНОВЕ ГЕОИНФОРМАЦИОННЫХ СИСТЕМ

Белименко В.В.¹, Самойловская Н.А.², Новосад Е.В.^{1,3}, Христиановский П.И.⁴

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.П. Коваленко (ВИЭВ), 109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, кор. 1, e-mail: vlad_belimenko@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина, 117218, г. Москва, ул. Большая Черемушкинская, д. 28, e-mail: samoylovskaya@vniigis.ru

³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, 117997, г. Москва ул. Островитянова, д. 1, e-mail: novyi@yandex.ru

⁴Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Оренбургский государственный аграрный университет, 460014, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, д. 18), e-mail: christianovsky@bk.ru

Реферат

Цель исследования — разработать модель риск-ориентированного мониторинга антропозоонозных цестодозов на основе геоинформационных систем.

Материалы и методы. Использование геоинформационных систем (ГИС) как метода для риск-ориентированного мониторинга антропозоонозных цестодозов дает возможность создание модели многоуровневой платформы, которая позволяет решение широкого спектра задач в области борьбы с этими заболеваниями. Современные ГИС-инструменты реализуют методы геоинформатики, используя мощные программно-аппаратные средства: географические Web-серверы открытого доступа, инструменты сложного многофакторного пространственного анализа, устройства для формирования точнейших электронных и подготовки высококачественных бумажных карт.

Полнофункциональные ГИС содержат полный набор средств геопространственной обработки, включая сбор данных, их интеграцию, хранение, автоматическую обработку, редактирование, создание и поддержку топологии, пространственный анализ, связь с системой управления базами данных (СУБД), визуализацию и создание твердых копий любой картографической информации.

Результаты и обсуждение. Использование ГИС позволяет более полно изучать закономерности эпизоотического процесса и географию антропозоонозных цестодозов и совершенствовать методологию эпизоотологического анализа как в глубокой длительной ретроспективе, так и в небольших временных интервалах.

Ключевые слова: геоинформационные системы, риск-ориентированный мониторинг, Список МЭБ, эхинококкоз, гидатидоз, цистицеркоз, тениоз, тениаринхоз.



Сокращения: КРС — крупный рогатый скот, ГИС — геоинформационные системы, МЭБ — Международное Эпизоотическое Бюро, ВСЭ — ветеринарно-санитарная экспертиза, РФ — Российская Федерация.

Введение

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) человечеству угрожает более 500 видов паразитарных червей. В мире зарегистрировано свыше 150 болезней, передающихся от животных к человеку. Эти заболевания ежегодно уносят более 15 миллионов человеческих жизней.

Антропозоогельминтозы (гельминтозоозы) — гельминтозы, возбудители которых способны паразитировать у человека и животных (греч. *anthropos* — человек, *zoon* — животное, *posus* — болезнь). Среди этих паразитов большое значение для ветеринарии и медицины имеют цестоды, которые на разных стадиях жизненного цикла поражают и животных, и человека. Об актуальности данных заболеваний свидетельствует тот факт, что эхинококкоз и цистицеркоз свиней включены в Список МЭБ (OIE Listed diseases), в который в настоящее время входят 119 наиболее опасных и экономически значимых болезней животных [1, 13, 14, 15].

При одних цестодозах половозрелая стадия возбудителя обитает в кишечнике у человека (тениды), а личиночная — у животных (цистицерки). При других (эхинококкоз) у человека и животных локализуются личиночные стадии паразитических червей, а у плотоядных — половозрелые гельминты.

Целью исследований являлась разработка модели риск-ориентированного мониторинга антропозоонозных цестодозов на основе геоинформационных систем (ГИС).

Краткая характеристика возбудителей антропозоонозных цестодозов

Эхинококкоз [1]

Заболевание одно из самых значимых и широко распространенных гельминтозов в мире, представляющий серьезную проблему не только в ветеринарии, но и в медицине. Возбудитель — *Echinococcus granulosus* — локализуется в печени, легких, иногда в мозге, глазах и костях. Ларвоцисты представляют собой одиночные или множественные водяные пузыри (гидатиды) диаметром от 1,5...2 мм до 15 см.

Половозрелый эхинококк — очень мелкая цестода, длиной от 2 до 6 мм, состоит из сколекса, вооруженного 28...40 крючьями, и 3...4 члеников. Зрелым является последний членик, заполненный мешковидной маткой, в которой находится 500...800 зрелых яиц (с онкосферой внутри). Взрослые цестоды паразитируют в кишечнике плотоядных животных.

Источником инвазии человека являются зараженные животные: в природе плотоядные животные (волки, шакалы и др.), в синантропных очагах — собаки. Зрелые членики *E. granulosus*, наполненные яйцами, отрываются от тела паразита и при дефекации или самостоятельно выползают из анального отверстия наружу, попадая на шерсть животного и загрязняя траву или водоисточники. Травоядные животные, в том числе сельскохозяйственные (коровы, олени, козы, свиньи), заражаются эхинококкозом, съедая траву, загрязненную фекалиями плотоядных животных, которые, в свою очередь, поедая мясо и внутренности (особенно печень и легкие) копытных животных, содержащие ларвоцисты, заражаются эхинококкозом с развитием ленточной его стадии, завершая на этом биологический цикл развития паразита (рис. 1) [16].

Общность обитания и алиментарные связи по схеме хищник — жертва с постоянной сменой хозяев в сообществе диких копытных и плотоядных животных обуславливают существование природных очагов эхинококкоза.

Человек заражается при разделке шкур диких плотоядных животных, контакте с зараженными собаками, на шерсти которых имеются онкосферы, и употреблении немывтых ягод и трав, овощей с огородов, посещаемых зараженными собаками, использовании сырой воды из загрязненных водоисточников. Поэтому эхинококкоз чаще встречается у охотников и скотоводов, особенно когда собакам скармливают термически обработанные внутренности зараженных домашних травоядных животных.

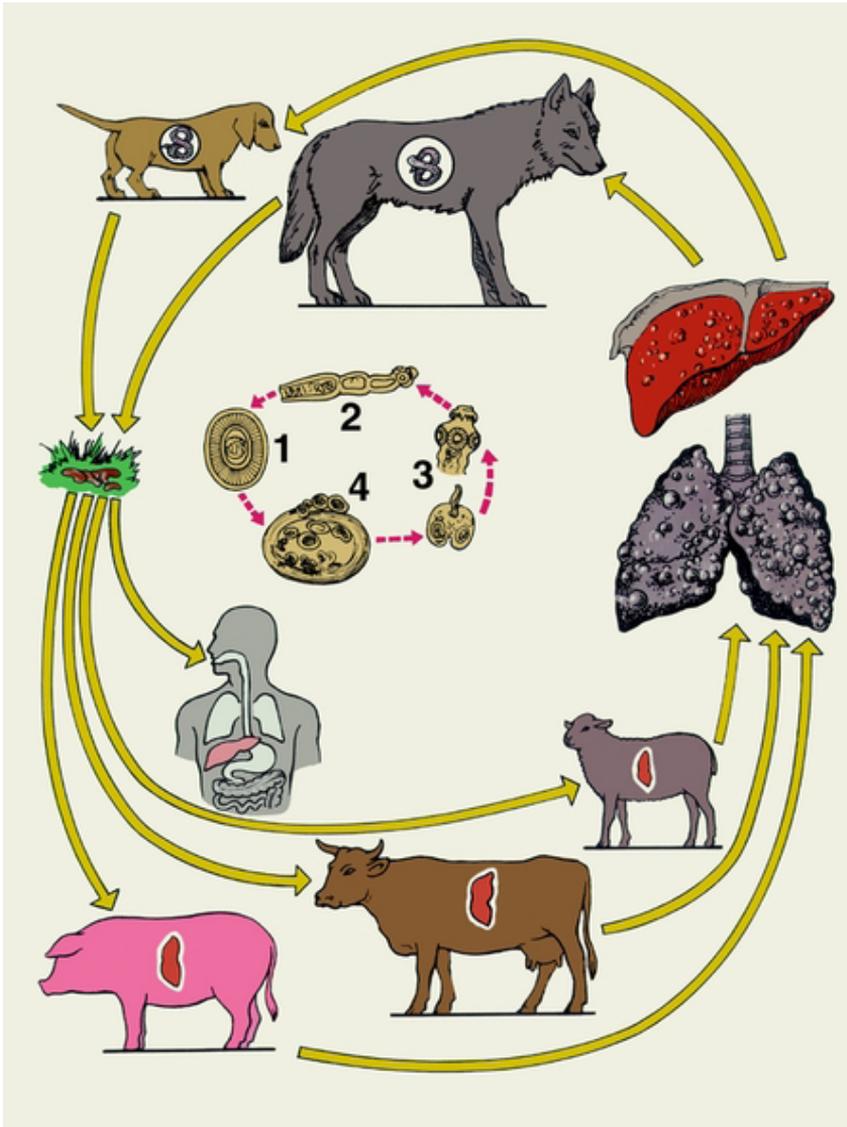


Рис. 1. Цикл развития *Echinococcus granulosus*

Крупный и мелкий рогатый скот может быть механическим переносчиком яиц эхинококка, на шерсть которого они попадают с травы загрязненных пастбищ, поэтому надо соблюдать осторожность, например, тщательно мыть руки после доения коров и стрижки овец.

Наличие природных очагов, а также смешанных и синантропных в результате тесного контакта с зараженными собаками или употребления немывтых ягод и овощей с огородов, посещаемых этими.

Источник возбудителя заболевания для жвачных, свиней и других животных — собаки, волки, лисицы, шакалы, песцы, инвазированные имагинальной стадией и выделяющие с фекалиями зрелые членики этого паразита, а для плотоядных — жвачные и свиньи, пораженные личинками (гидатидами) эхинококка.

Факторы передачи возбудителя — трава, различные виды корма и вода, загрязненные члениками и яйцами эхинококков, выделенными собаками, волками и другими плотоядными с фекалиями и заглатываемые жвачными и всеядными. Факторами передачи эхино-



кошка дефинитивным хозяевам являются пораженные паразитами органы (печень, легкие и другие) промежуточных хозяев [1, 13].

Человек заражается алиментарным путем: через грязные руки, воду и пищу, а также непосредственно при контакте с собакой или через различные предметы (овечья шерсть, шкура плотоядных, кожа и другие), загрязненные фекалиями большой собаки.

В РФ неблагополучными по эхинококкозу животных являются регионы Черноземья, Северного Кавказа, Поволжья и Уральский экономический район, где преобладают синантропные очаги, а также Сибирь и Дальний Восток, в которых доминируют природные очаги.

В целом по России наблюдается неоднородная картина распространения эхинококкоза. Уровень зараженности овец составляет 8,7...10,7 %, КРС — 3,9...4,5%, свиней — 3,8...4,3 %. Активно функционирующие циклы эхинококка преобладают на Северном Кавказе (овечий и свиной варианты), в Черноземной зоне и Поволжье (свиной, овечий и бычий варианты), на Урале (преимущественно овечий вариант) [1, 3, 4, 5, 11].

Эхинококкоз плотоядных не учитывается ветеринарной статистикой. За последние 30 лет общая зараженность собак цестодами составляла 5...15 %, бродячих собак — 70...80 %, а на Северном Кавказе и в Поволжье достигает до 100 % [3, 4, 5].

Цистицеркоз (финноз) КРС вызывается цистицерком (*Cysticercus bovis*) — личиночной стадией бычьего цепня (*Taeniarhynchus saginatus*) из сем. Taeniidae.

Цистицеркоз КРС и тениаринхоз человека чаще встречаются в республиках Средней Азии, Закавказья, в южных и восточных районах Сибири.

Taeniarhynchus saginatus — крупная (до 10 м в длину) цестода с невооруженным сколексом, двухлопастным яичником и большим числом боковых ветвей, отходящих от продольного ствола матки (18...32), и огромным количеством яиц в зрелом членике (до 175000). Продолжительность жизни — более 10 лет [6].

Дефинитивный хозяин — только человек, а промежуточные — КРС, а также буйволы, зебу и яки. Зрелые членики бычьего цепня попадают во внешнюю среду вместе с экскрементами человека, а также могут выползти из анального отверстия. *Cysticercus bovis* — полупрозрачный пузырек, наполненный жидкостью, от 5 до 9 мм длины и 3...6 мм ширины; внутри пузырька находится один сколекс.

Если человек, в кишечнике которого находится один или несколько бычьих цепней, не пользуется уборной, а загрязняет фекалиями огород, двор, пастбище, сарай, то после подсыхания экскрементов яйца и онкосферы цестод рассеиваются во внешней среде, падая на траву, сухой корм и в воду.

КРС заражается цистицеркозом при заглатывании с кормом или водой яиц или онкосфер бычьего цепня, из которых формируются цистицерки в поперечнополосатой мускулатуре животного. Через 2,5...4 месяца они достигают величины горошины и способны заразить человека.

При употреблении в пищу сырой, плохо проваренной или недожаренной говядины, содержащей жизнеспособные цистицерки, происходит заражение человека тениаринхозом. В кишечнике человека цепень начинает расти, достигая половой зрелости через 2,5...3 месяца. Один бычий цепень за год выделяет во внешнюю среду около 2,5 тыс. члеников, содержащих свыше 400 млн яиц.

Возбудитель **цистицеркоза (финноза) свиней** — *Cysticercus cellulosae*, представляет собой личиночную стадию свиного цепня (*Taenia solium*) из сем. Taeniidae. Кроме свиней, цистицеркозом поражаются кабаны, собаки, кошки и человек.

Излюбленные места локализации цистицерков в организме промежуточных хозяев — сердце, скелетная мускулатура, у человека — чаще глаза и головной мозг.

Taenia solium имеет длинную стробилу (от 1 до 3 м). Сколекс вооружен двумя рядами крючьев (22...32). В стробиле около 900 члеников, причем в гермафродитных члениках часто ширина превышает длину, а в зрелых — наоборот. Половые отверстия неправильно чередуются. Характерные для этой цестоды признаки — вооруженный сколекс, трехлопастной яичник в гермафродитном членике и небольшое число боковых ветвей в матке зрелого членика (7...12). Каждый зрелый членик содержит около 50 тыс. яиц. Яйца округлой формы, серого цвета, зрелые, покрыты нежной оболочкой, легко разрушающейся во внешней среде. Онкосфера, снабженная тремя парами эмбриональных крючьев, достигает 0,03...0,04 мм длины и 0,02...0,03 мм ширины.



Cysticercus cellulosae представляет собой полупрозрачный пузырек округлой или овальной формы, величиной от горошины до фасоли, содержит внутри сколекс с четырьмя присосками и двойным рядом крючьев.

Развитие этого цепня происходит при участии дефинитивного хозяина (человека) и промежуточных (свиней и др.). Человек — носитель половозрелой стадии *Taenia solium* — вместе с экскрементами выделяет во внешнюю среду зрелые членики этого цепня, которые часто разрушаются, освобождая огромное количество яиц (онкосфер) паразита. Свиньи склонны к копрофагии, поэтому они могут поедать фекалии человека вместе с яйцами или члениками цепня и заражаться цистицеркозом. Инвазионной стадии в теле промежуточных хозяев цистицерки достигает через 2,5...4 месяца.

Человек заражается тениозом (возбудитель — *Taenia solium*) при употреблении в пищу сырого или плохо прожаренного свиного мяса, инвазированного жизнеспособными цистицерками. В кишечнике человека цепень становится половозрелым спустя 2...3 месяца. В некоторых случаях промежуточным хозяином *Taenia solium* может оказаться человек. Это происходит при аутоинвазии, когда во время рвоты у человека зрелые членики цепня отрываются от стробилы и попадают в желудок, и при заглатывании яиц (онкосфер) цепня. В обоих случаях под влиянием желудочного сока оболочка яйца растворяется, а освободившийся зародыш при помощи эмбриональных крючьев внедряется в слизистую оболочку кишечника, затем в кровеносные сосуды и током крови заносится в излюбленные места локализации, где формируется цистицерк.

Источник распространения инвазионного начала и заражения свиней цистицеркозом — большой тениозом человек, который может годами выделять во внешнюю среду членики цепня. Неблагоустроенные уборные, доступные для свиней, собак и кошек, или отсутствие их, бродяжничество животных, высокая устойчивость яиц цепня к факторам внешней среды способствуют распространению цистицеркоза свиней. Яйца цепня сохраняют жизнеспособность при высушивании несколько месяцев, при действии на них 10-20%-ного раствора хлорной извести — до пяти часов [13].

Материалы и методы

Использование системы управления базами данных (СУБД) геоинформационными системами (ГИС) предназначены для хранения и управления всеми типами данных, включая географические (пространственные) данные. Эти данные получают чаще всего методами пространственного дистанционного зондирования — проведения измерений координат объектов на земной поверхности с использованием лазерных дальномеров на земных пунктах наблюдения и отражателей, расположенных борту искусственных спутников Земли (ИСЗ). Используются также приемники системы глобального позиционирования и другие радиометрические устройства, работающие на измерении эффекта Доплера. Эти устройства собирают данные в виде наборов координат или изображений (преимущественно цифровых) и обеспечивают широкие возможности обработки, анализа и визуализации полученных данных. Современные ГИС-инструменты реализуют методы геоинформатики, используя мощные программно-аппаратные средства: географические Web-серверы открытого доступа, инструменты сложного многофакторного пространственного анализа, устройства для формирования точнейших электронных и подготовки высококачественных бумажных карт.

Полнофункциональные ГИС содержат полный набор средств геопрограммной обработки, включая сбор данных, их интеграцию, хранение, автоматическую обработку, редактирование, создание и поддержку топологии, пространственный анализ, связь с СУБД, визуализацию и создание твердых копий любой картографической информации.

ГИС как метод эпизоотологии и эпидемиологии для риск-ориентированного мониторинга антропозоонозных цестодозов представляет модель многоуровневой геоинформационной системы для решения широкого спектра задач в области борьбы с этими заболеваниями [12, 16].

Результаты и обсуждение

Применение ГИС для эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга

Геоинформационная система (ГИС, также географическая информационная система) — информационная система, предназначенная для сбора, хранения, анализа и графиче-

ческой визуализации пространственных данных и связанной с ними информации о представленных в ГИС объектах.

ГИС включают в себя возможности систем управления базами данных (СУБД), редакторов растровой и векторной графики и аналитических средств, которые применяются в картографии, геологии, метеорологии, землеустройстве, экологии, муниципальном управлении, транспорте, экономике, обороне и многих других областях [17].

По территориальному охвату различают глобальные ГИС (global GIS), субконтинентальные ГИС, национальные ГИС, зачастую имеющие статус государственных, региональные ГИС (regional GIS), субрегиональные ГИС и локальные, или местные ГИС (local GIS).

Основные периоды развития ГИС:

Начальный период (поздние 1950— ранние 1970 гг.)

Период государственных инициатив (нач. 1970 — нач. 1980 гг.)

Период коммерческого развития (ранние 1980 — настоящее время)

Пользовательский период (поздние 1980 — настоящее время)

Программные продукты ГИС [17]:

AutoCAD Map 3D — ведущая ГИС-платформа для создания картографических данных и управления ими (Рис. 2). Предоставляет возможность обрабатывать обширные наборы картографических данных средствами AutoCAD, а также работать с инструментами проектирования и функциями ГИС в единой среде, что повышает эффективность рабочего процесса. Как результат, повышаются качество проектирования и производительность. Использование AutoCAD Map 3D 2011 совместно с Autodesk MapGuide Enterprise обеспечивает самый быстрый способ публикации данных в сети Internet и корпоративных сетях. Дает пользователю возможность выбрать любую из более чем 4 тысяч мировых систем координат, либо создать свою собственную. Такие функции, как линейное и нелинейное трансформирование, а также отслеживание координат облегчат привязку проектных данных, подготовленных в AutoCAD.

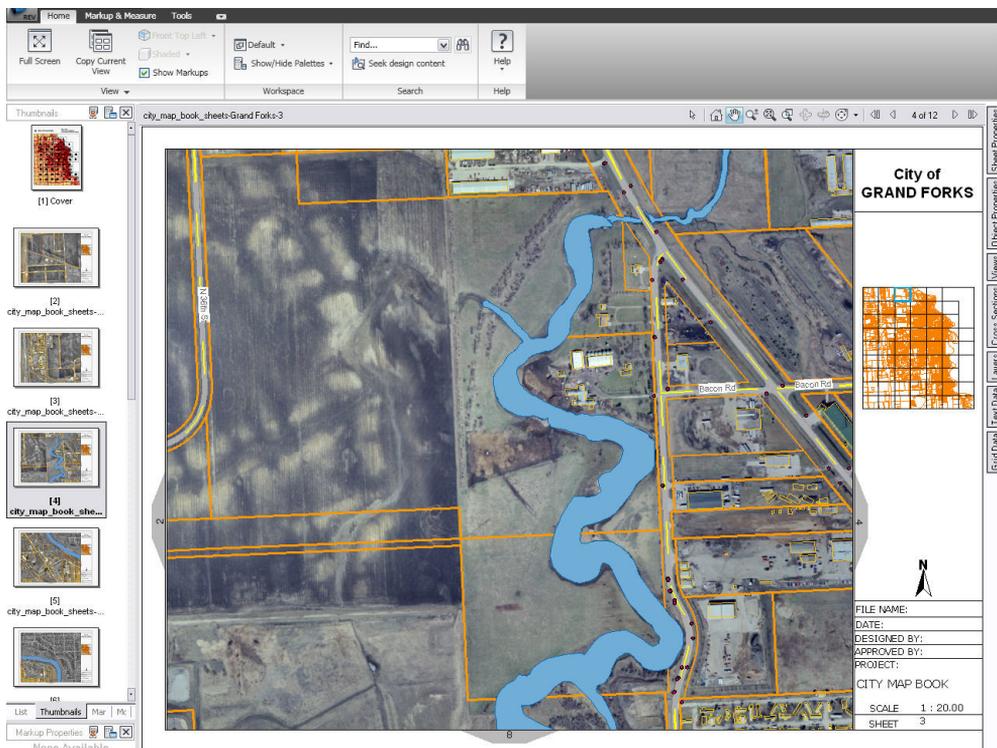


Рис.2. ГИС-платформа AutoCAD Map 3D



ArcGIS 9 построена на основе стандартов компьютерной отрасли, включая объектную архитектуру COM, .NET, Java, XML, SOAP, что обеспечивает поддержку общепринятых стандартов, гибкость предлагаемых решений, широкие возможности взаимодействия. Фундаментальная архитектура ArcGIS 9 обеспечивает ее использование во многих прикладных сферах и на разных уровнях организации работы: на персональных компьютерах, на серверах, через Web, или в «полевых» условиях (Рис. 3).

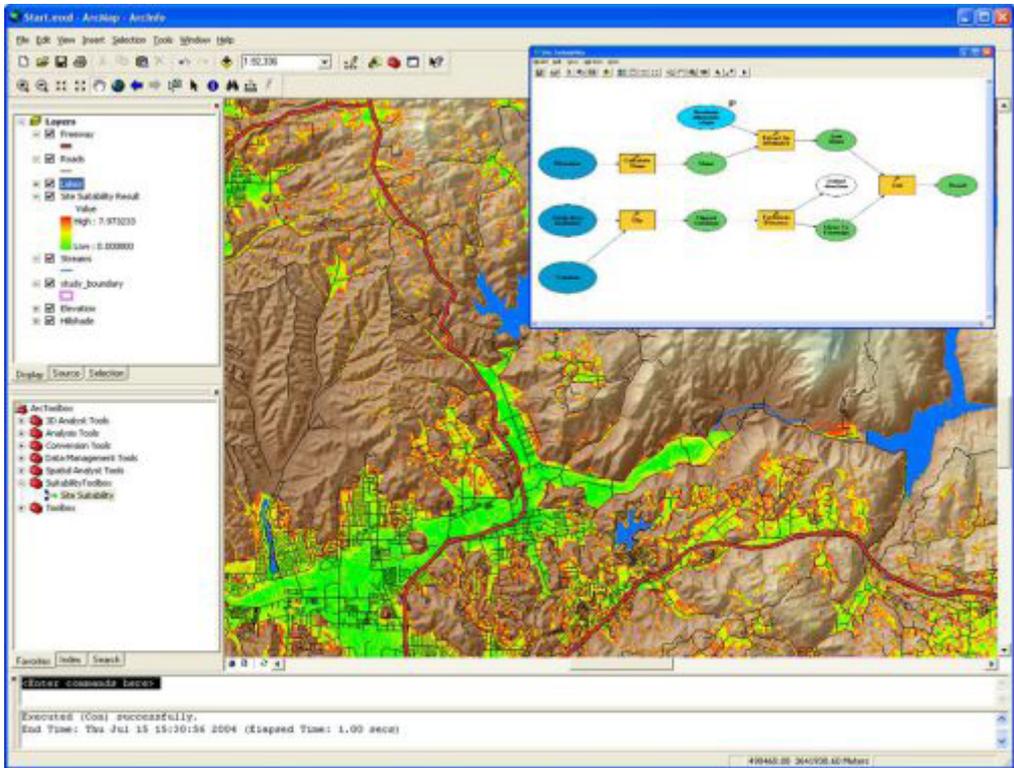


Рис.3. ГИС-платформа ArcGIS 9

Autodesk MapGuide Studio позволяет быстро публиковать карты и развертывать геоинформационные приложения на MapGuide Open Source или Autodesk MapGuide Enterprise локально, по сети и в полевых условиях (Рис. 4).

IndorGIS — в концепцию системы вошли организация графической информации в виде совокупности разнотипных графических слоёв (геоинформационных топологических и нетопологических, слоёв чертежей, растровых изображений, моделей рельефа, косметических слоёв и др.) (Рис. 5).

Для мониторинга болезней животных и человека широко применяется картографический метод, который позволяет изучать закономерности пространственного размещения объектов исследования и отдельные аспекты развития эпизоотий болезней на определенной территории путем составления и использования нозологических карт, которые можно рассматривать в качестве способа исследования, применяя в ретроспективе и в прогнозировании.

Благодаря ГИС преодолеваются основные недостатки обычных карт (статичность данных и ограниченность емкости бумаги как носителя информации), обеспечивается расширение масштаба и детализации данных.

Эпизоотологическая ГИС — это информационная система, позволяющая производить сбор, хранение и анализ эпизоотологической информации с возможностью её отображения на географических картах, и составления отчетности по заданным параметрам. Использо-

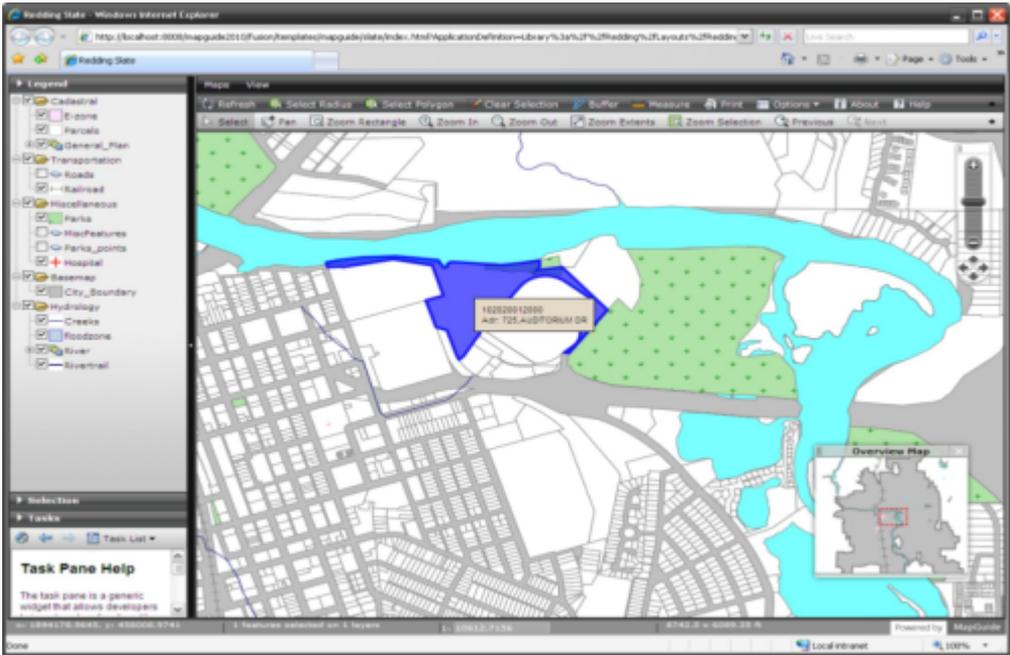


Рис.4. ГИС-платформа Autodesk MapGuide Studio

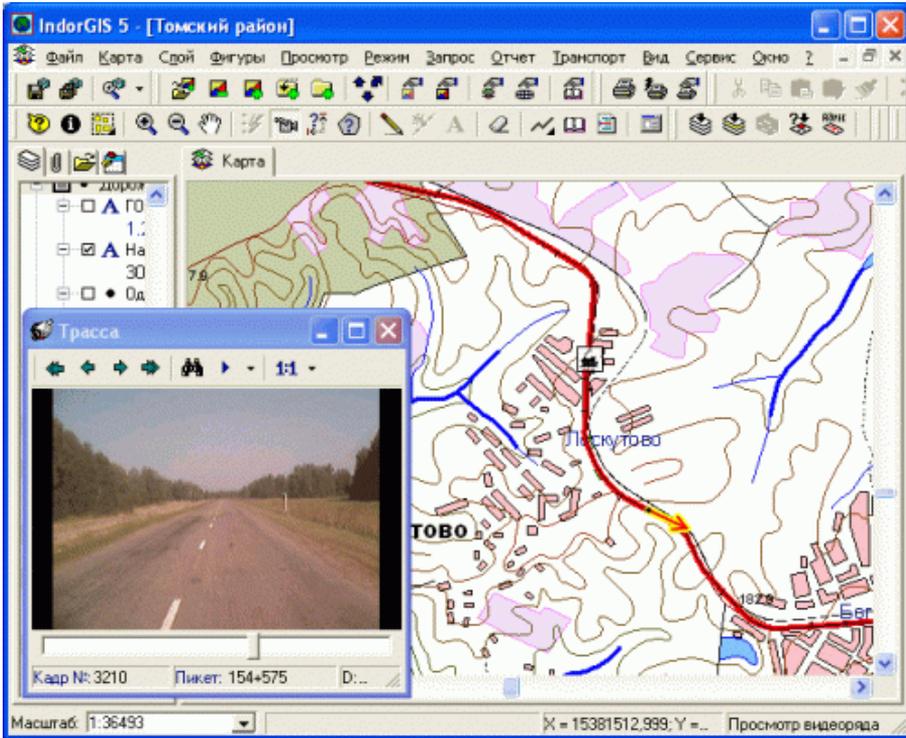


Рис. 5. ГИС-платформа IndorGIS



вание ГИС позволяет более полно изучать закономерности эпизоотического процесса и географию болезней животных и человека, и на основе этого совершенствовать методологию эпизоотологического анализа как в глубокой длительной ретроспективе, так и в небольших временных интервалах. Базы данных ГИС позволяют на основании итоговых отчетов ветеринарных, медицинских научных организаций и надзорных органов проводить текущий и ретроспективный мониторинг эпизоотической и эпидемиологической ситуации [12].

ГИС является идеальным инструментом анализа рисков и мониторинга природно-очаговых паразитарных болезней животных и человека. В отличие от обычных эпизоотических карт с ограниченными возможностями заполнения легенды данными и отражения динамики процесса в пространстве и времени, ГИС позволяют в неограниченном объеме собирать, обрабатывать, моделировать и анализировать данные в зависимости от решаемой задачи, а также отображать их на экране монитора или на бумажном носителе. При этом возможно отображение карты в различных масштабах и в виде отдельных частей (от карты государства в целом до небольшого локального биотопа) и различных слоев карты (например, очаги болезней и их лоймопотенциал, экстенсивность инвазии среди животных и людей в данной местности и др.).

Риск-ориентированный мониторинг антропозоонозных цестодозов

Реальный путь повышения экономических показателей животноводства — комплексная борьба с гельминтозами и другими инвазионными болезнями.

В случае антропозоонозных цестодозов, возбудители которых являются биогельминтами, борьба с ними и профилактика должна быть направлена на уничтожение имагинальных стадий паразитов с помощью дегельминтизации дефинитивных хозяев и на разрыв жизненного цикла и недопущение заражения как дефинитивных, так и промежуточных хозяев.

Знание жизненного цикла паразита помогает прогнозировать возможность заражения животных и людей. Так при цистном эхинококкозе наиболее оптимальными мерами борьбы и профилактики являются меры, направленные на недопущение заражения людей и сельскохозяйственных животных: контроль за безнадзорными собаками, ограничение числа приотарных собак до 2...3 собак на отару, регистрация собак, представляющих хозяйственную ценность и их плановая ежеквартальная дегельминтизация, запрет содержания собак в местах хранения кормов, кошарах и базах и соблюдение правил личной профилактики при общении с собаками.

Для предотвращения заражения собак следует проводить убой скота только на убойных пунктах и мясокомбинатах, где следует обеспечить тщательный ветеринарно-санитарный осмотр мясных туш с последующим уничтожением или надежным обеззараживанием пораженных органов, проводить своевременную уборку и утилизацию трупов павших сельскохозяйственных животных, а также запретить убой скота на пастбищах, фермах, личных подворьях и скармливание пораженных эхинококком органов собакам.

В некоторых регионах в комплекс противозачинокозных мероприятий возможно внесение изменений и дополнений в зависимости от зональных особенностей ведения животноводства и эпизоотологии гельминтоза.

Одним из наиболее важных источников информации о наличии очагов эхинококкоза являются сведения лабораторий ВСЭ продовольственных рынков, мясокомбинатов и боен. Наличие пораженных органов в субпродуктах из определенной местности (фермы, частного подворья) свидетельствует о наличии источника заражения — больной собаки, которая инвазирует окружающую среду и животных, и, возможно, людей. Причем данная собака будет являться источником инвазии в течение 6 месяцев (срок жизни цестоды). Для устранения очага заболевания в данном населенном пункте следует провести комплекс диагностических и лечебных мероприятий у животных (копроскопия у собак и их дегельминтизация) и людей из группы риска (ультразвуковое исследование и компьютерная томография внутренних органов). При этом все данные о случаях эхинококкоза следует вносить в специализированную базу данных на базе ГИС с привязкой к местности.

В условиях города условия для реализации жизненного цикла эхинококка достаточно неблагоприятные, т.к. практически отсутствуют сельскохозяйственные животные (за исключением единичных случаев в частном секторе), мясо и субпродукты реализуются через



торговую сеть и проходят ВСЭ, значительную часть собак кормят готовыми коммерческими кормами. Эти условия разрывают цикл развития паразита и предотвращают заражение как definitive, так и промежуточных хозяев. Однако фактором заноса гельминтоза на территорию города могут быть бродячие собаки, а также несанкционированная торговля мясными продуктами, не прошедшими ВСЭ, или завоз пораженных субпродуктов для личного потребления.

Особо следует отметить необходимость проведения риск-ориентированного мониторинга эхинококкоза на особо охраняемых природных территориях: заповедники, национальные парки т.д., на которых возможна циркуляция возбудителя между бродячими собаками и дикими плотоядными с одной стороны и дикими жвачными с другой. Так, при вскрытии павших диких непарнокопытных на территории национального парка «Лосиный остров» Н.А. Самойловской [7, 8, 9] были обнаружены эхинококковые пузыри (стерильные) в паренхиматозных органах. Это свидетельствует о наличии на данной территории зараженных плотоядных, которые могут служить источником заражения и для людей. В этом случае эффективными мерами борьбы являются своевременная уборка трупов павших животных и ликвидация бродячих собак.

Данные варианты также следует учитывать при проведении риск-ориентированного мониторинга эхинококкоза и прогнозирования случаев заболевания животных и людей.

В случае цистицеркоза КРС и свиней источником инвазии является человек, который может представлять угрозу в течение нескольких лет. При обнаружении цистицерков в тушах животных при ВСЭ в рамках риск-ориентированного мониторинга следует провести диагностические и лечебные мероприятия среди людей, предполагаемых в качестве источника (обслуживающий персонал, члены семьи, которым принадлежало животное).

В комплексе противогельминтозных мероприятий значительная роль принадлежит пропаганде научными и практическими ветеринарными и медицинскими работниками гельминтологических знаний среди широких слоев населения, и в первую очередь среди животноводов и птицеводов. Наиболее, распространенной формой является устная пропаганда знаний (чтение лекций, выступление по радио, проведение семинаров, бесед и т.п.). Важная роль в пропаганде гельминтологических знаний принадлежит печатной форме (публикация научно-популярных статей в газетах и журналах, выпуск плакатов, брошюр и листовок, а также просмотр кинофильмов на гельминтологические темы). Подобная пропаганда повышает грамотность и сознательность сельского населения по вопросам ветеринарной гельминтологии [7, 13].

Заключение. Построение эффективной системы риск-ориентированного мониторинга антропоозоонозных цестодозов, представленной на Рис. 6, возможно на базе многоуровневых специализированных геоинформационных систем при совместной работе ветеринарных и медицинских служб.

Литература

1. Бессонов А.С. Цистный эхинококкоз и гидатидоз. М.: ВИГИС, — 2007. — 672 С.
2. Георгиу Х., Белименко В.В., Самойловская Н.А. Паразитарные болезни животных из Списка МЭБ: Монография — Москва: Инфра-М. — 2016. — 88с.
3. Горохов В.В., Самойловская Н.А., Скира В.Н. Прогноз эпизоотической ситуации в Российской Федерации по основным гельминтозам животных в 2013 году // Российский паразитологический журнал. — 2013. № 4. — С. 57 -59.
4. Горохов В.В., Самойловская Н.А., Пешков Р.А. Прогноз эпизоотической ситуации в Российской Федерации по основным гельминтозам на 2014 год // Российский паразитологический журнал. — 2014. — №2. — С. 32-33.
5. Горохов В.В., Самойловская Н.А., Успенский А.В., Клёнова И.Ф., Пешков Р.А., Пузанова Е.В., Москвин А.С. Современная эпизоотическая ситуация и прогноз по основным гельминтозам животных в России на 2015 год // Российский паразитологический журнал. — 2015. — №1. — С. 41-45.
6. Капустин В.Ф. Атлас гельминтов сельскохозяйственных животных. — М.: ГИСХЛ. — 1953. — 139 С.
7. Самойловская Н.А. Зараженность лосей национального парка «Лосиный остров» паразитами // Российский паразитологический журнал. — М. — 2008. — № 3. — С. 29-32.
8. Самойловская Н.А. Сравнительный анализ паразитофауны пятнистых оленей и лосей в национальном парке «Лосиный остров» // Российский паразитологический журнал. — М. -2008. — В. 4. — С. 13-16.



9. Самойловская Н.А. Экология гельминтов диких жвачных в национальном парке «Лосиный остров» // Российский паразитологический журнал. — М. — 2013. — Вып. 3. — С. 45-49.
10. Разиков Ш.Ш. Эпизоотологический процесс при эхинококкозе сельскохозяйственных животных // Ветеринарная патология. — 2009. — № 3. — С. 123-125.
11. Христиановский П.И., Белименко В.В. Мониторинг эхинококкоза сельскохозяйственных животных на Южном Урале // Российский ветеринарный журнал. СХЖ. — 2015. — № 2. — с. 26-27.
12. Шабейкин А.А., Гулюкин А.М., Хисматуллина Н.А. Опыт использования ГИС-технологий при оценке рисков в эпизоотологическом исследовании // В сборнике трудов V Международного ветеринарного конгресса, Москва, 22-24 апреля 2015. — С. 250-252.
13. Успенский А.В., Горохов В.В. Паразитарные зоонозы. — Москва. — 2012. — 336 с.
14. Eckert J., Gemmel M.A., Meslin F.-X., Pawlowski Z.S. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in humans and animals; a public health problem of global concern // France. OIE. — 2001. — 265 p.
15. Terrestrial Animal Health Code. — France. OIE, 2013.
16. http://dic.academic.ru/dic.nsf/enc_medicine/36365/%D0%AD%D1%85%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BA%D0%BE%D0%BA%D0%BA%D0%BE%D0%B7
17. <https://alkalinina.wordpress.com/2011/01/14/%D0%BE%D0%B1%D0%B7%D0%BE%D1%80%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D0%BC%D0%BC%D0%BD%D1%8B%D1%85%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%BE%D0%B2-%D0%B3%D0%B8%D1%81/>

References

1. Bessonov A.S. *Tsistnyi ehinokokkoz i gidatidoz* [Cystic echinococcosis and hydatidosis]. M., VIGIS, 2007. 672 p.
2. Georgiu H., Belimenko V.V., Samoylovskaya N.A. *Parazitarnye bolezni zhivotnyh iz Spiska MEB* [OIE-listed parasitic diseases of animals]. M., Infra-M, 2016. 88p.
3. Gorokhov V.V., Samoylovskaya N.A., Skira V.N. Forecast of epizootic situation on main helminthiases in the Russian Federation for the year 2013. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2013, no. 4, pp. 57 -59.
4. Gorokhov V.V., Samoylovskaya N.A., Peshkov R.A. Forecast of epizootic situation on main helminthiases of animals in the Russian Federation for the year 2014. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2014, no. 2, pp. 32-33.
5. Gorokhov V.V., Samoylovskaya N.A., Uspenskiy A.V., Klyonova I.F., Peshkov R.A., Puzanova E.V., Moskvina A.S. Current epizootic situation and forecast on main helminthiases of animals in the Russian Federation for the year 2015. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2015, no.1, pp. 41-45.
6. Kapustin V.F. *Atlas gel'mintov sel'skhozjajstvennyh zhivotnyh* [Atlas of the most common helminths of the agricultural animals]. M., State Publishing House of Agricultural Literature, 1953. 139 p.
7. Samoylovskaya N.A. Infestation of elks with parasites in Losiny Ostrov National Park. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2008, no. 3, pp. 29-32.
8. Samoylovskaya N.A. Comparative analysis of parasite fauna in dappled deer from Losiny Ostrov National Park. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2008, no. 4, pp.13-16.
9. Samoylovskaya N.A. Ecology of helminths in wild ruminant from Losiny Ostrov National Park. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2013, no. 3, pp.45-49.
10. Razikov Sh.Sh. Epizootological process of echinococcosis in farm animals. *Veterinarnaya patologiya* [Veterinary pathology], 2009, no. 3, pp.123-125.
11. Khristianovskiy P.I., Belimenko V.V. Monitoring of echinococcosis in farm animals from the Southern Ural. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2015, no. 2, pp. 26-27.
12. Shabeykin A.A., Gulyukin A.M., Hismatullina N.A. Experience in GIS technologies for estimating risk of epizootological monitoring. *Sbornik trudov V Mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa* [Proc. of the 5th Int. Vet. Congress. 22-24 Apr. 2015]. M., pp. 250-252.
13. Uspenskiy A.V., Gorokhov V.V. *Parazitarnye zoonozy* [Parasitic zoonoses]. M., 2012, 336p.
14. Eckert J., Gemmel M.A., Meslin F.-X., Pawlowski Z.S. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in humans and animals; a public health problem of global concern. France. OIE, 2001. 265 p.
15. Terrestrial Animal Health Code. France. OIE, 2013.
16. http://dic.academic.ru/dic.nsf/enc_medicine/36365/%D0%AD%D1%85%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BA%D0%BE%D0%BA%D0%BA%D0%BE%D0%B7
17. <https://alkalinina.wordpress.com/2011/01/14/%D0%BE%D0%B1%D0%B7%D0%BE%D1%80%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D0%BC%D0%BC%D0%BD%D1%8B%D1%85%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%82%D0%BE%D0%B2-%D0%B3%D0%B8%D1%81/>

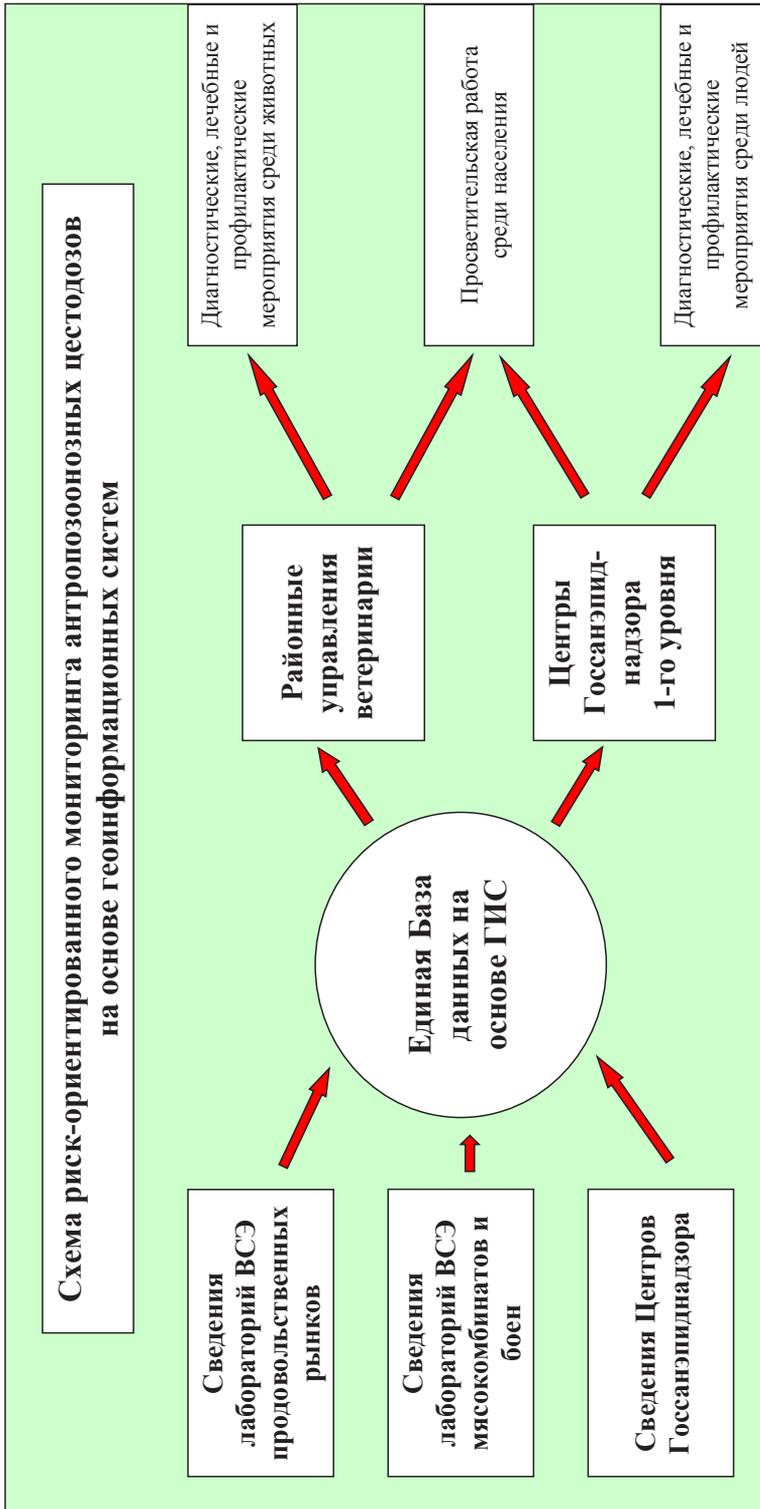


Рис. 6. Схема риск-ориентированного мониторинга антропонозных цестодозов на основе геоинформационных систем



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23071

Received: 14.04.2016

Accepted: 14.09.2016

GIS-BASED RISK MONITORING OF ZONOTIC CESTODIASIS IN HUMAN

Belimenko V.V.¹, Samoylovskaya N.A.², Novosad E.V.³, Christianovsky P.I.⁴

¹All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine named after Y.R. Kovalenko, 109428, Moscow, Ryazansky pr., 24-1, Russia, e-mail: vlad_belimenko@mail.ru

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

³The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, 117997, Moscow, 1 Ostrovityanov St., Russia, e-mail: novyi@yandex.ru

⁴Orenburg State Agrarian University, 460014, Orenburg, 18 Chelyuskintsev St., Russia, e-mail: christianovsky@bk.ru

Abstract

Objective of research: The target of the paper is to develop a model of GIS-based risk monitoring of zoonotic cestodiasis in human.

Materials and methods: The use of geographic information systems (GIS) as an epizootiological and epidemiological method for the risk-based monitoring of human cestodiasis enables the development of a multi-level platform for solution of a wide range of tasks related to the control of this disease. The modern GIS tools use the methods of geoinformatics applying powerful software and hardware: open access geographic web servers, tools for multidimensional complex analysis, creating most accurate electronic and paper maps. Full-featured GIS contain a full set for processing geospatial data including acquisition of data, its integration and storage, automatic data processing, editing, creation and maintenance of topology, spatial analysis, access to the database management system (DBMS), visualization and creation of hard copies of any cartographic data.

Results and discussion: The use of GIS enables to study more closely the regularities of epizootic process, geography of human cestodiasis and to improve the methodology both for short-term and long-term retrospective epizootiological analyses.

Keywords: geographic information systems (GIS), risk-based monitoring, the OIE List, hydatid disease, hydatidosis, cysticercosis, taeniasis, beef tapeworm infection.

© 2016 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 (CA-BI.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: 26.05.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.132
DOI: 10.12737/23072

Для цитирования:

Криворотова Е.Ю., Нагорный С.А. Область применения температурных ЕРД-моделей дирофиляриоза // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38, Вып. 4. — С. 488–495

For citation:

Krivorotova E.Y., Nagorny S.A. Areas of application of temperature based DDU models for dirofilariasis. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 488–495

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ЕРД-МОДЕЛЕЙ ДИРОФИЛЯРИОЗА

Криворотова Е.Ю., Нагорный С.А.

Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, 344000, г. Ростов-на-Дону, пер. Газетный, д. 119, e-mail: krivorotova_elena@mail.ru, lab-parazit@bk.ru

Реферат

Цель исследования — изучить возможность применения температурной ЕРД-модели для профилактики дирофиляриоза.

Материалы и методы. При математическом моделировании дирофиляриоза использована климатическая HDUs-модель, которая основана на влиянии среднесуточной температуры воздуха на скорость развития личинок дирофилярий в комарах. Для развития личинок до инвазионной стадии необходима сумма в 130 единиц развития дирофилярий (ЕРД), накопленная в срок не более 30 суток при среднесуточной температуре свыше 14 °С. Для расчета использованы ежедневные данные о среднесуточной температуре воздуха для городов Ростов-на-Дону (1996–2012 гг.), В. Новгород (2008–2012 гг.), Анапа и Астрахань (2008–2012 гг.).

Результаты и обсуждение. По результатам температурного моделирования установлено, что ЕРД-модели имеют низкую значимость для прогнозирования заболеваемости собак дирофиляриозом (коэффициент корреляции Пирсона минус 0,45). Модель учитывает только среднесуточную температуру и не учитывает другие факторы, влияющие на показатели заболеваемости. Сроки эпидемического сезона дирофиляриоза в г. Ростове-на-Дону с 1999 по 2012 гг. отличались в зависимости от среднесуточных температур. Так, самая ранняя дата начала сезона передачи дирофиляриоза за этот период приходится на 2012 год — 12 мая, самая поздняя на 2001 год — 29 июня. Определены оптимальные сроки профилактики дирофиляриоза у собак: для г. Ростова-на-Дону, Анапы, Астрахани дачу микрофилярицидов собакам необходимо продолжать с 15 мая по 4 ноября, в г. Великом Новгороде — с 15 июня по 31 августа. Таким образом, ЕРД-модели дирофиляриоза можно применять для установления сроков эпидемиологического сезона дирофиляриоза и сроков профилактической обработки собак от дирофиляриоза.

Ключевые слова: дирофиляриоз, температурная модель, единица развития дирофилярий (ЕРД), эпидемиологический сезон.

Введение

Возбудители трансмиссивных паразитозов для достижения инвазионной стадии проходят в переносчике цикл развития, скорость которого зависит от температуры окружающей среды. Глобальное потепление климата может привести к расширению ареалов возбудителей трансмиссивных болезней и их переносчиков и к росту заболеваемости [2, 6, 11]. Для



прогнозирования уровня заболеваемости и ареалов распространения возбудителей трансмиссивных паразитозов проводят математическое моделирование — наиболее популярны однофакторные температурные модели. Модели дирофиляриоза, основанные на влиянии температуры на время инкубации личиночной стадии дирофилярий в комарах, базируются на исследованиях J.F. Fortin и J. Slocombe [7], продемонстрировавших, что развитие микрофилярий *Dirofilaria immitis* до инвазионной стадии при температуре 30 °С завершается за 8–9 суток. Первая температурная модель передачи дирофиляриоза сформулирована в 1989 г. [12]. Позднее исследователи разработали температурные модели дирофиляриоза для Европы [8], Канады [9], Англии [10], Аргентины, Чили, Уругвая [2] и других стран.

Нами в данной работе рассмотрены возможные области применения температурных моделей дирофиляриоза, особое внимание уделено прогнозированию дирофиляриоза.

Материалы и методы

Для получения температурных моделей дирофиляриоза применен метод математического моделирования. За образец взята климатическая HDUs-модель [12], которая основана на влиянии среднесуточной температуры воздуха на скорость развития личинок дирофилярий в комарах с порогом в 14 °С. При температуре выше пороговой накапливаются единицы развития дирофилярий (ЕРД). Для развития личинок до инвазионной стадии необходима сумма в 130 ЕРД. Модель сформирована с учетом того, что 130 ЕРД должны накопиться в срок, не превышающий 30 суток.

Для расчета ЕРД использована формула (1):

$$\begin{aligned} \text{ЕРД} &= T_{\text{ср.ст.}} - 14, \text{ если } T_{\text{ср.ст.}} > 14 \\ \text{ЕРД} &= 0, \text{ если } T_{\text{ср.ст.}} \leq 14, \end{aligned}$$

где $T_{\text{ср.ст.}}$ — среднесуточная температура воздуха окружающей среды (для отрицательных величины ЕРД устанавливается значение ноль).

Для расчета использованы ежедневные данные о среднесуточной температуре с местных метеорологических станций в период с 1996 по 2012 гг. для г. Ростов-на-Дону, с 2008 по 2012 гг. для г. В. Новгород и с 2009 по 2012 гг. для городов Анапа и Астрахань.

Статистическая обработка данных проведена при помощи программных пакетов MedCalc 13.0.2, Microsoft Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Возможность применения ЕРД-моделей для прогнозирования дирофиляриоза. В ходе исследования рассчитаны температурные модели дирофиляриоза для территорий, где ранее нами изучена пораженность этим нематодозом окончательных и промежуточных хозяев (Ростовская, Астраханская, Новгородская области и Краснодарский край). Данные расчета числа генераций дирофилярий приведены на рисунке 1.

Наибольшее число генераций личинок в комарах в течение года на исследованных территориях могло быть реализовано в г. Астрахани (в среднем, 9,3). При этом зараженность дирофиляриями домашних собак в г. Астрахани низкая — 2,6% [1].

Вторым по среднегодовому числу генераций микрофилярий в комарах является г. Анапа — в среднем, 9 генераций в год. В г. Анапе, где регулярно планомерно проводятся обработки от кровососущих насекомых, показатели экстенсивности инвазии домашних собак дирофиляриозом высокие — 15,3% [5].

В г. Ростове-на-Дону в среднем могло быть реализовано 7 генераций дирофилярий в комарах. По результатам ранее проведенных нами исследований, экстенсивность инвазии собак дирофиляриями в 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012 гг. составила соответственно 8,8%; 10,8; 12,6; 27,9; 27,8; 26,6; 16,4; 28,4; 31,5; 17,1; 11,1; 8,1; 4,9; 5,8; 10,8% [2, 8].

Разработчики модели указывают, что увеличение числа генераций личинок в сезон может повысить ЭИ собак дирофиляриями в следующем году. Для проверки гипотезы о зависимости показателей экстенсивности инвазии собак дирофиляриями от числа возможных генераций личинок дирофилярий в комарах проведен корреляционный анализ. Мы

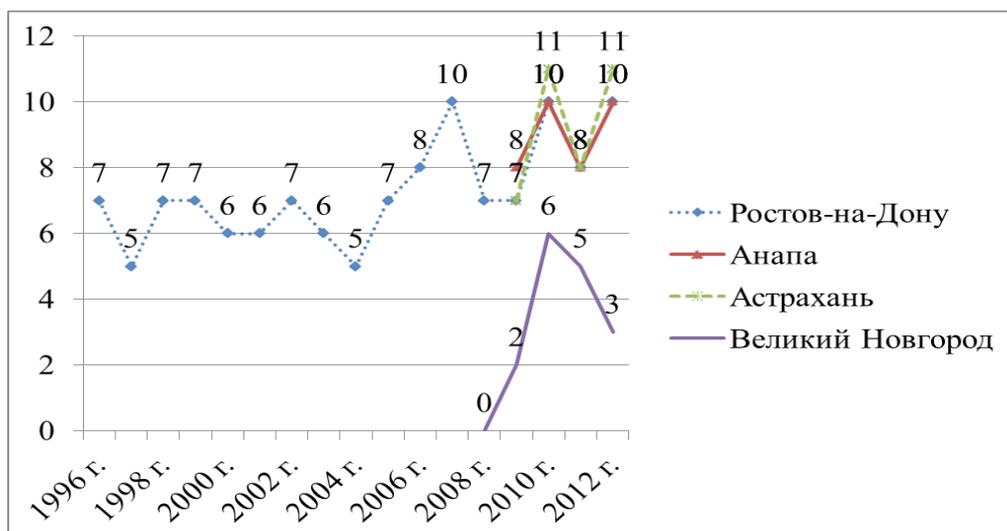


Рис. 1. Число возможных поколений дирофилярий в комарах

сопоставили 15 пар данных: число поколений личинок дирофилярий в комарах (за 1996–2001 гг. и за 2003–2011 гг.) и ЭИ собак дирофиляриями (в 1997–2002 гг. и в 2004–2012 гг.) в г. Ростове-на-Дону. Число возможных поколений личинок дирофилярий в комарах сопоставлялось с ЭИ собак дирофиляриями в следующем году: так число поколений личинок в 1996 г. сравнивали с ЭИ собак дирофиляриями в 1997 г. и т. д. Коэффициент корреляции Пирсона (r) составил: минус 0,45 ($P = 0,09$, доверительный интервал от 0,78 до 0,08). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии положительной корреляционной связи. Результаты проведенного корреляционного анализа в связи с небольшим объемом сравниваемых пар не обладают высокой статистической достоверностью ($P = 0,09$). Использовать для расчета коэффициента корреляции Пирсона большее число сравниваемых пар невозможно в связи с отсутствием данных об инвазированности собак дирофиляриями в г. Ростове-на-Дону ранее 1997 г.

В г. Великом Новгороде среднее число поколений личинок дирофилярий в комарах за 5 лет — 3,2. При этом в разные годы показатели существенно отличаются (от 0 поколений до 6). Высокие летние температуры в 2010–2011 гг. способствовали распространению инвазии среди собак; этому также благоприятствовали обилие переносчиков возбудителей дирофиляриоза (в связи с природным ландшафтом, богатым водными ресурсами) и наличие потенциальных окончателных хозяев.

Результаты проведенного анализа показали, что положительной корреляционной зависимости между данными зараженности собак дирофиляриями и числом поколений личинок нет (рис. 2).

В г. Астрахани самые высокие среднесуточные температуры в сезон передачи инвазии, но зараженность собак дирофиляриями низкая. В г. В. Новгороде, наоборот, летние средние суточные температуры невысокие, а зараженность домашних собак дирофиляриями по сравнению с г. Астраханью в 4 раза больше.

Возможность применения ЕРД-моделей для установления сроков эпидемиологического сезона дирофиляриоза. Расчет эпидемического сезона дирофиляриоза должен основываться на метеорологических данных и результатах фенологических наблюдений за кровососущими комарами родов *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, которые являются основными переносчиками дирофиляриоза.

Температурное моделирование дирофиляриоза целесообразно использовать для расчета энтомологических показателей эпидемического сезона передачи данного паразитоза (по аналогии с критериями, применяемыми для расчета эпидсезона малярии):

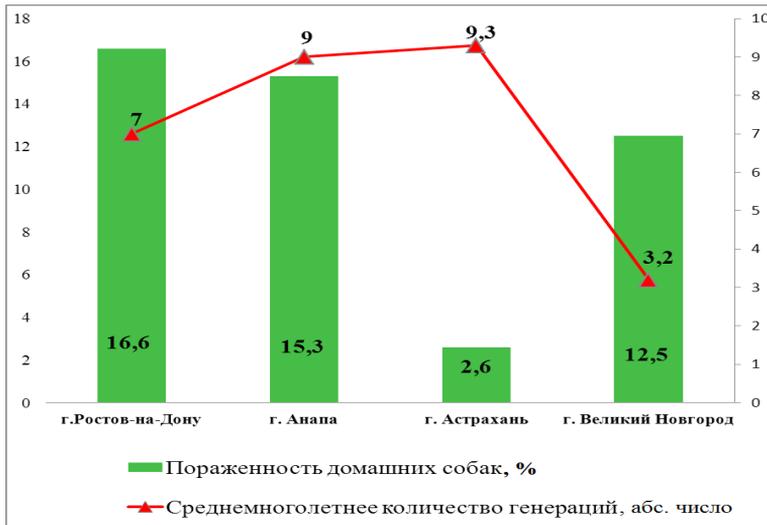


Рис. 2. Средние показатели инвазированности домашних собак дирофиляриями и среднее число генераций личинок в комарах

— **сезона эффективной заражаемости комаров** — периода эпидемического сезона, в течение которого местные температурные условия допускают развитие личинок в теле комара до инвазионной стадии (L3);

— **сезона передачи дирофиляриоза** — часть года, в течение которой происходит (или может происходить) передача дирофилярий окончательным хозяевам (собаки, кошки и другие животные отрядов хищные и вивервовые) и человеку через укусы инвазированных комаров.

Сроки начала и окончания сезонов эффективной заражаемости комаров и передачи дирофиляриоза необходимо рассчитывать ежегодно, так как они существенно меняются в зависимости от колебаний климатических условий. Расчеты проводят ретроспективно на основе среднесуточных температур воздуха местной метеостанции по формуле (1).

За *начало сезона эффективной заражаемости комаров* принимается дата, с которой устанавливаются среднесуточные температуры воздуха выше +14 °С. Необходимо учитывать, что эндофильные самки комаров переваривают кровь на дневках (в жилых или нежилых помещениях для скота), в которых температура обычно выше, чем температура воздуха окружающей среды, поэтому делается поправка на температуру дневок. Для экзотфильной части популяций комаров поправка на температуру дневки не делается. Для определения *сроков окончания эффективной заражаемости комаров* рассчитывают дату окончания развития последней возможной генерации личинок в комаре в текущем году. Для этого устанавливают последний день со среднесуточной температурой воздуха выше 14 °С (периоды кратковременного потепления после длительного похолодания не учитывают). От этой даты в обратном порядке ведут расчет последнего цикла развития личинок дирофилярий в комарах. Число, на которое приходится сумма в 130 ЕРД, считают датой окончания сезона эффективной заражаемости комаров.

За *начало сезона передачи дирофиляриоза* принимают дату, когда сумма ЕРД достигает 130 единиц. За *окончание сезона передачи дирофиляриоза* принимают дату исчезновения последних самок с кровью на дневках, т. к. большая часть комаров зиму проводят в состоянии диапаузы — в этот период они не питаются кровью.

На основе ретроспективных данных о среднесуточной температуре воздуха окружающей среды рассчитаны сроки эпидемических сезонов дирофиляриоза для г. Ростова-на-Дону в период с 1999 по 2012 гг. (табл. 1).

Таблица 1

Сроки эпидемиологического сезона дирофиляриоза в г. Ростове-на-Дону

Год	Дата			
	начала сезона эффективной заражаемости комаров	начала сезона передачи дирофиляриоза	окончания сезона эффективной заражаемости комаров	падения температуры ниже пороговой (14 °С)*
1999	25 апреля	12 июня	4 сентября	9 октября
2000	18 апреля	7 июня	22 августа	21 сентября
2001	1 мая	29 июня	24 августа	6 октября
2002	30 апреля	20 июня	1 сентября	28 сентября
2003	1 мая	26 мая	27 августа	10 октября
2004	4 мая	27 июня	29 августа	2 октября
2005	4 мая	28 мая	9 сентября	5 октября
2006	6 мая	3 июня	3 сентября	8 октября
2007	29 апреля	26 мая	6 сентября	8 октября
2008	22 апреля	13 июня	28 августа	7 октября
2009	15 мая	10 июня	2 сентября	21 октября
2010	30 апреля	1 июня	3 сентября	30 сентября
2011	25 апреля	2 июня	31 августа	13 октября
2012	6 апреля	12 мая	7 сентября	10 октября

Примечание. * Дату окончания передачи дирофиляриоза лучше рассчитывать исходя из фенологических наблюдений. Дату падения температуры ниже пороговой (14 °С) можно условно принимать за окончание сезона передачи, т. к. большая часть зараженных комаров погибает с учетом того, что от даты окончания сезона эффективной заражаемости комаров проходит более 30 суток. После даты падения температуры ниже пороговой наблюдается резкое снижение среднесуточной температуры (до 10–11 °С и менее), что для ряда видов комаров является нижним порогом активности.

Возможность применения ЕРД-моделей для установления сроков профилактической обработки собак от дирофиляриоза. В континентальном климате передача трансмиссивных болезней не может осуществляться круглогодично: в зимний период отсутствуют условия для развития переносчиков и возбудителей в переносчиках трансмиссии. Во время холодного периода года (при температуре ниже 14 °С) риск заражения дирофиляриями сводится к нулю. Поэтому проводить химиофилактику данного трансмиссивного зооноза у окончательных хозяев в России зимой нецелесообразно.

Опираясь на температурную модель дирофиляриоза (на даты окончания первой и последней инкубации личинок дирофилярий в комарах в течение нескольких лет), можно разработать схемы эффективной микрофилярицидной химиофилактики собак. Начинать химиофилактику ранее сроков развития инвазионной стадии микрофилярий первой генерации в комарах нет необходимости в связи с тем, что заражение собаки в этот период произойти не может. Дата окончания сезона заражения окончательных хозяев дирофиляриями может оказаться более поздней, чем дата окончания развития последней генерации личинок в комарах, т. к. личинки дирофилярий холодостойкие и не теряют инвазионных свойств после окончания инкубации даже при снижении температуры. Окончание сезона трансмиссии лучше определять, исходя из дат стойкого снижения среднесуточных температур ниже пороговых (14 °С), когда активность комаров существенно уменьшается. Дата последнего приема микрофилярицидных препаратов у собак должна основываться на дате окончания сезона передачи, а не на дате окончания сезона эффективной заражаемости комаров (или дате окончания инкубации последней генерации личинок).



В г. Ростове-на-Дону за изученный 17-летний период по результатам расчета ЕРД наиболее раннее в сезоне трансмиссии дирофиляриоза окончание инкубации первой генерации личинок в комарах могло приходиться на 12 мая, крайняя дата окончания инкубации последней генерации — 30 сентября. В г. Астрахани эти даты соответствовали 8 мая и 30 сентября, в г. Анапе — 26 мая и 30 сентября. Среднесуточные температуры на юге России выше пороговых в некоторые годы сохраняются до конца октября — начала ноября: разрыв между датой окончания последней инкубации микрофилярий в комарах и окончанием сезона трансмиссии превосходит продолжительность жизни комаров в дикой природе и составляет месяц и более. В г. В. Новгороде за исследованный 5-летний период первая генерация личинок дирофилярий могла окончить развитие в комаре 7 июня, а последняя 18 августа. При этом в конце августа в В. Новгороде среднесуточные температуры резко снижаются и сезон трансмиссии дирофиляриоза заканчивается.

Заключение

Температурное моделирование дирофиляриоза, пользующееся популярностью у зарубежных и отечественных авторов, имеет низкую значимость для прогнозирования данного заболевания. Однофакторная модель имеет серьезные недостатки: учитывается только температура; обычно применяется для анализа заболеваемости на больших территориях; не учитываются такие важные факторы как: численность окончательных и промежуточных хозяев, наличие возбудителей и их патогенность, меры проводимой профилактики, влажность, ландшафт, высота над уровнем моря и т. д.

ЕРД-моделирование применимо для установления сроков эпидемического сезона дирофиляриоза. Данные о сроках сезонов эффективной заражаемости комаров и передачи дирофиляриоза могут быть использованы для оценки эпидемической обстановки по дирофиляриозу и разработки эффективных дезинсекционных мероприятий.

На юге России ежемесячную микрофилярицидную терапию собак стоит проводить с середины мая по конец октября — первые числа ноября. В Новгородской области (г. В. Новгород) химиопрофилактику дирофиляриоза собак необходимо проводить с середины июня по конец августа. Температурные модели, наряду с изучением зараженности собак и комаров дирофиляриями, позволят специалистам определить сроки химиопрофилактики дирофиляриоза собак на эндемичных территориях и обосновать необходимость диагностического контроля за животными, ввозимыми из эндемичных районов.

Литература

1. Аракельян Р.С. Эпидемиолого-эпизоотологические особенности дирофиляриоза на территории Астраханской области: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2007. — 25 с.
2. Нагорный С.А., Криворотова Е.Ю. Роль служебных собак в распространении дирофиляриоза // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН. — М., 2012. — Вып. 13. — С. 266–269.
3. Chua T.H. Modelling the effect of temperature change on the extrinsic incubation period and reproductive number of *Plasmodium falciparum* in Malaysia. *Trop. Biomed.*, 2012, Vol. 29, No 1, pp. 121–128.
4. Cuervo P.F., Fantozzi M.C., Di Cataldo S. Analysis of climate and extrinsic incubation of *Dirofilaria immitis* in southern South America. *Geospat. Health*, 2013, Vol. 8, No 1, pp. 175–181.
5. Ermakova L.A. Nagorny S.A., Krivorotova E.Y., Pshenichnaya N.Y. Comments in response to the authors of «Human dirofilariasis due to *Dirofilaria repens* in the Russian Federation—remarks concerning epidemiology». *Int. J. Inf. Dis.*, 2014. Mode of access: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.04.024>. — 24.06.2014.
6. Fischer D., Thomas S.M., Suk J.E. et al. Climate change effects on Chikungunya transmission in Europe: geospatial analysis of vector's climatic suitability and virus' temperature requirements. *Int. J. Health Geogr.*, 2013, Vol. 12. — Article 51.
7. Fortin J.F., Slocombe J.O.D. Temperature requirements for the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes triseriatus* and *Ae. vexans*. *Mosq. News*, 1981, Vol. 41, pp. 625–633.
8. Genchi C., Rinaldi L., Mortarino M. et al. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet. Parasitol.*, 2009, Vol. 163, No 4, pp. 286–292.
9. Knight D.H., Lok J.B. Seasonality of heartworm infection and implications for chemoprophylaxis. *Clin. Tech. Small. Anim. Pract.*, 1998, Vol. 13, No 2, pp. 77–82.



10. Medlock J.M., Barrass I., Kerrod E. et al. Analysis of climatic predictions for extrinsic incubation of *Dirofilaria* in the United Kingdom. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2007, Vol. 7, No 1, pp. 4–14.
11. Rahamat–Langendoen J.C., van Vliet J.A., Reusken C. B. Climate change influences the incidence of arthropod-borne diseases in the Netherlands. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 2008, Vol. 152, No 15, pp. 863–868.
12. Slocombe J.O.D., Surgeoner G.A., Srivastava B. Determination of heartworm transmission period and its use in diagnosis and control. *Heartworm Symposium '89*, Washington, DC, 1989, pp. 19–26.

References

1. Arakel'yan R.S. *Epidemiologo-epizootologicheskie osobennosti dirofilarioza na territorii Astrakhanskoj oblasti. Avtoref. dis. ... kand. vet. nauk.* [Epidemiological and epizootological features of dirofilariasis on the territory of the Astrakhan region. Abst. PhD diss. vet. sci.]. M., 2007. 25 p. (In Russian).
2. Nagorniy S.A., Krivorotova E.Yu. The role of service dogs in the dissemination of dirofilariasis. *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: mater. dokl. nauch. konf. VIGIS* [Proc. sci. pract. conf. «Theory and practice of the struggle against parasitic diseases»]. M., 2012, pp. 266–269 (In Russian).
3. Chua T. H. Modelling the effect of temperature change on the extrinsic incubation period and reproductive number of *Plasmodium falciparum* in Malaysia. *Trop. Biomed.*, 2012, vol. 29, no. 1, pp. 121–128.
4. Cuervo P.F., Fantozzi M.C., Di Cataldo S. Analysis of climate and extrinsic incubation of *Dirofilaria immitis* in southern South America. *Geospat. Health*, 2013, vol. 8, no. 1, pp. 175–181.
5. Ermakova L.A. Nagorniy S.A., Krivorotova E.Y., Pshenichnaya N.Y. Comments in response to the authors of «Human dirofilariasis due to *Dirofilaria repens* in the Russian Federation –remarks concerning epidemiology». *Int. J. Inf. Dis.*, 2014. Mode of access: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.04.024>. — 24.06.2014.
6. Fischer D., Thomas S. M., Suk J. E. et al. Climate change effects on Chikungunya transmission in Europe: geospatial analysis of vector's climatic suitability and virus' temperature requirements. *Int. J. Health Geogr.*, 2013, vol. 12. Art. 51.
7. Fortin J.F., Slocombe J.O.D. Temperature requirements for the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes triseriatus* and *Ae. vexans*. *Mosq. News*, 1981, vol. 41, pp. 625–633.
8. Genchi C., Rinaldi L., Mortarino M. et al. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet. Parasitol.*, 2009, vol. 163, no. 4, pp. 286–292.
9. Knight D.H., Lok J.B. Seasonality of heartworm infection and implications for chemoprophylaxis. *Clin. Tech. Small. Anim. Pract.*, 1998, vol. 13, no. 2, pp. 77–82.
10. Medlock J.M., Barrass I., Kerrod E. et al. Analysis of climatic predictions for extrinsic incubation of *Dirofilaria* in the United Kingdom. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2007, vol. 7, no. 1, pp. 4–14.
11. Rahamat–Langendoen J.C., van Vliet J.A., Reusken C. B. Climate change influences the incidence of arthropod-borne diseases in the Netherlands. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 2008, vol. 152, no. 15, pp. 863–868.
12. Slocombe J.O.D., Surgeoner G.A., Srivastava B. Determination of heartworm transmission period and its use in diagnosis and control. *Heartworm Symposium '89*, Washington, DC, 1989, pp. 19–26.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23072

Received: 26.05.2016

Accepted 28.11.2016

AREAS OF APPLICATION OF TEMPERATURE BASED DDU MODELS FOR PREVENTION OF DIROFILARIASIS

Krivorotova E.Y., Nagorny S.A.

FSBI "Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology" Rospotrebnadzor, 344000 Rostov-on-Don, 119 Gazetny per., e-mail: krivorotova_elena@mail.ru

Abstract

Objective of research: To study the possibility of using temperature-based models for prevention of dirofilariasis.

Materials and methods. For mathematical modeling of dirofilariasis we use the HDUs-temperature model based on the impact of the average daily temperature on the rate of development of *Dirofilaria larvae* in mosquitoes.

The amount of 130 DDU (Dirofilaria development units) accumulated in the period no more than 30 days at average daily temperature more than 14°C is required for the development of *Dirofilaria* up to the infective stage.

Daily data on average air temperature in Rostov-on-Don (1996 — 2012), Veliky Novgorod (2008 — 2012), Anapa (2008 -2012) and Astrakhan (2008 -2012) were used for the calculation.

Results and discussion. The results of temperature simulation revealed that the DDU model is a low-priority forecasting model for canine dirofilariasis (Pearson's correlation coefficient minus 0.45). The model considers only the average daily temperature and does not consider other factors affecting the incidence rates.

The epidemic season of dirofilariasis in Rostov-on-Don in 1999 — 2012 differed depending on average daily temperatures. Therefore, the earliest date of the transmission of dirofilariasis in that period fell on the 12th of May, 2012; the latest date — on 29th of June, 2001. The optimal time for prevention of canine dirofilariasis has been defined (in Rostov-on-Don, Anapa and Astrakhan microfilaricides should be given to dogs from May 15 to November 15; in Veliky Novgorod — from June 15 to August 31).

Thus, DDU-models (Dirofilaria Development Units) can be used to set time limits for epidemiological season of dirofilariasis and preventive treatment of dogs against dirofilaria.

Keywords: dirofilariasis, temperature model, *Dirofilaria* development units (DDU), epidemiological season.

© 2016 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 (CA-BI.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 12.06.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.122
DOI: 10.12737/23073

Для цитирования:

Кряжев А.Л. Эколого-эпизоотические особенности трематодозов крупного рогатого скота, их терапия и профилактика в хозяйствах молочной специализации Вологодской области // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 496–501

For citation:

Kryazhev A.L. Ecology and epizootology of trematodosis in cattle, treatment and prevention in dairy cattle farms of Vologda region. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 496–501

ЭКОЛОГО-ЭПИЗООТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТРЕМАТОДОЗОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ИХ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА В ХОЗЯЙСТВАХ МОЛОЧНОЙ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Кряжев А.Л.

Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина, 160555, Вологда-Молочное, ул. Шмидта, д. 2, e-mail: kamarnett@mail.ru

Реферат

Цель исследования — изучить эпизоотологию трематодозов у крупного рогатого скота в условиях молочного скотоводства Вологодской области, оценить антигельминтную эффективность фасциоцида, гельмицида, оксиклозанида, альбендазола, фезола и альбена.

Материалы и методы. Предварительно проведен анализ ветеринарной отчетности департамента ветеринарии, областной и районных СББЖ, областных и районных мясокомбинатов, боен и убойных пунктов, лабораторий ВСЭ по формам 1-Вет А и 5-Вет за 2005–2009 гг. Ежемесячно проводили копроовоскопические исследования крупного рогатого скота с целью установления сезонно-возрастной динамики зараженности. Изучение особенностей биологии промежуточных хозяев проводили общепринятыми методами. При фасциозе и парамфистомозе крупного рогатого скота в производственных условиях молочных ферм и комплексов Вологодской области испытаны фасциоцид в дозе 10 мг/кг (по ДВ), гельмицид — 7,5 г/100 кг, оксиклозанид — 5,25 мг/кг, альбендазол — 15 мг/кг (по ДВ), фезол в дозе 14 мг/кг (по ДВ) и альбен в дозе 10 мг/кг (по ДВ).

Результаты и обсуждения. Инвазированность трематодами в различных климатогеографических зонах области неодинакова. Наибольшая зараженность крупного рогатого скота трематодами отмечена в северо-восточной и юго-восточной зонах, наименьшая — в юго-западной. Взрослый крупный рогатый скот инвазирован *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum cervi* и *P. ichikawai* круглый год с максимумом инвазии в зимний и зимне-весенний период. Телята первого года выпаса начинают заражаться трематодами в начале пастбищного содержания, что свидетельствует о перезимовывании личинок гельминтов в промежуточных хозяевах. Трематоды паразитируют, в основном, в виде микстинвазий. Первые особи малого прудовика и окаймленной катушки появляются в биотопах во второй декаде мая, достигая максимальной численности в августе. Инвазированность их партенитами трематод регистрировали с первой декады июня по октябрь, с максимумом в августе. Наиболее эффективными для дегельминтизаций против фасциол и парамфистом являются фасциоцид, гельмицид и фезол.

Ключевые слова: гельминтозы, трематодозы, эпизоотология, экология, биология, терапия, крупный рогатый скот, Вологодская область.



Введение

Молочное скотоводство является ведущей сельскохозяйственной отраслью в Вологодской области. Общая площадь земельных угодий области 14,4 млн. га, из которых пашня занимает 6%, сенокосы, выгоны и пастбища 10, болота 10, прочая территория — 74%. Гидрография характеризуется густой системой рек, крупных и мелких озер, что вместе с достаточно большим количеством выпадающих осадков обеспечивает обильное увлажнение почвы и способствует хорошему произрастанию кормовых трав — клевера, тимopheевки, мятлики и других злаковых, хорошо поедаемых крупным рогатым скотом. В связи с этим, пастбищное содержание крупного рогатого скота на Вологодчине по-прежнему актуально и практикуется в большинстве животноводческих хозяйств.

В связи с интенсивным использованием пастбищных угодий возникает проблема зараженности животных биогельминтами, в частности, трематодами на территории Вологодской области [1,4].

Цель наших исследований — изучение эпизоотологии фасциолеза и парамфистомоза у крупного рогатого скота в условиях молочного скотоводства Вологодской области, оценка антигельминтной эффективности фаскоцида, гелмицида, оксиклозанида, альбендазола, фезола и альбена.

Материалы и методы

Работу выполняли в 2006–2015 гг. в хозяйствах молочной специализации Вологодской области.

Предварительно нами был проведен анализ ветеринарной отчетности департамента ветеринарии, областной и районных СББЖ, областных и районных мясокомбинатов, боен и убойных пунктов, лабораторий ВСЭ по формам 1-Вет А и 5-Вет за 2005–2009 гг.

Изучен видовой состав обнаруженных у крупного рогатого скота гельминтов, распространение. Ежемесячно проводили копроовоскопические исследования крупного рогатого скота с целью установления сезонно-возрастной динамики зараженности. Изучение особенностей биологии промежуточных хозяев проводили общепринятыми методами

При фасциолезе и парамфистомозе крупного рогатого скота в производственных условиях молочных ферм и комплексов Вологодской области испытаны фаскоцид в дозе 10 мг/кг (по ДВ), гелмицид — 7,5 г/100 кг, оксиклозанид — 5,25 мг/кг, альбендазол — 15 мг/кг (по ДВ), фезол в дозе 14 мг/кг (по ДВ) и альбен в дозе 10 мг/кг (по ДВ).

Результаты и обсуждение

В результате анализа статистической ветеринарной отчетности 1-Вет А за 2005–2009 гг. установили, что в общественном и частном секторах практически ежегодно регистрируют фасциолез (ЭИ 4,8–6,1%) и парамфистоматозы (ЭИ 4,8–17,8%). Результаты осмотра органов и туш на боенских и мясоперерабатывающих предприятиях Вологодской области подтверждают результаты копрологических исследований.

В результате копроовоскопических исследований поголовья крупного рогатого скота нами установлено, что структура и плотность популяции гельминтов в организме животных в различных климатогеографических зонах Вологодской области неодинаковы. Так, наибольшая зараженность крупного рогатого скота трематодами отмечена в северо-восточной и юго-восточной зонах Вологодской области. Фасциолез зарегистрирован у 11,1–31,4% животных в северо-восточной и у 17,1–27,6% в юго-восточной зонах (в среднем, 20,4 и 21%). Парамфистомоз отмечен у 9,3–29,6% животных в северо-восточной и у 13,4–18,4% в юго-восточной зонах (в среднем, 20,2 и 15,6%). Объясняется это, вероятнее всего, тем, что на данной территории находятся небольшие животноводческие хозяйства, в частности, фермерские, с низким уровнем ветеринарного обслуживания. В данных хозяйствах зачастую используется пастбищный способ содержания в летний период при недостатке или полном отсутствии профилактических и лечебных мероприятий. Животные содержатся в неудовлетворительном состоянии, выпасаются на пастбищах, заросших кустарниками, окруженных запущенными мелиоративными каналами, зачастую пастбища находятся в лесной, болотистой зоне. Также нередким является содержание животных в огороженных загонах под открытым небом без выпаса или загонных «передержки» между выпасами на пе-



риод утреннего и вечернего доения. В таких загонах скапливается навоз, образуются лужи и грязь, что создает предпосылки развитию и размножению в них моллюсков — промежуточных хозяев трематод.

Наиболее низкий процент экстенсинвазированности гельминтами установлен в юго-западной климатической зоне. Фасциолезом здесь заражены 10% животных, парамфистоматозами — 10,3%. На данной территории, наряду с небольшими фермерскими, расположены крупнейшие агропромышленные холдинги и сельскохозяйственные предприятия по получению молока. Ветеринарно-зоотехническое обслуживание животных в таких хозяйствах проводится на должном уровне, профилактические мероприятия занимают важное место в данном аспекте, руководители и специалисты хозяйств сотрудничают с региональными и столичными НИИ, регулярно проводят и посещают семинары, тренинги, конференции. Таким образом, в данных хозяйствах в результате научно-обоснованной, эффективной линии профилактики отмечают низкие проценты заболеваемости, в том числе и паразитарной этиологии.

В результате проведенных исследований животных и отдельных органов, установлено, что род *Fasciola* (Rudolphi, 1819) представлен единственным видом *Fasciola hepatica* (L., 1758), а подотряд *Paramphistomata* (Schidat, 1936) двумя видами *Paramphistomum cervi* (Zeder, 1790) и *P. ichikawai* (Fukui, 1922).

В результате ежемесячных копроовоскопических исследований поголовья крупного рогатого скота установили, что выпасавшиеся взрослые животные инвазированы трематодами во все сезоны года. В течение года отмечена значимая разница в структуре и плотности популяции трематод в организме крупного рогатого скота. Экстенсинвазированность фасциолезной инвазией в течение года варьировала от 34,8 до 52%, зараженность парамфистоматозами — от 50 до 65,2%. Максимальную экстенсивность инвазии у выпасавшегося крупного рогатого скота трематодами (фасциолами и парамфистоматозами) отмечали в зимний и зимне-весенний период. Установлено также, что с увеличением экстенсивности инвазии увеличивалось и число яиц (личинок) гельминтов в фекалиях больных животных. Максимальная интенсивность инвазии (экз. яиц (личинок) /1 г фекалий) составила: фасциолами—49,0±2,4 в декабре, парамфистоматозами — 31,4±3,7 в июле.

Установлены сроки заражения трематодами телят первого года выпаса в условиях Вологодской области. Впервые яйца фасциол и парамфистом в фекалиях данной группы животных начали появляться в октябре. Далее по месяцам экстенсинвазированность трематодами телят постепенно увеличивалась, достигая максимальных показателей фасциолами в январе—феврале, парамфистоматозами — в феврале—марте. Также нами отмечено, что у данной группы животных с повышением экстенсинвазированности увеличивалось и число яиц (личинок) паразитов в фекалиях.

Таким образом, телята первого года выпаса в условиях Вологодской области начинают заражаться гельминтами сразу же после перевода их на пастбищное содержание. Объясняется это, скорее всего, тем, что инвазионные личинки гельминтов способны перезимовать в организме промежуточных хозяев и во внешней среде, тем самым обуславливается столь раннее заражение животных партенитами гельминтов генерации прошлого года. Однако следует отметить, что наиболее значительная экстенсинвазированность молодняка трематодами приходится на более поздние осенние и зимние месяцы. С учетом сроков маритогонии, данный факт указывает на то, что в основном заражение телят происходит личинками паразитов генерации текущего года.

При изучении возрастных особенностей инвазирования крупного рогатого скота трематодами установлено, что животные разных возрастных групп инвазированы в различной степени. С возрастом животных инвазированность их фасциолами и парамфистоматозами значительно повышается с одновременным увеличением числа яиц трематод в фекалиях. Наибольшее заражение трематодами регистрировали у животных в возрасте старше 5 лет [2, 3].

Установлено, что ассоциированные инвазии крупного рогатого скота встречаются во всех природно-климатических зонах области, причем, зачастую они являются основной формой паразитирования. Наиболее часто отмечается смешанное паразитирование фасциол и парамфистом (13,4%) и фасциол и дикроцелий (9,6%). Инвазию, вызванную ассо-



циацией (фасциолы + дикроцелии + парамфистомы), отмечали у 3,4% животных. Нередко отмечали совместное паразитирование трематод и нематод (фасциолез + стронгилятозы ЖКТ, парамфистоматоз + стронгилятозы ЖКТ) — 6,2%. Моноинвазии по сравнению с микстинвазиями крупного рогатого скота встречаются значительно реже. По нашим наблюдениям, эпизоотологический процесс при ассоциативных инвазиях активизируют следующие факторы: неудовлетворительные условия содержания животных, недостаток в их рационах микроэлементов и витаминов, загрязненность помещений, территорий ферм, комплексов, пастбищ инвазионными компонентами. Важную роль играет еще и антропогенный фактор (нарушение гигиенических правил, игнорирование ветеринарно-санитарных требований) [5].

В результате изучения встречаемости моллюсков в наиболее распространенных биотопах и динамики их инвазивности парентитами трематод установлено, что первые особи малого прудовика и окаймленной катушки появляются в мелиоративных каналах и мочажинах уже во второй декаде мая: в разные годы на 1 м² насчитывали соответственно 5,7±3,0 и 6,0±2,0 экз. В первой декаде августа заселяемость биотопов моллюсками достигала максимума. Со второй декады августа численность прудовиков и катушек постепенно уменьшалась и уже в октябре моллюсков во временных биотопах не обнаруживали. Отмечали также тот факт, что при заселяемости биотопов пастбищ моллюсками *Planorbis planorbis* резко снижается численность популяции *Lymnaea truncatula*. По-видимому, первый способен вытеснять другие виды.

Личинки трематод начинают появляться в организме моллюсков в первой декаде июня. Далее инвазированность прудовиков и катушек постепенно увеличивается и достигает максимума в июле–августе. Затем экстенсивность инвазии *L. truncatula* и *Pl. planorbis* церкариями фасциол и парамфистом постепенно снижается, причем инвазированными остаются лишь особи малого прудовика и катушек в мелиоративных каналах и заболоченных участках пастбищ, а в октябре парентит паразита не обнаруживали вообще, т. к. в этот период не находили и самих моллюсков [6, 7].

При испытании фаскоцида в дозе 10 мг/кг (по ДВ), гельмицида — 7,5 г/100 кг, оксиклозанида — 5,25 мг/кг, альбендазола — 15 мг/кг (по ДВ) и фезола — 14 и 20 мг/кг (по ДВ) при фасциолезе и парамфистомозе крупного рогатого скота в производственных условиях молочных ферм и комплексов Вологодской области установлена их высокая эффективность. При фасциолезе эффективность составила фаскоцида 100%, гельмицида 100 и фезола 92%, при парамфистомозе — соответственно 100, 84 и 80%. Альбен, часто применяемый в хозяйствах региона, оказался наименее эффективным. Каких-либо отклонений от физиологических норм у животных, получавших антигельминтики, отмечено не было.

Разработка мер профилактики так или иначе связана с изученными ранее вопросами эпизоотологии, биологии, экологии трематод в разрезе изучаемого региона и представляет систему последовательных мероприятий, включающих в себя меры пастбищной профилактики, как решающие, а также диагностические и лечебно-профилактические. Данные мероприятия предусматривают корректировку или полную замену технологии содержания животных в неблагополучных по трематодозам хозяйствах, включают меры по предотвращению заражения гельминтами животных на пастбищах и выгульных участках, оптимизируют сроки диагностических исследований и дегельминтизаций [1, 8, 10].

Литература

1. Горохов В.В., Самойловская Н.А., Успенский А.В., Клёнова И.Ф., Пешков Р.А., Пузанова Е.В., Москвин А.С. Современная эпизоотическая ситуация и прогноз по основным гельминтозам животных в России на 2015 год // Российский паразитологический журнал. — 2015. — №1. — С. 41–45.
2. Кряжев А.Л. Особенности эпизоотологии парамфистомидозов крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // Российский паразитологический журнал. — 2009. — № 2. — С. 51–54.
3. Кряжев А.Л. Особенности эпизоотологии фасциолеза крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН. — М.: ВИГИС, 2010. — С. 249–252.
4. Кряжев А.Л. Распространение гельминтозов крупного рогатого скота в Вологодской области // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН. — М.: ВИГИС, 2011. — С. 258–260.



5. Кряжев А.Л. Микстинвазии крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // Молочно-хозяйственный вестник. — 2011. — № 1. — С. 17–19.
6. Кряжев А.Л. Динамика распространения *Lymnaea truncatula*, Muller, 1774, и их инвазированность церкариями фасциол в биотопах пастбищ Вологодской области // «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»: матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН. — М.: ВИГИС, 2013. — С. 189–192.
7. Кряжев А.Л., Никитин В.Ф. Динамика распространения *Planorbis planorbis*, Linnaeus, 1758, и их инвазированность церкариями парамфистом в биотопах пастбищ Вологодской области // Российский паразитологический журнал. — 2014. — № 1. — С. 49–51.
8. Кряжев А.Л., Лемехов П.А., Бирюков С.А. Основные гельминтозы крупного рогатого скота в хозяйствах молочной специализации Северо-Западного региона Нечерноземной зоны РФ. Рекомендации по борьбе и профилактике. — Вологда-Молочное: ИЦ ВГМХА, 2014 — 84 с.
9. Кряжев А.Л., Никитин В.Ф. Эффективность новых антигельминтиков широкого спектра действия при гельминтозах крупного рогатого скота в условиях Вологодской области // Российский паразитологический журнал. — 2015. — № 3. — С. 75–79.
10. Лемехов П.А., Бирюков С.А., Кряжев А.Л. Парамфистомидоз крупного рогатого скота в хозяйствах Северо-Запада Нечерноземной Зоны РФ. Рекомендации по борьбе и профилактике. — Вологда-Молочное: ИЦ ВГМХА, 2012. — 27 с.

References

1. Gorokhov V.V., Samoylovskaya N.A., Uspenskiy A.V., Klyonova I.F., Peshkov R.A., Puzanova E.V., Moskvina A.S. Current epizootic situation and forecast on main helminthiases of animals in the Russian Federation for the year 2015. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2015, no.1, pp. 41-45.
2. Kryazhev A.L. Epizootological features of paramphistomosis in cattle in the Vologda region. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2009, no. 2, pp. 51 — 54. (In Russian).
3. Kryazhev A.L. Epizootological features of fascioliasis in cattle in Vologda region. *Materialy dokladov nauchnoy konferentsii «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»* [Proc. of sci.-pract. conf. «Theory and practice of the struggle against parasitic diseases»]. M., VIGIS, 2010, pp. 249 — 252. (In Russian).
4. Kryazhev A.L. Prevalence of helminthiasis in cattle in Vologda region. *Materialy dokladov nauchnoy konferentsii «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»* [Proc. of sci.-pract. conf. «Theory and practice of the struggle against parasitic diseases».] M., VIGIS, 2011, pp. 258 — 260. (In Russian).
5. Kryazhev A.L. Mixed infections in cattle under conditions of Vologda region. *Molochnohozyaystvennyy vestnik* [Dairy Farming Journal], 2011, no. 1, pp. 17 — 19. (In Russian).
6. Kryazhev A.L. Dynamics of the distribution of *Lymnaea truncatula*, Muller, 1774, and their contamination by liver fluke *Fasciola hepatica* in pasture biotopes of Vologda region. *Materialy dokladov nauchnoy konferentsii «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»* [Proc. of sci.-pract. conf. «Theory and practice of the struggle against parasitic diseases»]. M., VIGIS, 2013, pp. 189 — 192. (In Russian).
7. Kryazhev A.L., Nikitin V.F. Dynamics of distribution of *Planorbis planorbis*, Linnaeus, 1758, and their contamination by *Paramphistomum spp.* cercaria in pasture biotopes of Vologda region. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2014, no. 1, pp. 49 — 51. (In Russian).
8. Kryazhev A.L., Lemehov P.A., Biryukov S.A. Main helminthiases in cattle from dairy cattle farms in northwestern regions of the Non-Black Earth Zone of RF. *Rekomendatsii po bor'be i profilaktike* [Recommendations for struggle and prevention]. Vologda-Molochnoe, IC VGMHA, 2014. 84 p. (In Russian).
9. Kryazhev A.L., Nikitin V.F. Efficacy of new broad spectrum anthelmintics against cattle helminthiasis under conditions of Vologda region. *Rossiyskiy parazitologicheskyy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2015, no. 3, pp. 75 — 79. (In Russian).
10. Lemehov P.A., Biryukov S.A., Kryazhev A.L. Paramphistomosis in cattle in northwestern regions of the Non-Black Earth Zone of RF. *Rekomendatsii po bor'be i profilaktike* [Recommendations for struggle and prevention]. Vologda — Molochnoe, IC VGMHA, 2012. 27 p. (In Russian).



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23073

Received 12.06.2016

Accepted 28.11.2016

ECOLOGY AND EPIZOOTIOLOGY OF TREMATODOSIS IN CATTLE, TREATMENT AND PREVENTION IN DAIRY CATTLE FARMS OF VOLOGDA REGION

Kryazhev A.L.

Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin, 160555, Vologda, Molochnoye, 2 Schmidt St., e-mail: kamarnett@mail.ru

Abstract

Objective of research: To study the epizootiology of trematodoses of cattle from dairy cattle farms in the Vologda region; to estimate the anthelmintic efficacy of Fascocide, Helmicide, Oxiclozanide, Albendazole, Fezole, Alben.

Materials and methods: A preliminary analysis of veterinary reports of the Department of Veterinary Medicine, the regional Stations on Fight against Diseases in Animals, meat-processing plants and slaughter units, Laboratories of Veterinary and Sanitary Expertise was carried out for the period 2005–2009 according to the Forms «1-Vet» and «5-Vet». Coproovoscopic examinations of cattle were conducted monthly to determine seasonal and age dynamics of infection. Biological features of intermediate hosts were studied by standard methods. Fascocide at the dose of 10 mg a.i./kg, Helmicide — 7,5 g/100 kg, Oxiclozanide — 5,25 mg/kg, Albendazole — 15 mg a.i./kg and Alben — 10 mg a.i./kg were used against fasciolosis and paramphistomosis in cattle under production conditions in dairy farms and complexes of Vologda region.

Results and discussion: The rates of trematode infection in various climatic and geographic zones of the region are different. The highest level of infection was registered in the North Eastern and South Eastern zones, and the lowest — in the South Western.

Adult cattle are infected with *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum cervi* and *P. ichikawai* all year round; the maximum peak of infection is registered in winter and spring seasons. First signs of trematode infection in calves of the first grazing season are observed at the beginning of the pasture season, which is the evidence for the overwintering of helminth larvae in intermediate hosts. Trematode infections manifest commonly as mixed infections.

First individuals of *Lymnaea truncatula* and *Planorbis planorbis* appear in biotopes in the second decade of May, reaching the maximum number in August. Their infection with trematode parthenites is observed in the period from the first half of June to October; the maximum peak of infection — in August. The most effective preparations for dehelminthization against *Fasciola spp.* and *Paramphistomum spp.* are Fascocide, Helmicide and Fezole.

Keywords: helminthiasis, trematodosis, epizootology, ecology, biology, treatment, cattle, Vologda region.

© 2016 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 (CA-BI.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: 29.06.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 591.69: 597.551.2
DOI: 10.12737/23074

Для цитирования:

Минеева О.В. Паразиты обыкновенной щиповки *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758 (Pisces: Cobitidae) в Саратовском водохранилище // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 502–508

For citation:

Mineeva O.V. Parasites of the spiny loach *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758 (Pisces: Cobitidae) from Saratov Reservoir. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 502–508

ПАРАЗИТЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ЩИПОВКИ *COBITIS TAENIA LINNAEUS*, 1758 (PISCES: COBITIDAE) В САРАТОВСКОМ ВОДОХРАНИЛИЩЕ

Минеева О.В.

Институт экологии Волжского бассейна РАН, 445003, Самарская область, г. Тольятти, ул. Комзина, 10, e-mail: ksukala@mail.ru

Реферат

Цель исследований — изучить видовой состав фауны паразитов и показатели зараженности обыкновенной щиповки *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758 Саратовского водохранилища.

Материалы и методы. Сбор материала проводили в акватории Мордово-Кольцовского участка водохранилища (средняя часть водоема) в 2009 и 2014–2015 гг. Отлов рыб осуществляли с помощью гидробиологического сачка. Всего методом полного паразитологического вскрытия исследовано 47 экз. обыкновенной щиповки. Сбор, фиксацию и камеральную обработку паразитологического материала осуществляли по общепринятой методике, видовую диагностику паразитов — по определителям. Для оценки зараженности рыб использовали общепринятые в паразитологии показатели: экстенсивность инвазии, интенсивность инвазии и индекс обилия паразитов.

Результаты и обсуждение. У обыкновенной щиповки Саратовского водохранилища зарегистрировано 7 видов паразитов, относящихся к 5 классам: Monogenea — 1, Cestoda — 1, Trematoda — 3, Nematoda — 1, Bivalvia — 1. Видовой состав паразитов и уровень инвазии ими хозяина находится в прямой зависимости от образа жизни и питания рыб. Питаясь инвазированными придонными и зарослевыми беспозвоночными (олигохеты, личинки и имаго насекомых), щиповка заражается тремя видами гельминтов. Четыре вида паразитов заражают хозяина активным путем. Большинство обнаруженных паразитов являются широкоспецифичными, встречающимися у рыб различных семейств и отрядов. Паразитофауна щиповки включает один вид, узкоспецифичный для нее (моногенея *Gyrodactylus latus* Burchowsky, 1933) и один вид, специфичный для вьюновых рыб (сем. Cobitidae) (метацеркария *Holostephanus cobitidis* Opravilova, 1968). Для четырех видов паразитов щиповка служит окончательным (дефинитивным) хозяином, для трех — промежуточным (дополнительным). Доминантным видом в составе паразитофауны *C. taenia* является трематода *H. cobitidis* (mtc.), экстенсивность заражения которой достигает 97,9% при индексе обилия 10,8 экз. Личинка сосальщика заражает рыбу активным путем, внедряясь через кожные покровы. К числу наиболее патогенных для щиповки паразитов относятся моногенея *G. latus*, метацеркарии трематод *H. cobitidis* и *Paracoenogonimus ovatus* Katsurada, 1914, личинка нематоды *Raphidascaris acus* Bloch, 1779.

Ключевые слова: обыкновенная щиповка, *Cobitis taenia*, паразиты, зараженность, Саратовское водохранилище.



Введение

К щиповкам рода *Cobitis* семейства вьюновых (Cobitidae) отряда карпообразных (Cypriniformes) относят около 45 видов небольших донных рыбок, обитающих в пресноводных и солоноватоводных водоемах Европы, Азии и Северной Африки [24]. На территории России встречаются щиповки 5 видов, 2 из которых (сибирская щиповка *C. melanoleuca* Nichols, 1925 и обыкновенная щиповка *C. taenia* Linnaeus, 1758) обитают в бассейне Волги [21, 22].

Щиповки, как выяснилось благодаря цитогенетическим и молекулярно-генетическим исследованиям, относятся к одной из уникальнейших групп не только рыб, но и всех позвоночных, которые способны образовывать различные межвидовые гибридные ди-, три- и тетраплоидные формы; большинство из них представлены триплоидными клонально-гиногенетически размножающимися самками [4]. В настоящее время число известных биотипов (гибридных форм) щиповок в Восточной и Центральной Европе составляет около двух десятков. Большинство этих биотипов составляют так называемый большой *Cobitis taenia*-гибридный комплекс [24].

Систематика щиповок требует дополнительного изучения с привлечением новых методов; весьма перспективным представляется применение данных паразитологического исследования рыб.

Согласно литературным источникам [6–9, 16, 17], в бассейне Волги для обыкновенной щиповки известно 37 видов паразитов, относящихся к 8 классам: Kinetoplastomonada — 2, Muxosporidia — 3, Peritricha — 3, Monogenea — 3, Cestoda — 5, Trematoda — 14, Nematoda — 4, Crustacea — 3. Исследования, проведенные в начале 1990-х гг., выявили у щиповки Саратовского водохранилища 7 видов паразитов, в т. ч. два вида слизистых споровиков, один вид моногеней, три вида трематод и один вид нематод [2].

Цель настоящей работы — характеристика видового состава фауны паразитов обыкновенной щиповки в Саратовском водохранилище.

Материалы и методы

В основу работы положены материалы, полученные в результате паразитологического вскрытия 47 экз. обыкновенной щиповки в 2009 и 2014–2015 гг. Рыб отлавливали в акватории Мордово-Кольцовского участка Саратовского водохранилища (53°10' с.ш.–49°26' в.д.) (средняя часть водоема) с помощью гидробиологического сачка. Длина исследованных животных (стандартная длина тела SL) [20] составила от 40,0 до 104,2 мм. Вскрытие рыб, сбор, фиксацию и камеральную обработку паразитов осуществляли по общепринятой методике [3] с учетом дополнений по метацеркариям трематод [23], видовую диагностику паразитов — по определителям [18, 19, 23]. Математическую обработку проводили в пакетах программ Microsoft Excel. Для количественной характеристики зараженности животных использовали общепринятые в паразитологии показатели: экстенсивность инвазии, интенсивность инвазии и индекс обилия паразитов.

Результаты и обсуждение

У *C. taenia*, отловленных в среднем участке Саратовского водохранилища, обнаружено 7 видов паразитов, относящихся к 5 классам (табл. 1).

Таблица 1

Паразиты обыкновенной щиповки в Саратовском водохранилище

Паразит	Локализация	ЭИ, %	ИИ, экз.	ИО, экз.
Monogenea				
<i>Gyrodactylus latus</i> Burchowsky, 1933	Жабры, плавники	21,28	1–5	0,45
Cestoda				
<i>Biacetabulum appendiculatum</i> (Szidat, 1937)	Кишечник	6,38	1–3	0,11

Паразит	Локализация	ЭИ, %	ИИ, экз.	ИО, экз.
Trematoda				
<i>Allocreadium transversale</i> (Rudolphi, 1802)	Кишечник	53,19	1–14	2,36
<i>Holostephanus cobitidis</i> , mtc. Opravilova, 1968	Мышцы	97,87	2–320	51,06
<i>Paracoenogonimus ovatus</i> , mtc. Katsurada, 1914	Мышцы	6,38	1–3	0,13
Nematoda				
<i>Raphidascaaris acus</i> , larva III (Bloch, 1779)	Печень	4,26	1	0,04
Bivalvia				
Глохидии <i>Unionidae</i>	Жабры	2,13	2	0,04

Примечание. ЭИ — экстенсивность инвазии, ИИ — интенсивность инвазии, ИО — индекс обилия паразитов.

Моногенеи в составе паразитофауны обыкновенной щиповки представлены единственным видом — специфичной *G. latus*, показатели зараженности которой относительно невысоки (табл.). Следует отметить, что зараженность хозяина моногенетическим сосальщиком практически не изменилась по сравнению с 1990-ми годами (экстенсивность инвазии составляла 22,22%, индекс обилия 1,00 экз.) [2].

Цестода *B. appendiculatum*, приобретаемая щиповкой в результате питания олигохетами *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) и *Limnodrilus claparedeanus* (Ratzel, 1868), имеет низкую встречаемость и численность в популяции хозяина (табл.). Паразит является редким в Саратовском водохранилище; помимо щиповки зарегистрирован у леща, показатели зараженности которого также невысоки (экстенсивность инвазии 2,70%, индекс обилия 0,03 экз.) [2].

В составе исследованной паразитофауны наибольшим числом видов представлены дигенетические сосальщики (три вида, 42,9%). Заражение щиповки кишечной трематодой *A. transversale* происходит через водных личинок насекомых; достаточно высокие показатели инвазии хозяина (табл.) свидетельствуют о значительном уровне потребления рыбами этой группы организмов. Вместе с тем доля зараженных червями животных снизилась по сравнению с 1990-ми гг.: с 80,00% [2] до 53,19%. Несмотря на то, что паразит является широкоспецифичным [19], в Саратовском водохранилище трематода *A. transversale* помимо щиповки обнаружена только у вьюна (наши данные).

Два вида трематод на личиночной стадии заражают хозяина активным путем, внедряясь через кожные покровы. Метацицеркария *H. cobitidis*, специфичная рыбам сем. Cobitidae, характеризуется наибольшими показателями зараженности, являясь доминантным видом в составе паразитофауны. В Саратовском водохранилище сосальщик зарегистрирован также у бычков сем. Gobiidae: кругляка, головача и цуцика [11–13].

Широкоспецифичная метацицеркария *P. ovatus* (зарегистрирована у 21 вида рыб Саратовского водохранилища) [2, 11–14] является редким паразитом щиповки.

Нематода *R. acus*, приобретаемая щиповкой в результате питания ручейниками, жуками и личинками стрекоз, характеризуется низкими показателями зараженности. Гельминт является широкоспецифичным в Саратовском водохранилище. На стадии личинки его обнаруживают у многих бентосоядных мирных рыб (13 видов) [2]; взрослые черви зарегистрированы у щуки, головля и налима [2, 15].

Глохидии *Unionidae* выявлены только у одного животного из числа исследованных, что определяет столь незначительный уровень зараженности хозяина.

Таким образом, видовой состав паразитов и уровень инвазии ими рыб находится в прямой зависимости от образа жизни и питания последних. Обыкновенная щиповка населяет водоемы с медленным течением, притоки, заливы и заводи рек, пруды, озера и водохранилища; держится обычно у дна на участках с каменистым, песчаным или илистым дном [22]. Приуроченность щиповки к прогреваемым мелководьям с обильной водной рас-



тельность определяет видовое разнообразие и степень инвазии паразитами, активно заражающими хозяина (моногеней, личинки трематод и моллюска). Слабая зараженность рыб этими паразитами (за исключением *H. cobitidis*) может быть вызвана гидрологическими особенностями водоема — частыми колебаниями уровня воды. Щиповка — обитатель прибрежной зоны, которая наиболее сильно подвергается воздействию этого фактора, в результате чего происходит разрыв пространственной связи паразитов и их хозяев.

Три вида паразитов инвазируют рыб по трофической цепи. Цестода *B. appendiculatum*, трематода *A. transversale* и нематода *R. acus* приобретаются щиповкой в результате питания различными придонными и зарослевыми беспозвоночными (олигохетами, личинками и имаго насекомых).

Обнаружение гельминтов на личиночных стадиях развития (два вида трематод и один вид нематод) свидетельствует об участии обыкновенной щиповки в роли вставочного, дополнительного и/или резервуарного хозяина в циркуляции паразитов рыб, птиц и млекопитающих. Половозрелые нематоды *R. acus* являются паразитами желудка щук (облигатный хозяин), окуневых, лососевых и других хищных рыб (факультативно) [5]. Половозрелые стадии (мариты) трематоды *H. cobitidis* в эксперименте выращены у утят, пустельги и серой вороны [23]. У *P. ovatus* круг окончательных хозяев более широк и, помимо птиц, включает в себя млекопитающих (енотовидная собака, кабан, каспийская нерпа) [10], не исключено заражение человека [23]. Метациркуляции трематод могут находиться в рыбе несколько лет, однако образ жизни обыкновенной щиповки (закапывание в грунт, преимущественно ночная активность, не образует скоплений) резко ограничивает возможности ее контакта с дефинитивными хозяевами паразитов.

Для четырех видов паразитов (*G. latus*, *B. appendiculatum*, *A. transversale*, *Unio* sp.) обыкновенная щиповка является окончательным (дефинитивным) хозяином.

Среди паразитов с выясненной видовой принадлежностью большинство являются широкоспецифичными видами, встречающимися у рыб различных семейств и отрядов. Исследованная нами паразитофауна включает один вид, узкоспецифичный для щиповки (моногеней *G. latus*) и один вид, специфичный для вьюновых рыб (трематода *H. cobitidis*). Согласно литературным данным [6–9, 16, 17], в бассейне Волги для обыкновенной щиповки известно 8 видов специфичных паразитов, в т. ч. один вид миксоспоридий, один вид кругоресничных инфузорий, два вида моногеней, два вида цестод и два вида трематод.

Среди зарегистрированных паразитов к числу наиболее патогенных для хозяина можно отнести: моногеней *G. latus*, метациркулярий трематод *H. cobitidis* и *P. ovatus*, личинку нематоды *R. acus*, которые при высокой интенсивности заражения способны вызвать гибель рыб [1].

Исследования, проведенные в 1990–1993 гг. на том же участке Саратовского водохранилища, выявили у обыкновенной щиповки 7 видов паразитов из 4 классов [2], 4 из которых обнаруживают и в настоящее время. Для трематоды *P. ovatus* отмечается значительное снижение показателей зараженности; *A. transversale* и *H. cobitidis*, напротив, увеличили свою численность в популяции хозяина. Зараженность обыкновенной щиповки специфичной моногенеей *G. latus* практически не изменилась по сравнению с 1990-ми годами.

Заключение

Наши исследования показали, что в настоящее время фауна паразитов обыкновенной щиповки Саратовского водохранилища включает не менее 7 видов, относящихся к 5 классам. Доминантным видом в составе паразитофауны является трематода *H. cobitidis* (mtc.). Питаясь инвазированными придонными и зарослевыми беспозвоночными, щиповка приобретает три вида гельминтов; четыре вида паразитов заражают хозяина активным путем.

Для четырех видов паразитов щиповка служит окончательным (дефинитивным) хозяином, для трех — промежуточным (дополнительным).

Большинство обнаруженных паразитов являются широкоспецифичными; один вид (*H. cobitidis*) специфичен вьюновым (Cobitidae), один вид (*G. latus*) узкоспецифичен щиповке.



Литература

1. Бауер О.Н., Мусселиус В.А., Николаева В.М., Стрелков Ю.А. Ихтиопатология. — М.: Пищевая промышленность, 1977. — 432 с.
2. Бурякина А.В. Паразитофауна рыб Саратовского водохранилища (фауна, экология): дис. ... канд. биол. наук. — СПб, 1995. — 384 с.
3. Быховская—Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. — Л.: Наука, 1985. — 121 с.
4. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. — М.: Наука, 1985. — 300 с.
5. Гаевская А.В. Анизакидные нематоды и заболевания, вызываемые ими у животных и человека. — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. — 223 с.
6. Жохов А.Е., Молодощникова Н.М. Таксономическое разнообразие паразитов рыбообразных и рыб бассейна Волги. I. Паразитические простейшие (Protozoa) // Паразитология. — 2006. — Т. 40, Вып. 3. — С. 244–274.
7. Жохов А.Е., Молодощникова Н.М. Таксономическое разнообразие паразитов рыбообразных и рыб бассейна Волги. IV. Амфилины (Amphiliinida) и цестоды (Cestoda) // Паразитология. — 2007. — Т. 41, Вып. 2. — С. 89–102.
8. Жохов А.Е., Молодощникова Н.М. Таксономическое разнообразие паразитов бесчелюстных и рыб бассейна Волги. V. Нематоды (Nematoda) и волосатики (Gordiacea) // Паразитология. — 2008. — Т. 42, Вып. 2. — С. 114–128.
9. Жохов А.Е., Молодощникова Н. М. Таксономическое разнообразие паразитов бесчелюстных и рыб бассейна Волги. VII. Ракообразные (Crustacea) и водные клещи (Hydracarina) // Паразитология. — 2008. — Т. 42, Вып.6. — С. 476–485.
10. Иванов В.М., Семенова Н.Н. Мониторинг зараженности рыб метацеркариями трематод в дельте Волги // Вопр. ихтиологии. — 2000. — Т. 40, № 6. — С. 826–831.
11. Минеева О.В. Фауна паразитов бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814) Саратовского водохранилища // Вестник ННГУ. — 2012. — № 2(3). — С. 156–161.
12. Минеева О.В. Паразиты некоторых видов рыб-вселенцев Саратовского водохранилища // Вестник ТГУ. — 2013. — Т. 18, Вып. 3. — С. 886–890.
13. Минеева О.В. Фауна паразитов бычка-головача *Neogobius iljini* (Vasiljeva et Vasiljev, 1996) Саратовского водохранилища // Вестник ННГУ. — 2013. — № 4(1). — С. 158–161.
14. Минеева О.В. Материалы к фауне многоклеточных паразитов обыкновенного ерша *Gymnocephalus cernuus* Linnaeus, 1758 (Pisces: Percidae) в Саратовском водохранилище // Рос. паразитол. журнал. — 2016. — Т. 35, Вып. 1. — С. 16–23.
15. Минеева О.В. Паразиты налима *Lota lota* Linnaeus, 1758 (Gadiformes, Lotidae) в Саратовском водохранилище // Труды ВНИРО. — 2016 (в печати).
16. Молодощникова Н. М., Жохов А. Е. Таксономическое разнообразие паразитов бесчелюстных и рыб бассейна Волги. II. Паразитические кишечнополостные (Coelenterata) и моногенеи (Monogenea) // Паразитология. — 2006. — Т. 40, Вып. 4. — С. 328–354.
17. Молодощникова Н.М., Жохов А.Е. Таксономическое разнообразие паразитов рыбообразных и рыб бассейна Волги. III. Аспидогастры (Aspidogastrea) и трематоды (Trematoda) // Паразитология. — 2007. — Т. 41, Вып. 1. — С. 28–54.
18. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 2. — Л.: Наука, 1985. — 425 с.
19. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Т. 3. — Л.: Наука, 1987. — 583 с.
20. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. 4-е изд. — М.: Пищевая промышленность, 1966. — 376 с.
21. Решетников Ю.С. Обыкновенная шиповка *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758. Атлас пресноводных рыб России. Т. 1. — М.: Наука, 2003. — С. 366–369.
22. Рыбы севера Нижнего Поволжья. Кн. 1. Состав ихтиофауны, методы изучения / Е.В. Завьялов, А.Б. Ручин, Г.В. Шляхтин и др. — Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 2007. — 208 с.
23. Сударинов В.Е., Ломакин В.В., Атаев А.М., Семенова Н.Н. Метацеркарии трематод — паразиты рыб Каспийского моря и дельты Волги. — М.: Наука, 2006. — 183 с.
24. Шандиков Г.О., Кривохижа Д.В. К вопросу о видовом составе и некоторых особенностях биологии шиповок рода *Cobitis* (Teleostei: Cypriniformes: Cobitidae) в верхнем и среднем течении Северского Донца Украины // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. — 2008. — Вып. 8, № 828. — С. 91–118.

References

1. Bauer O.N., Musselius V.A., Nikolaeva V.M., Strelkov Yu.A. *Ikhtiopatologiya* [Ichthyopathology]. M., Publ. Pishchevaya promyshlennost', 1977. 432 p.



2. Buryakina A.V. *Parazitofauna ryb Saratovskogo vodokhranilishcha (fauna, ekologiya)*. Dis. kand. biol. nauk. [Fish parasite from the Saratov Reservoir (fauna, ecology). Abst. PhD biol. sci]. Spb, 1995. 384 p.
3. Bykhovskaya–Pavlovskaya I.E. *Parazity ryb. Rukovodstvo po izucheniyu* [Parasites of fishes. Study Guide]. Leningrad, Nauka, 1985. 121 p.
4. Vasil'ev V.P. *Evolutsionnaya kariologiya ryb* [Evolutionary karyology of fishes]. M., Nauka, 1985. 300 p.
5. Gaevskaya A.V. *Anizakidnye nematody i zabolevaniya, vyzyvayemye imi u zhivotnykh i cheloveka* [Anisakid nematodes and diseases caused by them in animals and human]. Sevastopol', EKOSI-Gidrofizika, 2005. 223 p.
6. Ivanov V.M., Semenova N.N. Monitoring of contamination of fish by metacercariae of trematodes in the Volga delta. *Voprosy ikhtiologii* [Journal of Ichthyology], 2000, vol. 40, i. 6, pp. 826–831. (in Russian)
7. Mineeva O.V. Parasitofauna of the round goby, *Neogobius melanostomus* (Pallas, 1814), from the Saratov Reservoir. *Vestnik NNGU* [Bull. of Nizhny Novgorod State University], 2012, no. 2(3), pp. 156–161. (in Russian)
8. Mineeva O.V. Parasites of some invasive fish species from the Saratov Reservoir. *Vestnik TGU* [Bull. of Tomsk State University], 2013, vol. 18, i. 3, pp. 886–890. (in Russian)
9. Mineeva O.V. Parasitofauna of the goby *Neogobius iljini* (Vasiljeva et Vasiljev, 1996) from the Saratov Reservoir. *Vestnik NNGU* [Bull. of Nizhny Novgorod State University], 2013, no. 4(1), pp. 158–161. (in Russian)
10. Mineeva O.V. Materials on multicellular parasite fauna of the ruff *Gymnocephalus cernuus* Linnaeus, 1758 (Pisces: Percidae) from the Saratov Reservoir. *Rossiiskiy parazitologicheskij zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2016, vol. 35, i. 1, pp. 16–23. (in Russian)
11. Mineeva O.V. Parasites of the burbot *Lota lota* Linnaeus, 1758 (Gadiformes, Lotidae) from the Saratov Reservoir. *Trudy VNIRO* [Bull. of Russ. Fed. Res. Inst. of Fisheries and Oceanography], 2016. (in Russian)
12. Molodozhnikova N.M., Zhokhov A.E. Taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga basin. II. Parasitic Coelenterata and Monogenea. *Parazitologiya* [Parasitology], 2006, vol. 40, i. 4, pp. 328–354. (in Russian)
13. Molodozhnikova N.M., Zhokhov A.E. The taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga basin. III. Aspidogastrea and Trematoda. *Parazitologiya* [Parasitology], 2007, vol. 41, i. 1, pp. 28–54. (in Russian)
14. *Opredelitel' parazitov presnovodnykh ryb fauny SSSR* [The determinant of freshwater fish parasites of the USSR fauna]. L., Nauka, vol. 2, 1985. 425 p. (in Russian)
15. *Opredelitel' parazitov presnovodnykh ryb fauny SSSR* [The determinant of freshwater fish parasites of the USSR fauna]. L., Nauka, vol. 3, 1987. 583p. (in Russian)
16. Pravdin I.F. *Rukovodstvo po izucheniyu ryb* [Fish study guide]. M., Pishchevaya promyshlennost', vol. 4, 1966. 376 p. (in Russian)
17. Reshetnikov Yu.S. Spiny loach *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758. *Atlas presnovodnykh ryb Rossii* [Atlas of Russian freshwater fishes]. M., Nauka, vol. 1, 2003, pp. 366–369. (in Russian)
18. *Ryby severa Nizhnego Povolzh'ya Kn. 1. Sostav ikhtiofauny, metody izucheniya* [Fishes of the northern part of Lower Volga region. Vol. 1. Species composition of fishes, methods of studying]. Saratov, Publ. of Saratov State University, 2007. 208 p. (in Russian)
19. Sudarikov V.E., Lomakin V.V., Ataev A.M., Semenova N.N. *Metatserkarii trematod — parazity ryb Kaspiyskogo morya i del'ty Volgi* [Metacercariae of flukes (trematoda) — fish parasites from the Caspian Sea and the Volga delta]. M., Nauka, 2006. 183 p. (in Russian)
20. Shandikov G.O., Krivokhizha D.V. On the question of species composition and some features of biology of spiny loaches of the genus *Cobitis* (Teleostei: Cypriniformes: Cobitidae) in the upper and middle reaches of the Seversky Donets. *Ukraine Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo universitetu imeni V.N. Karazina*. [Bull. of Karazin Kharkiv National University. Series «Biology»], 2008, i. 8, no. 828, pp. 91–118.
21. Zhokhov A.E., Molodozhnikova N.M. The taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga River Basin. IV. Amphilinida and Cestoda. *Parazitologiya* [Parasitology], 2007, vol. 41, i. 2, pp. 89–102. (in Russian)
22. Zhokhov A.E., Molodozhnikova N.M. The taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga River Basin. V. Nematoda and Gordiacea. *Parazitologiya* [Parasitology], 2008, vol. 42, i. 2, pp. 114–128. (in Russian)
23. Zhokhov A.E., Molodozhnikova N.M. The taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga River Basin. VII. Crustacea and Hydracarina. *Parazitologiya* [Parasitology], 2008, vol. 42, i. 6, pp. 476–485. (in Russian)
24. Zhokhov A.E., Molodozhnikova N.M. The taxonomic diversity of parasites of agnathans and fishes in the Volga basin. I. Parasitic Protozoa. *Parazitologiya* [Parasitology], 2006, vol. 40, i. 3, pp. 244–274. (in Russian)



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23074

Received 29.06.2016

Accepted 28.11.2016

PARASITES OF THE SPINY LOACH *COBITIS TAENIA LINNAEUS*, 1758 (PISCES:
COBITIDAE) FROM SARATOV RESERVOIR

Mineeva O.V.

Institute of Ecology of the Volga River Basin of the RAS, 445003, Samara Region, Togliatti, Komzin St., 10, e-mail: ksukala@mail.ru

Abstract

Objective of research. To study the species composition of the parasite fauna and the infestation rate of the spiny loach *Cobitis taenia* Linnaeus, 1758 from Saratov Reservoir.

Materials and methods. The material was collected in the Mordovo-Kol'tsovsky area of the Reservoir (the middle part of the reservoir) in 2009 and 2014–2015. Fishing was carried out by a hydrobiological net. Totally 47 individuals of spiny loach were investigated by the method of full parasitological autopsy. Collection, fixation and office studies were carried out using the standard technique; diagnostics of species composition of parasites — by identification guides. To estimate the rate of fish invasion, we used the common parasitological indices: extensity of invasion, intensity of invasion and the index of abundance of parasites.

Results and discussion. 7 species of parasites belonging to 5 classes: Monogenea — 1, Cestoda — 1, Trematoda — 3, Nematoda — 1, Bivalvia — 1 were found in the spiny loach *Cobitis taenia* Linnaeus from Saratov Reservoir.

The species composition of parasites and the level of host infestation directly depend on the lifestyle and nutrition of fishes. Eating the infected benthic and weed bed invertebrates (oligochaetes, larvae and adult insects), the spiny loach becomes infected with 3 species of helminths. 4 species of parasites infect the host using the active infestation way. Most of the parasites found in fish from different families and groups are wide specific. The parasite fauna includes 1 species, narrow specific for the spiny loach (monogenea *Gyrodactylus latus* Bychowsky, 1933) and 1 species specific for loaches (fam. *Cobitidae*) — metacercariae of *Holostephanus cobitis* Opravilova, 1968.

For 4 species of parasites, the spiny loach is the final (definitive) host, for 3 — intermediate. The dominant species in the composition of the parasite fauna *C. taenia* is the trematode *H. cobitidis* (mtc.); the extensity of infection with it reaches 97,9%, the abundance index is 10,8 ind.

Fluke larvae infect fishes (using the active way) penetrating through the skin. The most pathogenic for spiny loach parasites are the monogenea *G. latus*, metacercariae of trematodes *H. cobitidis* and *Paracoenogonimus ovatus* Katsurada, 1914, the larva of the nematode *Raphidascaris acus* Bloch, 1779.

Keywords: spiny loach, *Cobitis taenia*, parasites, infestation, Saratov reservoir.

© 2016 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 (CA-BI.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 01.11.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.132.6:1-07
DOI: 10.12737/23075

Для цитирования:

Шибитов С.К., Сафиуллин Р.Т. Распространение *Buxtonella sulcata* (JAMESON, 1926) крупного рогатого скота в Курганской области // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 509–514

For citation:

Shibitov S.K., Safiullin R.T. Prevalence of *Buxtonella sulcata* (JAMESON, 1926) among cattle in the Kurgan region. *Russian Journal of Parasitology*, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 509–514

РАСПРОСТРАНЕНИЕ BUXTONELLA SULCATA (JAMESON, 1926) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В КУРГАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Шибитов С.К., Сафиуллин Р.Т.

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

Реферат

Цель исследования — изучение уровня зараженности по разным возрастным группам крупного рогатого скота простейшими *Buxtonella sulcata* в летний период при разных технологиях содержания в условиях Курганской области.

Материалы и методы. Отбор проб проводили в июле 2016 года в хозяйствах Курганской области с разной технологией содержания (частный сектор, стойлово-выгульное содержание, стойловое содержание). Пробы весом 10 г отбирали у животных разных возрастных групп из прямой кишки или обычным сбором свежих фекалий в помещениях для содержания животных. Собранный материал консервировали 2,5% бихроматом калия. В условиях лаборатории протозоологии и санитарной паразитологии ВНИИП им. К.И. Скрябина методами последовательных промываний и эфир-формалинового осаждения микроскопически было исследовано 68 проб, подсчет цист проводили в счетной камере Мак Мастера.

Результаты и обсуждение. По результатам выборочных микроскопических исследований крупного рогатого скота разных возрастных групп в хозяйствах Курганской области в летний период установлена их инвазированность простейшими *Buxtonella sulcata*. Экстенсивность инвазии в частном секторе колебалась от 33,3% до 50%, в хозяйствах со стойловым содержанием от 10 до 62,5%, в хозяйствах стойлово-выгульного содержанием от 0 до 85,7%.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, диагностика протозоозов, инвазированность простейшими, букстонеллы, букстонеллез, *Buxtonella sulcata*.

Введение

Заболевания желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота актуальная проблема для животноводства и ветеринарии в связи с экономическими потерями продуктивности, а также затрат на лечение и диагностику, тем более это заметно в настоящее время, когда темпы роста отрасли стремительно увеличиваются, благодаря федеральным программам продовольственной независимости и импортозамещения.

Возбудителями кишечных протозоозов у крупного рогатого скота являются, *Eimeria spp.*, чаще у молодняка (Красочко П.А. и др., 2003), *Cryptosporidium spp.* у животных с низким иммунным статусом (Никитин В.Ф., 2007).



Buxtonella sulcata имеет овоидное тело, с хорошо заметным желобком, окаймленным двумя гребнями, идущими от одного конца тела к другому; цитостом недалеко от заднего конца, размер трофозоитов 60-138x46-100 (100x72) мкм., цисты тонкостенные, величиной 47-100 мкм (фото, 1,2), букстонеллы поражают слепую кишку толстого отдела кишечника (Крылов М. В., 1994, 1996). Таксономия: *Cellular organisms*—Царство, *Eukaryota* – Подцарство, *Alveolata* –надтип, *Ciliophora* –Тип, *Intramacronucleata* –Подтип, *Litostomatea* — Класс, *Trichostomatia*–Подкласс, *Vestibuliferida*–Отряд, *Pycnotrichidae*–Семейство, *Buxtonella*–Род, *Buxtonella sulcata*–Вид (<http://eol.org/>, 2016).

Букстонеллез распространен в Великобритании (Fox M. T., Jacobs D. E., 1996), странах Ближнего Востока (Al-Saffar T. M. и др., 2010) Восточной Европы (Omeragić J., Crnkic Š., 2015), Северной Африке (Sultan K., Khalafalla R. E., 2013), Юго-Восточной Азии (Hong K. O., Youn H. J., 1995), Северной Америке (Urman H. D., Kelley G. W. B., 1963), Южной Америке (Velázquez J. B., 1983) на территории России впервые выявлен у крупного рогатого скота в Московской и Тульской областях (Шибитов С.К., Сафиуллин Р.Т., 2016).

Данные инфузории при низкой интенсивности инвазии (далее ИИ) не влияют на макроорганизм патологически, питаются инфузории микроорганизмами, клетками крови (Громов Б. В., 1995).

ИИ при которой проявляется патологическое воздействие простейших *Buxtonella sulcata* на организм животных составляет если их количество превышает 1000 цист на 1 г фекалий (Tomczuk K. и др., 2005). Патогенез заключается в воздействии выделяемых токсинов в процессе жизнедеятельности инфузорий на слизистую кишечника и общий гомеостаз организма (Pomajbíková K. и др., 2013).

Материалы и методы

В июле 2016 г. нами в соответствии с ГОСТ -54627-2011 был отобран материал (фекалии) от крупного рогатого скота разных возрастов в 3-х районах Курганской области из хозяйств с разной технологией содержания животных. На базе лаборатории протозоологии и санитарной паразитологии Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина было исследовано 68 проб фекалий от крупного рогатого скота разного возраста, в том числе 9 проб (6 от телят 3-6 мес., 3 головы 6 лет) от животных частного сектора с. Н. Утятка, Кетовского района, 38 проб (телята до 2 мес. — 10, телки 6-12 мес. — 8, телки 1-2 лет — 8 и коровы дойного стада — 12 голов) от крупного рогатого скота стойлового содержания г. Курган и 21 проба (телята 1-10 дней — 4, телята 1-2 мес. — 3, телки 6-12 мес. — 7 и коровы 4-12 лет — 7 голов) от крупного рогатого скота стойлово-выгульного содержания Далматовского района. Диагностику проводили методами последовательных промываний и эфир-формалинового осаждения, подсчет цист проводили в счетной камере Мак Мастера.

Результаты и обсуждение

По результатам исследований в частном секторе у молодняка 2-6 мес экстенсивность инвазии (далее ЭИ) составила 50%, у коров дойного стада 33,3%. В хозяйстве со стойловым содержанием у молодняка до 2 мес. ЭИ составила 10%, у молодняка 6-12 мес. ЭИ равнялась 62,5%, в возрасте 1-2 года ЭИ была 62,5% и у коров дойного стада 58,3%. В хозяйстве со стойлово-выгульным содержанием ЭИ составила: у телят до 2-х мес. 14,2%, в том числе у телят подсосного периода до 10 дней цисты букстонелл не выявлены; у молодняка 6-12 мес. ЭИ-42,8% и у коров дойного стада ЭИ-85,7% (табл. 1).

Всего по области ЭИ у разных возрастных групп составила: у телят подсосного периода не обнаружено, от 1 до 2 мес. -11,7%; у молодняка 2-6 мес. -50%, у молодняка 6-12 мес. -53,3%, от 1 до 2 лет -62,5% и у коров от 2 до 12 лет -63,6% (диаграмма 1).

ИИ > 1000 цист на 1 г фекалий наблюдали только в хозяйстве со стойловым содержанием у животных 1-2 лет в 2 пробах из восьми (25%) и у коров в 2 из 12 проб (16,7%), у крупного рогатого скота с стойлово-выгульным содержанием высокую ИИ наблюдали у животных 6-12 мес. в 2 пробах из семи и у коров в 1 из 7 (28,6%). В частном секторе и у других возрастных групп количество цист букстонелл не превышало критического (табл. 2).



Таким образом, букстонеллез встречается у крупного рогатого скота во всех типах хозяйств Курганской области географически расположенной между Уралом и Сибирью, наибольшая ЭИ отмечается в хозяйствах со стойлово-выгульным содержанием (14,2-85,7%), затем в хозяйствах с стойловым содержанием (10-62,5%) и наименьшую ЭИ наблюдали в частном секторе (33,3-50%). Пробы от животных с признаками диареи и подтвержденные высоким количеством цист букстонелл в 1 г фекалий (более 1000) в данных пробах наблюдали только у животных: 6-12 мес -28,6%; от 1 до 2 лет-25% и у 16,7% коров от 2- до 12 лет.

По нашему мнению, приведенные данные по распространению *Buxtonella sulcata* среди крупного рогатого скота являются новыми для Российской Федерации и требуют дальнейшего детального изучения на всех уровнях, в том числе, по диагностике, патогенезу, лечению и профилактике данного заболевания. Кроме того, в связи с особенностями питания и распространения цист букстонелл, мы предполагаем, что *Buxtonella sulcata* помимо токсического воздействия на организм, может быть источником механической передачи других инфекционных болезней, в том числе лейкоза крупного рогатого скота, который наносит огромный ущерб животноводческой отрасли.

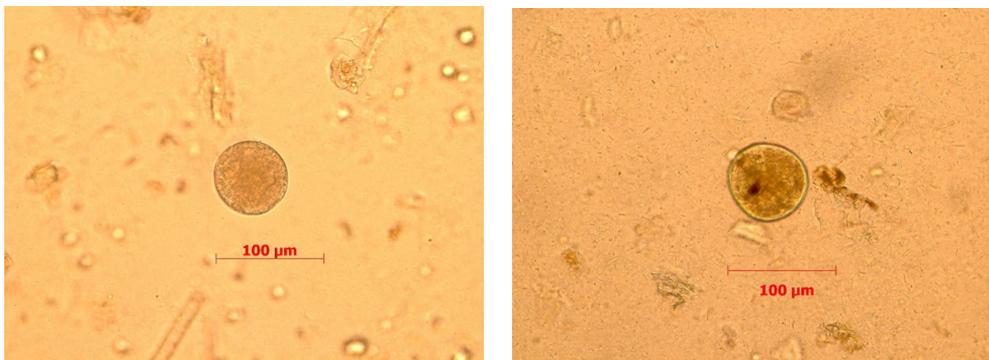


Рис. 1. Цисты *Buxtonella sulcata* увеличение x400

Диаграмма 1

Экстенсивность инвазии *Buxtonella sulcata* у крупного рогатого скота разного возраста в Курганской области

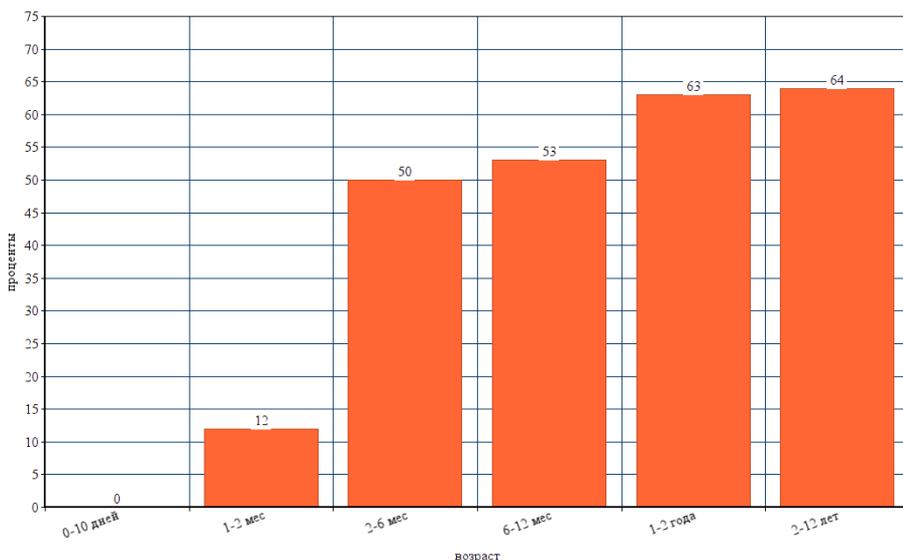


Таблица 1

Экстенсивность инвазии *Vitellonella sulcata* крупного рогатого скота в хозяйствах разной технологии содержания в Курганской области

Технология содержания	Возраст 0-2 мес всего/полож.	ЭИ %	Возраст 2-6 мес всего/полож.	ЭИ %	Возраст 6-12 мес всего/полож.	ЭИ %	Возраст 1-2 года	ЭИ %	Возраст 2-12 лет	ЭИ %
Частный сектор	-	-	6/3	50	-	-	-	-	3/1	33,3
Стойловое	10/1	10	-	-	8/5	62,5	8/5	62,5	12/7	58,3
Стойлово-выгульное	7/1	14,2	-	-	7/3	42,8	-	-	7/6	85,7
Итого:	17/2	11,7	6/3	50	15/8	53,3	8/5	62,5	22/14	63,6

Таблица 2

Интенсивность инвазии > 1000 цист *Vitellonella sulcata* на 1 г фекалий крупного рогатого скота в хозяйствах Курганской области

Технология содержания	Возраст 0-2 мес всего/полож.	%	Возраст 2-6 мес всего/полож.	%	Возраст 6-12 мес всего/полож.	%	Возраст 1-2 года всего/полож.	%	Возраст 2-12 лет всего/полож.	%
Частный сектор	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Стойловое	-	-	-	-	-	-	8/2	25	12/2	16,6
Стойлово-выгульное	-	-	-	-	7/2	28,5	-	-	7/1	14,2
Итого:	-	-	-	-	7/2	28,5	8/2	25	19/3	15,7



Литература:

1. Громов Б.В. Эндоситобионты клеток животных //Сорос. образоват. журн. — 1998. — №. 2. — С. 73-78.
2. Красочко П.А., Новиков О.Г., Ятусевич А.И Справочник по наиболее распространенным болезням крупного рогатого скота и свиней. Смоленск, 2003.- 828 с.
3. Крылов М.В. Определитель паразитических простейших: человека, домашних животных и сельскохозяйственных растений. — Зоологический ин-т РАН, 1996.-602 с.
4. Крылов М.В. Возбудители протозойных болезней домашних животных и человека //С.-Петербург. Зоол. Инст. РАН. — 1994.-267 с.
5. Никитин В.Ф. Биолого-эпизоотологические особенности криптоспориоза домашних животных и его профилактика //Российский паразитологический журнал. — 2007. — №. 1. С.36-38
6. ШИБИТОВ С.К., САФИУЛЛИН Р.Т. РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВУХТОНЕЛЛА СУЛКАТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЗОНЕ РОССИИ //ВЕТЕРИНАРИЯ. — 2016. — №. 8. — С. 36-38.
7. Al-Saffar T.M. et al. Prevalence of intestinal ciliate *B. sulcata* in cattle in Mosul // Iraqi J Vet Sci. — 2010. — Т. 24. — №. 1. — С. 27-30.
8. Fox M.T., Jacobs D.E. Patterns of infection with *B. sulcata* in British cattle // Research in veterinary science. — 1986. — Т. 41. — №. 1. — С. 90 -92.
9. Hong K.O., Youn H. J. [Incidence of *B. sulcata* from cattle in Kyonggi-do] // The Korean journal of parasitology. — 1995. — Т. 33. — №. 2. — С. 135-138.
10. Omeragić J., Crnkić Ć. Diarrhoea in cattle caused by *B. sulcata* in Sarajevo area // Veterinaria. — 2015. — Т. 64. — №. 2. — С. 50-54.
11. Pomajbíková K. et al. Novel insights into the genetic diversity of *Balantidium* and *Balantidium*-like cyst-forming ciliates // PLoS Negl Trop Dis. — 2013. — Т. 7. — №. 3. — С. e2140.
12. Sultan K., Khalafalla R. E., Elseify M. A. Preliminary investigation on *B. sulcata* (Jameson, 1926) (Ciliophora: Trichostomatidae) in Egyptian ruminants // BS Vet Med J. — 2013. — Т. 22. — С. 91-94.
13. Tomczuk K. et al. Incidence and clinical aspects of colon ciliate *B. sulcata* infection in cattle // Bull Vet Inst Pulawy. — 2005. — Т. 49. — №. 1. — С. 29-33.
14. Urman H. D., Kelley G. W. *B. sulcata* a ciliate associated with ulcerative colitis in a cow and prevalence of infection in Nebraska cattle // Iowa State University Veterinarian. — 1963. — Т. 26. — №. 2. — С. 11.
15. Velázquez J. B. *B. sulcata* en bovinos de Costa Rica //Ciencias Veterinarias. — 1983.
16. <http://eol.org/>

References

1. Gromov B.V. Endocytobiontes of animal cells. *Soros. obrazovat. zhurn.* [Soros Educational Journal.], 1998, no. 2, pp. 73-78. (In Russian)
2. Krasochko P.A., Novikov O.G., Yatusевич A.I. *Spravochnik po naibolee rasprostranennym boleznyam krupnogo rogatogo skota i sviney* [Handbook of most common diseases in cattle and swine]. Smolensk, 2003. 828 p. (In Russian)
3. Krylov M.V. *Opredelitel' paraziticheskikh prostejshih: cheloveka, domashnih zhivotnyh i sel'skhozaystvennyh rasteniy* [Guide to the parasitic protozoa in humans, domestic animals and agricultural plants], 1996, Zool. Ins. RAS. 602 p. (In Russian)
4. Krylov M.V. *Vozbuditeli protozoynyh bolezney domashnih zhivotnyh i cheloveka* [Causative agents of protozoan diseases in domestic animals and humans]. SPb., 1994, Zool. Ins. RAS. 267 p. (In Russian)
5. Nikitin V.F. Biological and epitoozological features of cryptosporidiosis in domestic animals and its prevention. *Ros. parazitol. zhurn.* [Russian Journal of Parasitology], 2007, no. 1, pp.36-38 (In Russian)
6. Shibitov S.K., Safiullin, R.T. Prevalence of *Buxtonella Sulcata* among cattle in Central Russia. *Veterinariya* [Veterinary], 2016, no. 8, pp. 36-38. (In Russian)
7. Al-Saffar T.M. et al. Prevalence of intestinal ciliate *B. sulcata* in cattle in Mosul. *Iraqi J Vet Sci.*, 2010, vol. 24. no. 1, pp. 27-30.
8. Fox M.T., Jacobs D.E. Patterns of infection with *B. sulcata* in British cattle. *Research in veterinary science*, 1986, vol. 41, no. 1, pp. 90-92.
9. Hong K.O., Youn H.J. [Incidence of *B. sulcata* from cattle in Kyonggi-do]. *The Korean journal of parasitology*, 1995, vol. 3, no. 2, pp. 135-138.
10. Omeragić J., Crnkić Ć. Diarrhoea in cattle caused by *B. sulcata* in Sarajevo area *Veterinaria*, 2015, vol. 64, no. 2, pp. 50-54.
11. Pomajbíková K. et al. Novel insights into the genetic diversity of *Balantidium* and *Balantidium*-like cyst-forming ciliates. *PLoS Negl Trop Dis.*, 2013, vol. 7, no. 3. pp. e2140.
12. Sultan K., Khalafalla R.E., Elseify M.A. Preliminary investigation on *B. sulcata* (Jameson, 1926) (Ciliophora: Trichostomatidae) in Egyptian ruminants. *BS Vet Med J.*, 2013, vol. 22, pp. 91-94.
13. Tomczuk K. et al. Incidence and clinical aspects of colon ciliate *B. sulcata* infection in cattle. *Bull Vet Inst Pulawy*, 2005, vol. 49, no. , pp. 29-33.



14. Urman H.D., Kelley G.W.B. *sulcata* a ciliate associated with ulcerative colitis in a cow and prevalence of infection in Nebraska cattle. Iowa State University Veterinarian, 1963, vol. 26, no. 2, p. 11.
15. Velázquez J.B. *sulcata* en bovinos de Costa Rica. Ciencias Veterinarias, 1983
16. <http://eol.org/>

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23075

Received 01.11.2016

Accepted 28.11.2016

PREVALENCE OF BUXTONELLA SULCATA (JAMESON, 1926) AMONG CATTLE IN THE KURGAN REGION

Shibitov S.K., 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: samshib@ya.ru, safiullin@vniigis.ru

Abstract

Objective of research: To study the infection rate with *B. sulcata* in various age groups of cattle in summer at different management technologies in the Kurgan region.

Materials and methods. Samples were collected from animals kept under different management technologies (private sector, stabling&pasture, stabling) in the Kurgan region in July 2016. Samples weighing 10 g were taken from animals of different age groups from the rectum or by usual fecal gathering in animal premises.

The collected material was preserved with 2% potassium dichromate. At the Laboratory for Protozoology and Sanitary Parasitology of the All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 68 samples were examined under the microscope by methods of successive washings and formalin-ether sedimentation; cyst counting was performed in a counting chamber Mc Master.

Results and discussion. The results of random coproscopic examination of cattle of different age groups in farms of the Kurgan region in summer period revealed their infection with *Buxtonella sulcata*. Extensity of infection in the private sector ranged from 33% to 50%, in farms with stable management — from 10 to 62,5%, stable and pasture management — from 0 to 85,7%.

Keywords: cattle, diagnosis of protozooses, protozoa infection, buxtonellosis, *Buxtonella sulcata*.

© 2016 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 (CA-BI.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 25.10.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.132.6:1-07
DOI: 10.12737/23076

Для цитирования:

Мохаммед Салех Аль-Албуди. Кросс-секционное исследование гельминтов желудочно-кишечного тракта жвачных животных копрологическими методами // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 515–520

For citation:

Mohammed Saleh Al-Aboody. A cross-sectional of Gastro-Intestinal Helminthes of Ruminants by Coprological Examination. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 515–520

КРОСС-СЕКЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕЛЬМИНТОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ КОПРОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Мохаммед Салех Аль-Албуди

Медицинская лаборатория колледжа Естественного Аль-Зульфи, университет Маджмааха, Аль-Зульфи, 11932 Райад, Саудовская Аравия

Реферат

В данной работе представлены результаты исследований 442 проб фекалий крупного рогатого скота, буйвола и овцы на зараженность их гельминтами. Пробы фекалий были взяты на исследование у 171 гол. крупного рогатого скота, 128 буйволов и 143 овец. На основании результатов тестирования, проводимого в период с мая 2014 г. по апрель 2015 г., было установлено, что 81 из 171 гол. крупного рогатого скота (47.3%) показали положительный результат на наличие гельминтов, причем степень заражения коров (55%) была выше, чем у быков (40%). 41 из 128 обследованных буйволов показали положительный результат, а уровень заражения составил 32%.

Таким образом, уровень заражения коров (47%) был выше, чем быков (22%).

Самый высокий уровень инвазии был отмечен у овец.

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что уровень заражения крупного рогатого скота составил 50.3%. Нематоды семейства *Trichostrongylidae* являются доминирующими как у крупного рогатого скота, так и у буйволов. Уровень заражения женских особей был намного выше, чем мужских.

В отношении сезонной динамики следует отметить, что самый высокий уровень заражения приходится на весенний период.

Ключевые слова: гельминты, распространение, жвачные животные, *Trichostrongylidae*.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23076

Received 25.10.2016

Accepted 28.11.2016

A CROSS-SECTIONAL OF GASTRO-INTESTINAL HELMINTHES OF RUMINANTS BY COPROLOGICAL EXAMINATION

Mohammed Saleh Al-Aboody

Department of Medical Laboratories, College of Science Al-Zulfi, AlMajmaah University, Alzulfi 11932, Riyadh, Kingdome Saudi Arabia



Abstract

In the present study 442 Fecal samples from cattle, buffaloes, and sheep for contamination with helminthes. Samples were examined from 171 cattle, 128 buffaloes, and 143 sheep. The testing, during the period from May 2014 to April 2015, showed that 81 out of 171cattle were positive for helminthes infection (47.3%), with the rate of infection higher in females (55%) than in males (40%). In buffaloes, 41 of 128 tested were positive, a 32% rate of infection. Again, the infection rate was higher in females (47%) than in males (22%). In sheep, the rate of infection was highest of all three species. The results showed that, the infection rate among cattle were 50.3% and *Trichostrongyle* species were the predominant parasites among both cattle and buffaloes. The prevalence rate was much higher in females than males. Regarding seasonal dynamics the highest infection rates with helminthes reported was in spring season.

Keywords: Helminthes, prevalence, ruminants, *Trichostrongyle*.

Introduction

The aim of this work is to investigate the helminthes infesting ruminant animals in Sohag province, their incidence, prevalence, and the fluctuation of the infection rate during the different seasons. Parasites in livestock and other animals cause diseases that have a major impact on global socio-economic conditions. The current financial losses to agriculture due to parasites seriously reduce farm profitability. The annual cost associated with parasitic diseases in sheep and cattle in Australia has been estimated at \$1 billion Australian [13] and [15] among livestock, ruminants are one of the sources of Egypt's national income, with production of milk, meat, wool, hair, and hides. Moreover, their manure is a valuable soil fertilizer. Parasitic infections destroy our animal wealth and are the biggest hindrance to successful, profitable production. The percentage of field animals infected fluctuates with factors that include irrigation, season, frequency of exposure, immune condition, geographic location, and climate [7]. Professional livestock production is a business for profit. Parasitic infections adversely affect production, impairing the livelihood of the individual farmer and the entire industry [8], [9]. Thus, there are major economic gains to be made by taking measures to control important parasitic diseases. The current method to control Nematode parasites in livestock is use of chemotherapeutic agents (anthelmintics). Even with strategic treatment, this method is costly and not always effective. The excessive use of anthelmintics has resulted in substantial and widespread problems with genetic resistance in nematode populations. There is a need for developing improved means of controlling these parasitic nematodes. Gastro intestinal tract (GIT) parasites are known to be widespread [10], [11]. They lead to acute illness and death, premature slaughter, and rejection of meat parts at inspection stations. Indirect losses include decreased growth rate, weight loss in young growing calves, late maturity of slaughter stock, and decreasing cattle production in many regions and countries [15]. The infections are either clinical or sub clinical; the latter is the more common and is of great economic importance [12]. Although clinical parasitism has received considerable attention because of its obvious severity, the study of parasitism in herds without clinical signs of infection has been largely neglected. [3] Demonstrate that G.I. nematodes are still widespread among adult cows in temperate climate regions, with a prevalent infection rate of between 80 and 100%. The most prevalent species found was *Ostertagia ostertagi*. Moreover, two reviews suggest that sub clinical gastro-intestinal Nematode infections in adult cows can have an adverse effect on milk production.

Materials and Methods

Ruminants of different ages and sexes were investigated during a period from May, 2015 to April, 2016 for the presence of helminthes. We examined 442 faecal samples from Cattle, Buffaloes and Sheep. The number of samples comprised 171 from cattle, 128 from buffaloes, and 143 from sheep. The samples examined were collected from farms in several places, as well as from those brought to the clinics from Sohag, Egypt (26° 10'12", N 32° 43'37" E).

Collection of Faecal Sample

Faecal samples were collected in a plastic sack directly from the rectum or immediately after defecation. Each was labeled with the data as to age, sex, date of collection and the locality, and any apparent lesions. These samples were collected throughout the year.



Preparation and Examination of the Faecal Sample

The preparation and examination of the sample took place on the day of collection. The samples are first examined with the naked eye. The floatation technique with saturated salt solution issued to detect the nematode and cestode eggs [4]. The sedimentation technique with water is used for detection of trematodes eggs [5].

Gross Examination of Faeces

Several characteristics of faeces should be recorded, such as consistency, color, blood and mucus, age of feces and the presence of gross parasites (some parasites, larvae, gravid segments of Cestodes) [5].

Floatation Technique

The floatation technique with saturated salt solution is used to detect the nematode and cestode eggs. [4]

E. Sedimentation Technique

This technique is used for detection of trematodes eggs. This method concentrates both feces and eggs at the bottom of a liquid medium, usually water. Sedimentation detects most parasite eggs [5].

Data Management and Analysis

All the data collected (age, species, and parasitic infestation) is entered to an MS excel sheet and analyzed using SPSS version 16. Descriptive statistics were used to determine the prevalence of the disease and the χ^2 -test was used to look at the significant difference between age and species of the host with parasites.

Results

The present study revealed that of 442 faecal samples from cattle, buffaloes and sheep, 81 of 171 examined cattle (47.3%) were positive, and the rate of infection was higher in females (55%) than in males (40%). In buffaloes examined, 41 of 128 tested positive for the infection (32%), and the infection rate was higher in females (47%) than in males (22%). The prevalence in sheep was much higher than in cattle and buffaloes. Among sheep examined, 72 of 143 were positive (50.3%), and again the rate of infection was higher in females (56%) than in males (45.4%).

Concerning the seasonal dynamics of infection in cattle, the highest infection rate was in spring season (60.4%), followed by summer season (50%), autumn season (42%), and winter season (33.3%). In buffaloes, the highest infection rate was in spring season (50%), then summer season (36%), followed by autumn season (25%), and winter season (19.5%). In sheep the seasonal infection rate was highest in spring season (55.5%), followed by autumn season (50%), winter season (48.5%); the lowest rate of infection was in summer season (46.8%).

The study of the types of parasites found in cattle showed that the most prevalent helminthes were *Trichostrongyles*, *Toxocara vitulorum*, *Moniezia* spp. (64.1%, 39.5%, and 24.8% respectively), followed by *Strongyloides papillosus*, *Fasciola*, *Trichuris* spp., and *Dictyocallus viviparus* (14.8%, 13.5%, 8.6%, and 3.7% respectively.) In buffaloes the most prevalent helminthes were *Trichostrongyles* (70.7%), *Toxocara vitulorum* (56%), *Moniezia* (19.5%), *Strongyloides papillosus* (14%), *Fasciola* (12%), and finally lung worm (2.4%).

In sheep the most prevalent parasites were *Trichostrongyles*, *Moniezia* spp., *Strongyloides papillosus*, (62.5%, 40%, and 16.6%), followed by *Fasciola* sp. (13.8%), *Dictyocallus filaria* (8.3%), and the lowest rate of infection was *Trichuris* sp. (2.7%).

We also looked at the effect of age on parasitic infection. Cattle over 5 years showed the highest prevalence of infection (39.5%), followed by cattle below 2 years of age (32%), with cattle aged between 2 and 5 years having the lowest rate of infection (28%). In buffaloes, the animals aged less than 2 years showed the highest prevalence of infection (39%), followed by those over 5 years (32%), with buffaloes aged between 2 and 5 years having the lowest rate (26.8%). In sheep, animals older than 1.5 years showed the highest prevalence of infection (33.3%), followed by sheep aged between 9 months and 1.5 years, and finally those aged below 9 months (29.1%).

Table 1

The Rate of Infection among Cattle, Buffaloes and Sheep with Helminthes Parasites through Faecal Examination in Sohag Province

Animal species	Sex	Examined (No)	Positive	
			(No)	(%)
Cattle	Female	78	43	55
	Male	93	38	40
	Total	171	81	47.3
Buffaloes	Female	51	24	47
	Male	77	17	22
	Total	128	41	32
Sheep	Female	66	37	56
	Male	77	35	45.4
	Total	143	72	50.3

Table 2

Seasonal Infection Rates among Cattle, Buffaloes and Sheep with Helminth Parasites through Faecal Examination in Sohag Province

Season	Cattle		Buffaloes			Sheep		
	examined	Positive (%)	examined	Positive (no)	Positive (%)	examined	Positive (no)	Positive (%)
Winter	39	33.3	41	8	19.5	35	17	48.5
Spring	48	60.4	34	17	50	36	20	55.5
Summer	34	50	25	9	36	32	15	46.8
Autumn	50	42	28	7	25	40	20	50
Total	171	46.8	128	41	32	143	72	50.3

Discussion

The present study reveals that the infection rate of Helminthes was higher in sheep than in cattle, and the level of infection in cattle was higher than that in buffaloes. Buffaloes showed the lowest level of infection, perhaps due to the fact that buffaloes are more resistant to parasitic infestation than other ruminants, as mentioned by [2]. The infestation in sheep was the highest among the examined animals, attributable to its feeding habits (it is a sweeper animal) and also to out-doors grazing, this agrees with [6].

Table 3

Infection Rate of Cattle and Buffaloes, Sheep with Different Helminthes after Faecal Examination

Animal spp.	Cattle (P=81)		Buffaloes(P=41)		Sheep (P=72)	
	P (No)	P (%)	P (No)	P (%)	P (No)	P (%)
<i>The parasite</i>						
<i>Trichostrongyles</i>	52	64.1	29	70.7	45	62.5
<i>Moniezia spp.</i>	20	24.6	8	19.5	29	40.2
<i>Toxocara vitulorum</i>	32	39.5	23	56	0	0
<i>Fasciola spp.</i>	11	13.5	5	12	10	13.8
<i>Strongyloides papillosus</i>	12	14.8	6	14	12	16.6
<i>Lung worm</i>	3	3.7	1	2.4	6	8.3
<i>Trichuris spp.</i>	7	8.6	0	0	2	2.7

P = number of infected animals



Table 4

The Relation between Age of Infected Cattle and Buffaloes and Infection with Helminthes

The age	Below 2 years (< 2 years)		From (2-5years)		Over 5 years (> 5 years)	
	P (No)	P (%)	P (No)	P (%)	P (No)	P (%)
<i>Animal spp.</i>						
<i>Cattle (P=81)</i>	26	32	23	28.3	32	39.5
<i>Buffaloes (P=41)</i>	16	39	11	26.8	14	34.1

Table 5

The Relation between Age of Infected Sheep and Infection with Helminthes

Age	Below 9 months		(9m -1.5years)		Over 1.5 years	
	P (No)	P (%)	P (No)	P (%)	P (No)	P (%)
Sheep (P=72)	21	29.1	27	37.5	24	33.3

List of Figures:

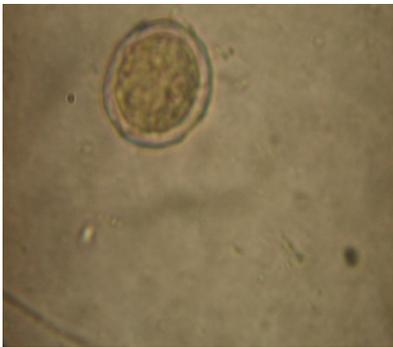


Figure (A) *Toxocara vitulorum* Egg (x40)



Figure (B) *Moniezia* spp. Egg (x40)



Figure (C) *Strongyloides papillosus* Egg(x40)

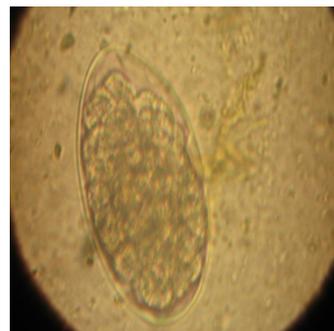


Figure (D) *Trichostrongylidae* Egg (x40)

Turning to the infection rate of the three groups of examined animals by sex, females were more highly infected than males in all three animal groups examined. This may be due to the fact that females are exposed to more stress, in the form of hormonal changes, pregnancy, lactation, and calving. Another consideration here is that most of the males were bred for fattening, and under good hygienic conditions, with periodic anthelmintic dosing. These results agree with those of [1], [16].



The seasonal dynamics study of parasitic helminthes infection among the examined animals reveals that in cattle, buffaloes, and sheep the spring and summer were the seasons when infection rates were highest, with peaks in March and May, followed by autumn, with a peak in September, and finally winter, with a peak in December. This can be attributed to a reduction in the overall resistance of the host during the dry seasons. Because of heat, summer has favorable conditions for the development of the infective stages. This agrees with [14]. The study of the relationship between age and the infection rate with helminthes, reveals that younger cattle (below 2 years) and buffaloes older than 5 years show the highest level of infection, with animals aged between 2 to 5 years doing better. This may be due to lower resistance and less developed immunity against infection in younger animals. It may also be due to blood sucking helminthes, that cause anaemia, as well as lowering immunity in animals both young and old. This agrees with [16], and [17]. In sheep, animals aged between 9 months and 2 years showed higher prevalence of infection with helminthes than the other examined sheep.

References

1. Abdel-Wahed, M.M. Morphological studies on *G. I.* nematodes infesting buffalo in Kalubia and Sharkia Governorates. M.V.Sc. Thesis, Cairo University. (1987).
2. Agye, A.D. Epidemiological Studies on Gastrointestinal Parasitic Infections of Lambs in the Coastal Savanna Regions of Ghana. *J. of Tropical Animal Health and Production*, Volume 35: 207-217. 2004.
3. Borgsteede, F.H.M Tibben, J. Cornelissen J.B. Agneessens, W.J. and Gaasenbeek, C.P.H. Nematode parasites of adult dairy cattle in the Netherlands, *Vet. Parasitol.* 89: 287-296. (2000).
4. Burger, H.J. and Stoy, M. Parasitologische diagnostik (teil 11). *Elzählung und larven differenzierung. Therapogen praxisdienst*, 3:1-22. (1986).
5. Charles, M.H. (1998). *Diagnostic vet. Paras.* Second Edition. Page-254.
6. Chollet, J.Y. Martrenchar, A Bouchel, D Njoya, A. Epidemiology of digestive parasitic diseases of young cattle in northern Cameroon. *Rev Elev. Medical Veterinary Pays Trop.* 1994, 47(4):365-74.
7. Corwin, R.M. Economics of gastrointestinal parasitism of cattle. *Vet. Parasitol.* 1997, 72: 451-457.
8. Eysker, M. and Ploeger, H.W. Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants, *Parasitology* 2000, 120:S109-S119.
9. Ezzat, M.A.E. The geographical distribution and incidence of important parasitic diseases in Egypt and its bearing on the livestock production. *J. Arab. Vet. Med.Ass.* 1960, 20 (2):127-136.
10. Keyyu, J.D.; Egyne, E.; Makundi, A.E. and Kassuku, A.A. (2002) Comparative efficacy of Zoomectin and Ivomec Super against Gastrointestinal nematodes of sheep and goats, *Tanzania Veterinary Journal* 21: 291-9.
11. Keyyu, J.D.; Monrad, J.; Kyvsgaard, N.C. and Kassuku, A.A. Epidemiology of *Fasciola gigantica* and *Amphistomes* in cattle on traditional, small-scale dairy and large-scale dairy farms in the Southern Highlands of Tanzania, *Tropical Animal Health and Production*, 2005, 37: 303-314.
12. Makundi, A.E.; Kassuku, A.A.; Maselle, R.M.; and Boa, M.E. Distribution, prevalence and intensity of *Schistosoma bovis* in cattle in Iringa district, Tanzania, *Veterinary Parasitology*, 1998, 75: 59-6.
13. McLeod, R.S. (1995) Costs of major parasites to the Australian livestock industries, *Int. J. Parasitol.* 25: 1363-1367.
14. Pritchard, G.C.; Forbes, A.B.; Williams, D.J.; Salimi-Bejestani, M.R.; Daniel R.G. Emergence of fasciolosis in cattle in East Anglia. *Vet Rec.* 2005, 157(19):578-582.
15. Sackett, D. and Holmes, P. Assessing the economic cost of endemic disease on the profitability Australian beef cattle and sheep producers. *Meat and Livestock Australia Limited, Sydney, Australia.* 2006, ISBN. 1741910021.
16. Shima, S.G. some studies in helminth parasites of abomasum of cattle and buffaloes in Kafr-Elsheikh province. M.V.Sc. Thesis, Kafr-Elsheikh University, 2005.
17. Van Aken, D.; Dargantes, A.; Valdez, L.; Flores, A.; Dorny, P.; and Vercruyse, J. Comparative study of strongyle infections of cattle and buffaloes in Mindanao, the Philippines. *Veterinary Parasitology*, 2000, 89: 1-2: 28-1.

© 2016 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 (CA-BI.org/Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



ПАТОГЕНЕЗ, ПАТОЛОГИЯ И ЭКОНОМИЧЕСКИЙ УЩЕРБ

Поступила в редакцию 10.03.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК: 571.27
DOI: 10.12737/23077

Для цитирования:

Гришина Е.А. Роль цитокинов в развитии иммунитета при гельминтозах // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 521–526

For citation:

Grishina E.A. The role of cytokines in the immunity development at helminthiasis. Russian Journal of Parasitology, 2016, V.38, Iss.4, pp. 521–526

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ ИММУНИТЕТА ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ

Гришина Е.А.

ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования Минздрава России, г. Москва, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр.1, e-mail: gelana2010@yandex.ru

Реферат

Межклеточные и межмолекулярные взаимодействия при формировании противопаразитарного иммунитета играют значительную роль. Такие взаимодействия осуществляются, как правило, с помощью гуморальных сигнальных молекул — цитокинов.

Целью настоящей обзорной работы было определить роль цитокинов в индукции иммунопатологии при гельминтозах для последующего усовершенствования методов профилактики, диагностики и лечения этих заболеваний.

Результаты и обсуждение. Как показывают исследования, наиболее важным функциональным свойством цитокинов является их участие в регуляции развития и поведения клеток-эффекторов иммунной системы, в поддержании гомеостаза, в управлении гиперчувствительностью и воспалительными процессами, а также в развитии иммунопатологического повреждения тканей и органов [2]. Как оказалось, из четырех основных молекул, выработка которых вызывает клеточную гибель, гельминты сами стимулируют продукцию в организме хозяина такого цитокина, как фактор некроза опухоли (TNF-альфа).

Цитокины также могут привлекать клетки и создавать клеточные инфильтраты по типу поздней фазы аллергии немедленного типа с накоплением эозинофилов, тучных клеток, нейтрофилов. Цитокины направляют дифференцировку Т-клеток по Th2-пути, которые в свою очередь выделяют новую серию цитокинов и ферментов, что в итоге обеспечивает разрушение паразита.

IL-4 наиболее сильно активирует дифференцировку Th2, усиливает накопление тучных клеток, эозинофилов, индуцирует переключение синтеза IgG₁ на IgG₂ и IgE, индуцирует выброс гистамина и еще целый ряд биологически активных молекул тучными клетками и, таким образом, играет важную роль в развитии реакций гиперчувствительности I типа. То есть, IL-4 опосредованно, через активацию Th2-иммунного ответа, иногда способствует спонтанному изгнанию некоторых нематод из кишечника [9, 14, 12].

Как оказалось, гельминты активируют выработку IL-10, который подавляет продукцию g-интерферона Т-хелперами 1 типа и обладает мощным противовоспалительным, иммуномодулирующим и иммунодепрессивным эффектом.

Таким образом, необходимо расшифровать еще многие факторы и механизмы индукции или подавления иммунитета, запуска иммунопатологических процессов при гельминтозах, в которых участвуют цитокины. Их целенаправленное применение в профилактических мероприятиях и терапии гельминтозов позволит существенно повысить эффективность борьбы с последними и снизить риск развития патологических процессов.



Ключевые слова: гельминтозы, иммунитет, эволюционная иммуно-модификация, цитокины, иммунопатология.

Целью настоящей обзорной работы было определить роль цитокинов в индукции иммунопатологии при гельминтозах для последующего усовершенствования методов профилактики, диагностики и лечения этих заболеваний.

Наиболее полному иммунологическому изучению до последнего времени подвергались гельминтозы, вызываемые тканевыми гельминтами (трихинеллез, эхинококкоз, описторхоз, филяриатозы, ларвальные тениидозы и др.). Значительно меньше имеется исследований по механизмам индукции клеточного и гуморального иммунитета, а также процессов иммунопатологии при полостных кишечных гельминтозах, в том числе с мигрирующими стадиями (аскаридозе, токсокарозе, трихоцефалёзе, энтеробиозе, анкилостомозе и др.).

Как показали наблюдения, естественная иммунизация организма хозяина при полостных гельминтозах осуществляется, в первую очередь, не за счет непосредственного контакта инвазионных стадий гельминта с клетками и тканями хозяина, а за счет секреторно-эксcretорных продуктов, выделяемых ими в процессе жизнедеятельности, а также за счет антигенов, высвобождающихся из тканей паразитов в случае их гибели и распада.

Продукты жизнедеятельности гельминтов, так называемые секреторно-эксcretорные продукты (СЭП), а также измененные в процессе патогенеза (дистрофия, воспаление, некроз) белки и клетки хозяина становятся мощным иммунным стимулом, являясь патогенами и включающими механизмы общего и местного иммунитета [2]. При этом активируются и гуморальные, и клеточные механизмы как неспецифического (комплемент, фагоцитоз и т.п.), так и специфического (В- и Т-системы) иммунитета, которые направлены на элиминацию паразитов.

Преобладание одних механизмов и угнетение других, поэтапная смена их интенсивности в течение всей инвазии делает иммунитет при гельминтозах с одной стороны — уникальным, а с другой стороны — необычно слабым и кратковременным, полиморфным и, как результат — низко-специфичным.

Клетки иммунной системы связаны сложной сетью межклеточных взаимодействий, которые играют ключевую роль на разных этапах становления и функционирования иммунной системы. Межклеточные взаимодействия осуществляются как через непосредственный контакт клеток, так и посредством гуморальных сигнальных молекул — цитокинов. Цитокины вырабатываются преимущественно активированными клетками иммунной системы, лишены специфичности в отношении антигенов и являются медиаторами межклеточных коммуникаций при иммунном ответе, гемопоэзе, воспалении, а также межсистемных взаимодействиях.

Важным функциональным свойством цитокинов является регуляция развития и поведения клеток-эффекторов иммунной системы. Таким образом, они участвуют в поддержании гомеостаза, в управлении гиперчувствительностью и воспалительными процессами и в некоторых случаях могут способствовать развитию острого или хронического повреждения тканей и органов [2].

Известна роль апоптоза в развитии иммунопатологии при гельминтозах. Как оказалось, из четырех основных молекул, выработка которых вызывает клеточную гибель, гельминты сами стимулируют продукцию в организме хозяина такого цитокина, как фактор некроза опухоли (TNF-альфа), хотя считается, что синтез TNF-альфа применяется хозяином как защитный иммунный ответ при большинстве гельминтозов, направленный на индукцию апоптоза в тканях паразита [5, 10, 11].

Было установлено, что в организме хозяина при шистосомозах, фасциолёзе, эхинококкозе с целью защиты гепатоцеллюлярных повреждений, вызванных яйцами паразитов, происходит повышение выработки макрофагами хозяина TNF-альфа [13, 6, 7]. Для чего стимулируют выработку TNF-альфа сами гельминты, пока неясно.

Цитокины также могут привлекать клетки и создавать клеточные инфильтраты по типу поздней фазы аллергии немедленного типа с накоплением эозинофилов, тучных клеток, нейтрофилов. Эозинофилы — основные эффекторы противопаразитарного иммунитета,



которые с помощью своих низкоафинных рецепторов прикрепляются к IgE-антителам, связанным с гельминтами, дегранулируют и выделяют следующие цитокины — IL-1,-3,-4,-5,-6,-8 и др., а также главный основной белок, катионный белок, пероксидазу, анионы супероксида, которые лизируют кутикулу гельминтов. Цитокины при этом привлекают клетки, вследствие чего возникают клеточные инфильтраты по типу поздней фазы аллергии немедленного типа с накоплением эозинофилов, тучных клеток, нейтрофилов, Th2, выделяющих новую серию цитокинов и ферментов, что в итоге обеспечивает разрушение паразита.

Цитокины также направляют дифференцировку Т-клеток по Th2-пути, которые в свою очередь выделяют новую серию цитокинов и ферментов, что в итоге обеспечивает разрушение паразита. По-видимому, гельминта могут уничтожить и макрофаги, если бы были активированы лимфокинами, которые продуцируют Th1-клетки, но, как известно, Т-хелперы каждого типа способны ингибировать активацию Т-хелперов другого типа с помощью продуцируемых цитокинов, определяя тем самым вид преобладающего иммунитета: клеточного — для внутриклеточных паразитов, и гуморального — для внеклеточных. Элиминация гельминтов из кишечника хозяина происходит, по-видимому, только при совместном действии антител и стимулированных лимфокинами бокаловидных клеток слизистой кишечника, выделяющих муцин [1].

Пусковыми механизмами активации Th2-ответа при гельминтозах являются растворимые метаболиты и компоненты мембран (кутикула или тегумент) инвазионных или мигрирующих личинок и взрослых стадий паразита. Полагают, что антигены гельминтов, находящиеся в промежуточных концентрациях, презентированные В-лимфоцитами, при взаимодействии с CD4+ -клетками стимулируют преимущественно продукцию следующих цитокинов — IL-4, IL-5, IL-10, и, в результате, индуцируют Th2-тип иммунного ответа. Эти же цитокины оказывают активирующее действие на «свою» суб-популяцию.

IL-4 наиболее сильно активизирует дифференцировку Th2, усиливает накопление тучных клеток, эозинофилов, индуцирует переключение синтеза IgG₁ на IgG₄ и IgE, индуцирует выброс гистамина и еще целый ряд биологически активных молекул тучными клетками и, таким образом, играет важную роль в развитии реакций гиперчувствительности I типа. То есть, IL-4 опосредованно, через активацию Th2-иммунного ответа, иногда способствует спонтанному изгнанию некоторых нематод из кишечника [9, 14, 12].

Как оказалось, гельминты активируют выработку IL-10, который подавляет продукцию g-интерферона Т-хелперами 1 типа и обладает мощным противовоспалительным, иммуномодулирующим и иммунодепрессивным эффектом, поэтому играет важную роль при адаптации гельминтов в организме хозяина и предотвращении их само-изгнания.

Кроме того, Th2 сами продуцируют IL-10, главная роль которого — это ингибирование избыточного синтеза про-воспалительных цитокинов — IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, ФНО- α и др. [8, 3]. По-видимому, именно благодаря своим потенциальным иммуно-супрессивным и противовоспалительным свойствам IL-10 играет важную роль при адаптации гельминтов в организме хозяина и предотвращении их самоизгнания. Этот вопрос также еще недостаточно изучен [8].

Локализация эозинофилов около паразитов и усиление их анти-паразитарных функций также связана с массивным высвобождением Т-лимфоцитами хемотаксических факторов. Т-лимфоциты способны с помощью продукции IL-5 дополнительно стимулировать «производство» эозинофилов в костном мозге. Эозинофилы привлекаются к паразиту хемотаксическими факторами, которыми служат лимфокины (из сенсibilизированных антигеном лимфоцитов), производные насыщенных жирных кислот из сенсibilизированных тучных клеток. Эозинофилы прилипают к кутикуле или тегументу паразита благодаря обволакивающим его антителам, к которым у гельминта имеются рецепторы, дегранулируют и выделяют ряд ферментов, некоторые из которых (супероксид -O₂ и фосфолипаза-В) вызывают деструкцию тегумента, приводящую к гибели паразита, а другие- гистаминаза и фосфолипаза-D, нейтрализуют амины тучных клеток, снимая таким путем аллергическую реакцию [4].

Выявлена активность цитокинов и в работе НК-клеток (натуральные киллеры) против внеклеточных макропаразитов (гельминтов), но только на самых ранних стадиях после заражения. Как оказалось, активность НК-клеток увеличивается в 20-100 раз, когда на них



действуют такие цитокины, как IFN- α , IFN- β или IL-12. Сочетание IL-12 с TNF- α может вызвать усиление продукции IFN- γ естественными киллерами. Механизм распознавания антигенов NK-клетками ещё недостаточно изучен, однако установлено, что они избирательно убивают клетки-мишени с низким уровнем молекул MHC класса I на своей поверхности [1].

Заключение

Таким образом, необходимо расшифровать еще многие факторы и механизмы индукции или подавления иммунитета, запуска иммунопатологических процессов при гельминтозах, в которых участвуют цитокины, так как их целенаправленное применение в профилактических мероприятиях и терапии гельминтозов позволит существенно повысить эффективность борьбы с последними и снизить риск развития патологических процессов.

Литература

1. Койко Р. Иммунология: учебное пособие/ Р. Койко, Д. Саншайн, Э. Бенджамини; пер. с англ. А.В. Камаева, А.Ю. Кузнецовой под ред. Н.Б. Серебряной.- М.: Издательский центр «Академия», 2008.- 368 с.
2. Лазарева Ю.Б., Филиппова А.В., Романова Л.М., Гришина Е.А. Актуальные проблемы подавления иммунитета при гельминтозах //Фундаментальные науки и практика. Сборник научных трудов., РФ, 2010, вып. 2, С. 70 — 71.
3. Меньшиков И.В., Бедулева Л.В. Введение в иммунологию.- М.- Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2010.- 140 с.
4. Озерецковская Н.Н. Органная патология в хронической стадии тканевых гельминтозов: роль эозинофилии крови и тканей, иммуноглобулинемии E, G4 и факторов, индуцирующих иммунный ответ // Мед. паразитология и паразитарные болезни. — 2000. — № 4. — С. 9-14.
5. Adewusi O.I., Nix N.A., Lu X. e.a. Schistosoma mansoni: relationship of tumor necrosis factor- γ to morbidity and collagen deposition in chronic experimental infection // Exp. Parasitol. . 1996. . Vol. 84. . P. 115-123.
6. Dai W.J., Gottstein B. Nitric oxide-mediated immunosuppression following murine Echinococcus multilocularis infection // Immunology. . 1999. . Vol. 97, № 1. . P. 107-116.
7. Davies S.J., Lim K.C., Blank R.B. e.a. Involvement of TNF in limiting liver pathology and promoting parasite survival during schistosome infection // Int. J. for Parasitol. 2004. . Vol. 34, № 1. . P. 27-36.
8. Estaquier J., Marguerite M., Sahuc F. e.a. Interleukin 10-mediated T cell apoptosis during the T helper type 2 cytokine response in murine Schistosoma mansoni parasite infection // Eur. Cytokine Netw. . 1997. Vol. 8. . P. 153-160.
9. Fallon P.G., Smith P., Dunne D.W. Type 1 type 2 cytokine producing mouse CD4+ and CD8+ cells in acute Schistosoma mansoni infection // Eur. J. Immunol. 1998. Vol. 28. P. 1408-1416.
10. Garside P., Sands W.A., Kusel J.R. e.a. Is the induction of apoptosis the mechanism of the protective effects of TNF alpha in helminth infection? // Parasite Immunol. 1996. Vol. 18, № 3. P. 111-113.
11. King C.L., Malhotra I., Mungai P. e.a. Schistosoma haematobium-induced urinary tract morbidity correlates with increased tumor necrosis factor-alpha and diminished interleukin-10 production // J. Infect. Dis. 2001. Vol. 184, № 9. P. 1176-1182.
12. Lundy S.K., Lerman S.P., Boros D.L. Soluble egg antigen-stimulated T helper lymphocyte apoptosis and evidence for cell death mediated by FasL+ T and B cells during murine Schistosoma mansoni infection // Infection and Immunity. Vol. 69, № 1. . 2001. . P. 271-280.
13. Osman M.M., Abo-El-Nazar S.Y. IL-10, IFN-gamma and TNF-alpha in acute and chronic human fascioliasis // J. Egypt. Soc. Parasitol. 1999. Vol. 29, № 1. P. 13-20.
14. Rumbley C.A., Zekavat S.A., Sugaya H. e.a. The schistosome granule: characterization of lymphocyte migration, activation and cytokine production // J. Immunol. 1998. Vol. 161. . P. 4129-4137.

References

1. Koyko R., Sanshayn D., Bendzhamini E. Immunology: tutorial. (Russ. ed.: Kamaev A.V., Kuznetsova A. Yu., *Immunologiya: uchebnoe posobie*. М., 2008, Akademiya, 368 p.). (In Russian).
2. Lazareva Yu. B., Filippova A.V., Romanova L.M., Grishina E.A. Actual problems of immunity suppression at helminthiasis. *Fundamental'nye Nauki i Praktika. Sbornik Nauchnyh Trudov* [Proceedings: Fundamental Sciences and Practice], 2010, vol. 2, pp. 70 — 71. (In Russian).
3. Men'shikov I.V., Beduleva L.V. *Vvedenie v immunologiyu*. [Introduction to Immunology], 2010, Moscow- Izhevsk, Publ. «Regular and Chaotic Dynamics», 140 p. (In Russian).
4. Ozeretskovskaya N.N. Organ pathology at the chronic stage of tissue helminthiasis: role of blood and tissue eosinophilia, immunoglobulinemia E, G4 and the immune response inducing factors. *Med.*



Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni. [Medical Parasitology and parasitic diseases], M., 2000, no.4, pp. 9-14 (In Russia).

5. Adewusi O.I., Nix N.A., Lu X. e.a. Schistosoma mansoni: relationship of tumor necrosis factor to morbidity and collagen deposition in chronic experimental infection. *Exp. Parasitol.*, 1996, vol. 84, pp. 115-123.
6. Dai W.J., Gottstein B. Nitric oxide-mediated immunosuppression following murine Echinococcus multilocularis infection., *Immunology*, 1999, vol. 97, no. 1, pp. 107-116.
7. Davies S.J., Lim K.C., Blank R.B. e.a. Involvement of TNF in limiting liver pathology and promoting parasite survival during schistosome infection., *Int. J. for Parasitol.*, 2004, vol. 34, no. 1, pp. 27-36.
8. Estaquier J., Marguerite M., Sahuc F. e.a. Interleukin 10-mediated T cell apoptosis during the T helper type 2 cytokine response in murine Schistosoma mansoni parasite infection., *Eur. Cytokine Netw*, 1997, vol. 8, pp. 153-160.
9. Fallon P.G., Smith P., Dunne D.W. Type 1 type 2 cytokine producing mouse CD4+ and CD8+ cells in acute Schistosoma mansoni infection, 1998, *Eur. J. Immunol.*, vol. 28, pp. 1408-1416.
10. Garside P., Sands W.A., Kusel J.R. e.a. Is the induction of apoptosis the mechanism of the protective effects of TNF alpha in helminth infection? *Parasite Immunol.*, 1996, vol. 18, no. 3, pp. 111-113.
11. King C.L., Malhotra I., Mungai P. e.a. Schistosoma haematobium-induced urinary tract morbidity correlates with increased tumor necrosis factor-alpha and diminished interleukin-10 production, *J. Infect. Dis.*, 2001, vol. 184, no. 9, pp. 1176-1182.
12. Lundy S.K., Lerman S.P., Boros D.L. Soluble egg antigen-stimulated T helper lymphocyte apoptosis and evidence for cell death mediated by FasL+ T and B cells during murine Schistosoma mansoni infection, *Infection and Immunity*, 2001, vol. 69, no. 1, pp. 271-280.
13. Osman M.M., Abo-El-Nazar S.Y. IL-10, IFN-gamma and TNF-alpha in acute and chronic human fascioliasis. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, 1999, vol. 29, no. 1, pp. 13-20.
14. Rumbley C.A., Zekavat S.A., Sugaya H. e.a. The schistosome granulema: characterization of lymphocyte migration, activation and cytokine production. *J. Immunol.*, 1998, vol. 161, pp. 4129-4137.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23077

Received 10.03.2016

Accepted 28.11.2016

THE ROLE OF CYTOKINES IN THE IMMUNITY DEVELOPMENT AT HELMINTHIASIS

Grishina E.A.

SBEI FVE Russian Medical Academy for Postgraduate Education of the Ministry of Health of Russia, 125993 Moscow, 2/1 Barrikadnaya St., build. 1, e-mail: gelana2010@yandex.ru

Abstract

Intensive development of the parasitic diseases immunology in the past decade allows making a definite conclusion about the features of the immune response formation in helminthiasis and its key problems, such as short duration, low-efficiency and the ability to cause the development of immunopathological processes.

Objective of research: The aim of this review was to identify most significant stages of helminthiasis immunogenesis which can cause its low protective ability, and for which further comprehensive study of modern molecular biologists, geneticists, biochemists, immunologists and parasitologists should be held to clarify the immunopathology induction mechanisms and improve methods of prophylaxis, diagnosis and treatment of these diseases.

Results and discussion. Studies have revealed that the main condition for relationship building in the system "parasite-host" is the presence of protection mechanisms in helminths



against exposure to the host's immune system and immunomodulation mechanisms up to the complete immunosuppression in host.

Products of helminths vital activity, so-called secretory-excretory products (SEPs), as well as changed in the process of pathogenesis host proteins and cells become a powerful immune stimulus and activate mechanisms for general and local immunity.

The following defense mechanism in helminthiasis is the most effective: participation of IgE antibodies class and IgG2 subclass which play a major role in the activation of cell adhesive activity; influence of cytotoxic T cells (T killer cells, CD8+ -cells); involvement of macrophages, activated with T-cells; work of induced effector cells (eosinophils, neutrophils, mast cells, platelets, etc.), and the results of natural killer (NK) and regulating Treg- lymphocyte population (CD4 + CD25 + -cells) activity.

It was shown that helminthiasis is accompanied by oxidative stress, which is characterized by decreased activity of catalase, superoxide dismutase, and an increase of lipid peroxidation products, which may cause primary DNA damage underlying in gene and chromosomal mutations that is shown in prior studies.

Parasites metabolites have a cytotoxic effect on somatic, generative and immune cells of host, causing the increase of apoptotic cells among them.

Theoretical significance of the data on identification problems of helminthiases immunology is undoubted. Its practical implementation offers the significant increase in the effectiveness of helminthiasis prevention and control.

Keywords: helminthiases, immunity, evolutionary immunomodification, cytokines, immunopathology.

© 2016 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 (CA-BI.org/Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ И ДИАГНОСТИКА

Поступила в редакцию 10.02.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.121
DOI: 10.12737/23078

Для цитирования:

Буренина Э.А. Нуклеозиддифосфатазы цестод *Bothriocephalus scorpii* (Cestoda: Bothriocephalidae) // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 527–532

For citation:

Burenina E.A. Nucleoside-diphosphatase of cestode *Bothriocephalus scorpii* (Cestoda: Bothriocephalidae). *Russian Journal of Parasitology*, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 527–532

НУКЛЕОЗИДДИФОСФАТАЗЫ ЦЕСТОД *BOTHRIOCEPHALUS SCORPII* (CESTODA: BOTHRIOCEPHALIDAE)

Буренина Э.А.

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостока, 159,
e-mail: burenina@ibss.dvo.ru

Реферат

Цель исследования — изучение активности и свойств нуклеозиддифосфатазы (НДФаза) у цестод *Bothriocephalus scorpii*.

Материалы и методы. Цестод гомогенизировали с 10 объемами среды выделения. НА-Дазы определяли в митохондриях и микросомах с субстратами (ИДФ, ГДФ, УДФ). Неорганический фосфор определяли по Кочетову (1980). Было испытано действие 10 антигельминтных препаратов на активность НДФазы.

Результаты и обсуждение. Обнаружили, что митохондриальные и микросомальные фракции цестод *B.scorpii* обладают нуклеозиддифосфатазной активностью. Активность фермента зависит от субстратов и ионов Mg^{2+} . Изучено влияние различных эффекторов и ионов (Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) на энзимную активность. Эффект 10 антигельминтных препаратов на активность НДФазы был изучен. Эффективными препаратами являются битионол и трихлорофен.

Ключевые слова: нуклеозиддифосфатаза, инозиндифосфат, гуанозиндифосфат, уридиндифосфат, цестода, митохондрия, микросомы, антигельминтики.

Введение

Адаптация гельминтов к паразитизму оказала влияние на их энергетический баланс; изменилось соотношение затрат энергии на различные жизненные функции. Установлено, что пути углеводного и энергетического обменов гельминтов значительно богаче и разнообразнее, чем у позвоночных животных и могут протекать как по анаэробной, так и по аэробной схеме обмена.

Нуклеозиддифосфатаза (НДФаза) катализирует гидролиз нуклеозиддифосфатов, отщепляя концевой фосфат. Каталитические свойства фермента (рН-оптимум, субстратная и ингибиторная специфичность) существенно зависят как от источника фермента, так и от условий определения ферментативной активности. НДФазы у беспозвоночных были определены с помощью гистохимических [7–9], цитохимических [3, 10, 11] и биохимических методов исследования [4, 5, 12]. У нематод НДФазы были обнаружены в стенке кишечного тракта [5, 11], у трематод — в тегументе, различных тканях [3, 10], у цестод — в тегументе, паренхиме, репродуктивных органах, сколексе, церкомере [7, 9]. У речного рака *Orconectes limosus* фермент изучали в эпителии жабер [12], а у кровососущих *Cimex lectularius* и *Phlebotomus papatase* [4] — в эндоплазматическом ретикулуме. Так как беспозвоночные обладают крайне разнообразными путями обмена, каждый вид необходимо исследовать как уникальный случай.



Целью настоящей работы было изучение активности и свойств НДФазы у *Bothriocephalus scorpii* из отряда Pseudophyllidea Carus 1983, сем. Bothriocephalidae Branch 1849, паразитирующих в пилорических придатках бычка Брандта (*Myoxocephalus brandti*) из залива Петра Великого, а также установление возможности ингибирования активности НДФазы некоторыми препаратами, обладающими антигельминтной активностью.

Материалы и методы

Ботриоцефалов собирали из живых бычков и доставляли в лабораторию в термосе в растворе Рингера при температуре 20–25°C. В лаборатории ботриоцефалов промывали дистиллированной водой, подсушивали на фильтровальной бумаге и замораживали. Для приготовления ферментных экстрактов *B. scorpii* гомогенизировали с 10 объемами среды выделения (0,25 М сахароза, 0,05 М трис, 0,005 М ЭДТА, pH 7,4). Полученный гомогенат центрифугировали 15 мин при 1000g и 1°C. Надосадочную жидкость центрифугировали 30 мин при 12000g (цитозоль 12 000g). Выделенные митохондрии промывали средой выделения и центрифугировали 30 мин при 12 000g. Для получения микросомальной фракции цитозоль 12 000g центрифугировали при 105 000g в течение 60 мин и получали микросомы и цитозоль 105 000g (Suprafuge-22, угловой ротор). Концентрации субстратов, ферментного белка, ионов металла, буфера и pH были выбраны такими, которые обеспечивали наибольшую скорость реакции.

Активность НДФазы (нуклеозиддифосфат-фосфогидролаза, НФ 3.6.1.6.) измеряли по освобождению неорганического фосфата. Анализируемая среда содержала (мМ): 50 Трис-НСI буфера (pH 7,4), 1,5 инозиндифосфата (ИДФ) и гуанозиндифосфата (ГДФ), 2,0 уридиндифосфата (УДФ), 10 MgCl₂ и 0,1–0,15 мг ферментного белка. Объем пробы составил 1,2 мл, в контрольные пробы перед добавлением белка вносили 0,5 мл 20% ТХУ. Перед добавлением субстрата пробы преинкубировали в водяной бане 10 мин. После добавления субстрата пробы инкубировали 30 мин в водяной бане, реакцию останавливали добавлением 0,5 мл 20% ТХУ и охлаждали на льду. Пробы центрифугировали 20 мин при 4 000 об./мин (настольная центрифуга MPW-340). В надосадочной жидкости измеряли содержание неорганического фосфора (Фн) по Кочетову [2]. Определение белка проводили по Лоури [6]. Константы Михаэлиса устанавливали графически [1]. Активность фермента выражали в нмолях Фн/мин/мг белка. Антигельминтные препараты растворяли в 96%-ном этаноле и вносили в опытную среду в объеме 0,1 мл. Параллельно, чтобы исключить ингибирующее влияние этанола на активность фермента, ставили контроль на спирт.

Результаты и обсуждение

Активность и свойства НДФазы цестод *B. scorpii* изучены впервые. Оптимум активности фермента у *B. scorpii* наблюдали при pH 7,4. По данным авторов фермент *Schistosoma mansoni* и *Haematoloechus medioplexus* [3], кровососущих постельного клопа и москитов [4] и эпителия жабер речного рака [12] имеют оптимум pH в пределах 7,0–7,4. Такой разброс pH оптимумов у беспозвоночных обусловлен, по-видимому, особенностями фермента, а также вариабельностью условий, при которых исследовали активности.

Активность НДФазы *B. scorpii* была исследована во всех субклеточных фракциях (цитозольных, митохондриальной и микросомальной). Как видно из данных таблицы 1, наибольшую активность фермента наблюдали в микросомальной фракции с тремя субстратами. Согласно литературным данным, фермент у других объектов изучали, в основном, цито- и гистохимически; в эпителии жабер речного рака *Orconectes limosus* — в микросомальной фракции 100 000 g [12], а у постельного клопа и москитов — во фракции 12 000 g [4]. В связи с этим можно сказать, что широкое распространение НДФаз в органах и тканях беспозвоночных свидетельствует об их важной физиологической роли.

Скорость энзиматической реакции зависит от концентрации субстратов, которыми служат инозиндифосфат (ИДФ), уридиндифосфат (УДФ) и гуанозиндифосфат (ГДФ). В отсутствие субстрата активность фермента отсутствует во всех субклеточных фракциях *B. scorpii*. Скорость нуклеозиддифосфатазной реакции растет с увеличением количества добавленного субстрата, оставаясь постоянной при концентрации их в пробах с ИДФ и ГДФ 1,5 мМ, а с УДФ — 2 мМ. Различные субстраты гидролизировались с разной скоростью, наи-



большая активность была в реакции с ИДФ. Кинетические параметры в митохондриальной и микросомальной фракциях приведены в таблице 2.

Таблица 1

Активность нуклеозиддифосфатаз в субклеточных фракциях *Bothrioccephalus scorpii* (нмоль Фн/мин/мг белка)

Исследуемая фракция	Субстрат		
	ИДФ	УДФ	ГДФ
Цитозоль 12 000 г	70,52±1,53 (6)	57,67±1,40 (6)	49,36±1,26 (6)
Митохондрии	107,7±6,2 (18)	89,15±1,7 (18)	78,95±1,65 (12)
Цитозоль 105 000 г	75,30±2,01 (6)	55,41±1,53 (6)	52,89±0,87 (6)
Микросомы	125,8±9,9 (18)	103,1±0,9 (18)	87,40±1,83 (12)

Таблица 2

Кинетические параметры нуклеозиддифосфатаз *Bothrioccephalus scorpii*

Исследуемая фракция	ИДФ		УДФ		ГДФ	
	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}
Митохондрии	$2,0 \cdot 10^{-3}$	250,0	$1,1 \cdot 10^{-3}$	111,11	$0,8 \cdot 10^{-3}$	111,11
Микросомы	$2,2 \cdot 10^{-3}$	285,0	$1,0 \cdot 10^{-3}$	105,26	$1,1 \cdot 10^{-3}$	111,11

Примечание. K_m выражена в М, V_{max} — в нмоль Фн/мин/мг белка.

НДФаза требует обязательного присутствия ионов Mg^{2+} , образуя энзим-субстратный комплекс. Без ионов Mg^{2+} активность фермента отсутствует во всех фракциях *B. scorpii* со всеми субстратами, концентрация ионов Mg^{2+} составляет 10 мМ. Изучая активность фермента в тегументе *Schistosoma mansoni* и *Haematolechus medioplexus* [3], постельного клопа и москитов [4], авторы добавляли в инкубационную среду 4 мМ $MgCl_2$, а в случае с *Trichinella spiralis* [5] — 5 мМ $MgCl_2$.

Для анализа свойств НДФазы интересно было изучить влияние различных эффекторов на активность фермента в митохондриях и микросомах *B. scorpii* с субстратом ИДФ и УДФ (табл. 3). Triton x-100 в концентрации 0,1% увеличивал активность микросомальной УДФ-зависимой НДФазы на 47,8%, а ИДФ-зависимой НДФазы — в микросомальной фракции на 14,8%, а в митохондриальной — только на 5,4%. Однако Ca^{2+} -НДФаза постельного клопа и москитов была в 4 раза выше в реакции с субстратом ИДФ и Triton-x-100 [4].

ЭДТА, являясь хелатирующим агентом, оказывает специфическое действие на мембранные структуры. Нами обнаружено, что ЭДТА в концентрации 10 мМ угнетает активность НДФазы с анализируемыми субстратами в митохондриальной и микросомальной фракциях. В присутствии 1 мМ ЭДТА каталитическая активность фермента постельного клопа и москитов [4] составляет 2,8% от максимальной активности. Сульфгидрильный реагент, дитиотрейтол (ДТТ), в концентрации 1 мМ активировал микросомальную УДФ-зависимую НДФазу на 30%, а микросомальную и митохондриальную ИДФ-зависимую НДФазу ингибировал также как и митохондриальную УДФ-зависимую НДФазу. НДФаза *T. spiralis* [5] при введении в инкубационную среду 2,5 мМ ДТТ была на уровне контроля. Глутатион в концентрации 5 мМ угнетал активность митохондриальной и микросомальной НДФаз с УДФ субстратом и микросомальную НДФазу с субстратом ИДФ, а митохондриальную активировал на 12%. Наши данные согласуются с результатами, полученными при изучении НДФазы у *Raillietina johri* [9] и *Fasciola hepatica* [5]. Арсенат в концентрации 5 мМ ингибировал на 100% митохондриальный и микросомальный ферменты с ИДФ субстратом и митохондриальный с УДФ субстратом, а микросомальный — на 59% с УДФ субстратом. Данные по другим беспозвоночным отсутствуют.

Исследуя влияние двухвалентных катионов на активность НДФазы, обнаружили, что $MnCl_2$ в концентрации 10 мМ ингибировал НДФазу во всех фракциях с ИДФ и УДФ субстратами. $CaCl_2$ в микросомальных фракциях с ИДФ и УДФ субстратами действовал на уровне контроля; в митохондриях с УДФ угнетал фермент на 29%, а в митохондриях с ИДФ активировал на 31%. Ферменты постельного клопа и москитов [4] и *R. johri* [9] активировались ионами Ca^{2+} , а фермент *T. spiralis* [5] был ингибирован. Ионы Zn^{2+} активировали фермент со всеми субстратами в митохондриях и микросомах. Ионы Zn^{2+} играют уникальную роль в выражении активности НДФазы, действуя как аллостерические активаторы. Однако фермент *T. spiralis* [5] был ингибирован 1 мМ иона Zn^{2+} . АТФ (2 мМ), цистеин (10 мМ) и NaF (10 мМ) угнетали активность НДФазы в реакциях с субстратами ИДФ и УДФ в обеих фракциях (табл. 3). Наши данные согласуются с данными, полученными для *S. mansoni* [3] и *R. johri* [9] по ингибированию цистеином и NaF.

Таблица 3

Влияние различных эффекторов и катионов на активность нуклеозиддифосфатаз с различными субстратами (% от контроля)

Инкубационная среда с добавками	Субстрат ИДФ		Субстрат УДФ	
	микросомы	митохондрии	микросомы	митохондрии
Контроль	100	100	100	100
Triton x-100 0,1%	114,8	105,4	147,8	74,5
ЭДТА 10 мМ	33,0	26,8	5,0	29,1
ДТТ 1 мМ	71,4	89,6	130,7	60,6
Глутатион 5 мМ	63,8	112,0	45,1	55,5
Арсенат 5 мМ	0	0	41,2	0
$CaCl_2$ 10 мМ	99,5	130,9	94,5	71,1
$MnCl_2$ 10 мМ	35,7	66,9	50,0	33,8
$ZnCl_2$ 10 мМ	101,5	194,0	286,3	169,8
АТФ 2 мМ	40,8	0	0	7,2
Цистеин 10 мМ	66,3	69,4	53,8	53,3
NaF 10 мМ	10,2	17,0	11,0	17,0

Подводя итог проведенным экспериментам, можно сделать вывод, что митохондриальная и микросомальная фракции *B. scorpii* обладают нуклеозиддифосфатазной активностью. Полученные результаты и литературные данные свидетельствуют о том, что НДФаза присутствует в различных мышцах разных представителей беспозвоночных и аналогична свойствам фермента из позвоночных. Сравнительное изучение НДФаз у беспозвоночных из разных классов и с разной локализацией могло бы дать интересный материал для понимания биохимической эволюции.

НДФаза выполняет огромную роль в клеточном обмене гельминтов, изменение активности которой под влиянием антигельминтных препаратов может привести к серьезным нарушениям в углеводном и нуклеиновом обменах гельминтов. Было испытано действие ряда антигельминтных препаратов из разных групп соединений на активность НДФазы с разными субстратами в микросомальной фракции *B. scorpii* (табл. 4).

Таблица 4

Влияние антигельминтных препаратов на активность нуклеозиддифосфатазы в микросомах *Bothrioccephalus scorpii* с различными субстратами (в % от контроля)

Антигельминтный препарат (10 ⁻⁴ М)	Субстрат	
	УДФ	ИДФ
Контроль	100	100
Оксинид	75,4	64,7
Г-937	67,7	59,2
Г-1028	78,1	70,3
Битионол	51,8	49,4



Окончание табл. 4

Тиабендазол	68,2	58,6
Фенбендазол	61,1	54,3
Трихлорофен	54,0	52,1
Празиквантел	75,3	68,7
Ацемидофен	63,2	61,3
Политрем	73,8	69,9

Примечание. Все антигельминтные препараты растворены в 96%-ном этиловом спирте, в контроль добавляли 0,1 мл спирта.

Битионол и трихлорофен, являясь противоцестодозными средствами, вызывают необратимое нарушение двигательной активности цестод и ведут к разрушению их тегумента. Битионол и трихлорофен сильнее ингибировали НДФазу с ИДФ и УДФ субстратами в микросомальной фракции, чем другие препараты. Карбаматбензимидазолы, имеющие различные заместители в положении 5(6) бензимидазольного кольца, тиабендазол и фенбендазол, угнетали активность фермента на 41,4 и 45,7%, соответственно, с ИДФ субстратом, а с УДФ субстратом — на 31,8 и 38,9%. Таким образом, наиболее эффективными препаратами для НДФазы являются битионол и трихлорофен

Литература

1. Корниш–Боуден Э. Основы ферментативной кинетики. — М.: Мир, 1979.
2. Кочетов Г.А. Метод определения неорганического фосфора. Практическое руководство по энзимологии. — М., 1980. — С. 215–216.
3. Bogitsh B.J., Krupa P.L. *Schistosoma mansoni* and *Haematoleochus medioplexus*: nucleosidediphosphatase location in tegument. *Exptl. Parasitol.*, 1971, Vol. 30, No 3, pp. 418–425.
4. Failer B.U., Braun N., Zimmermann H. Cloning, expression and functional characterization of a Ca²⁺-dependent endoplasmic reticulum nucleoside diphosphatase. *J. Biol. Chem.*, 2002, Vol. 277, pp. 36978–36986.
5. Gounaris K., Selkirk M.E., Sadeghi S.J. A nucleotidase with unique catalytic properties is secreted by *Trichinella spiralis*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2004, Vol. 136, No 2, pp. 257–264.
6. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, Vol. 193, No 1, pp. 265–275.
7. Moczon T. Histochemical studies on the enzymes of *Hymenolepis diminuta*. II Nonspecific and specific phosphatases in oncospheres and cysticercooids. *Acta Parasitol. Pol.*, 1973, Vol. 21, No 1–10, pp. 99–106.
8. Moczon T. Histochemical studies on the enzymes of *Hymenolepis diminuta*. IV. Nonspecific phosphatases in a mature parasite. *Acta Parasitol. Pol.*, 1974, Vol. 22, No 22–34, pp. 323–329.
9. Roy T.K. Histochemical studies on *Raillietina (Raillietina) johri* (Cestoda: Davaineidae). II. Nucleoside diphosphatase and thiamine pyrophosphatase. *J. Helminthol.*, 1979, Vol. 53, No 3, pp. 261–263.
10. Roy T.K. Distribution, functional significance of phosphatase in the bovine amphistome *Ceylonocotyle scoliocoelium*. *Ind. J. Exp. Biol.*, 1980, Vol. 18, No 4, pp. 385–392.
11. Seniuta R. Cytochemical studies on some specific phosphatase activities in experimental trichinellosis of mice. *Wiadon. Parasitol.*, 1975, Vol. 21, No 4–5, pp. 683–688.
12. Strauss O., Graszynski K. Isolation of plasma membrane vesicles from the gill epithelium of the crayfish *Orconectes limosus* Rafinesque and properties of the Na⁺/H⁺ exchanger. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1992, Vol. 102A, No 3, pp. 519–526.

References

1. Bogitsh B.J., Krupa P.L. *Schistosoma mansoni* and *Haematoleochus medioplexus*: nucleosidediphosphatase location in tegument. *Exptl. Parasitol.*, 1971, vol. 30, no. 3, pp. 418–425.
2. Failer B.U., Braun N., Zimmermann H. Cloning, expression and functional characterization of a Ca²⁺-dependent endoplasmic reticulum nucleoside diphosphatase. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 36978–36986.
3. Gounaris K., Selkirk M.E., Sadeghi S.J. A nucleotidase with unique catalytic properties is secreted by *Trichinella spiralis*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2004, vol. 136, no. 2, pp. 257–264.
4. Kochetov G. A. Method for determination of organic phosphorus. *Prakticheskoe rukovodstvo po enzimologii* [Practical guide on enzymology] М., 1980, pp. 215–216.



5. Kornish–Bowden A. *Osnovy fermentativnoy kinetiki*. [Principles of Enzyme Kinetics]. M., Mir, 1979.
6. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265–275.
7. Moczon T. Histochemical studies on the enzymes of *Hymenolepis diminuta*. II Nonspecific and specific phosphatases in oncospheres and cysticeroids. *Acta Parasitol. Pol.*, 1973, vol. 21, no. 1–10, pp. 99–106.
8. Moczon T. Histochemical studies on the enzymes of *Hymenolepis diminuta*. IV. Nonspecific phosphatases in a mature parasite. *Acta Parasitol. Pol.*, 1974, vol. 22, no. 22–34, pp. 323–329.
9. Roy T. K. Histochemical studies on *Raillietina (Raillietina) johri* (Cestoda: Davaineidae). II. Nucleoside diphosphatase and thiamine pyrophosphatase. *J. Helminthol.*, 1979, vol. 53, no. 3, pp. 261–263.
10. Roy T. K. Distribution, functional significance of phosphatase in the bovine amphistome *Ceylonocotyle scoliocoelium*. *Ind. J. Exp. Biol.*, 1980, vol. 18, no. 4, pp. 385–392.
11. Seniuta R. Cytochemical studies on some specific phosphatase activities in experimental trichinellosis of mice. *Wiadon. Parasitol.*, 1975, vol. 21, No 4–5, pp. 683–688.
12. Strauss O., Graszynski K. Isolation of plasma membrane vesicles from the gill epithelium of the crayfish *Orconectes limosus* Rafinesque and properties of the Na⁺/H⁺ exchanger. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1992, vol. 102A, no. 3, pp. 519–526.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23078

Received 10.02.2016

Accepted 28.11.2016

NUCLEOSIDE-DIPHOSPHATASE OF CESTODE *BOTHRIOCEPHALUS SCORPII* (CESTODA: BOTHRIOCEPHALIDAE)

Burenina E.A.

Institute of Biology and Soil Sciences, Far East Branch of RAS, 690022, Vladivostok, 159
Prosp.100-letiya Vladivostoka, e-mail: burenina@ibss.dvo.ru

Abstract

Objective of research: To study the activities and properties of nucleoside- diphosphatase (NDPase) in cestode *Bothriocephalus scorpii*.

Materials and methods: Cestodes were homogenized with 10 vol. of extraction medium. NDPase was detected in mitochondria and microsomes with substrates (IDP, GDP, UDP). Inorganic phosphorus was determined by the method of Kochetov (1980). The effects of 10 anthelmintic drugs on the activity of NDPase were studied.

Results and discussion: It was found that the mitochondrial and microsomal fractions of cestodes *B. scorpii* have nucleoside diphosphatase activity.

The activity of nucleoside diphosphatase depends on substrates and Mg²⁺ ions. The impact of various effectors and ions (Ca²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺) on enzyme activity was determined.

Effects of 10 anthelmintic drugs on activity of nucleoside diphosphatase were studied. The anthelmintics Bitionol and Trichlorophen have been proved effective.

Keywords: nucleoside-diphosphatase, inosine diphosphate, uridine diphosphate, guanosine diphosphate, cestode, mitochondria, microsomes, anthelmintic drugs.

© 2016 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 (CA-BI.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 27.08.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.993.192.6
DOI: 10.12737/23079

Для цитирования:

Мусаев З.Г., Абдулмагомедов С.Ш., Курочкина К.Г., Мусаева М.Н., Шихрагимов Э.М. Распространение и профилактика пироплазмидозов крупного рогатого скота в республике Дагестан // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 533–538

For citation:

Musaev Z.G., Abdulmagomedov S.Sh., Kurochkina K.G., Musaeva M.N., Shihragimov A.M. Distribution and prevention of haemosporidia infections among the cattle in the republic of Dagestan. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 533–538

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА ПИРОПЛАЗМИДОЗОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН

Мусаев З.Г.¹, Абдулмагомедов С.Ш.¹, Курочкина К.Г.², Мусаева М.Н.¹, Шихрагимов Э.М.¹

¹ФГБНУ «Прикаспийский зональный НИВИ», Махачкала, Россия, e-mail: pznivi05@mail.ru

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

Реферат

Цель исследования — изучение эффективности препарата ДАЦ (диминацена ацетурат) в сочетании с 20%-ным раствором полиэтиленгликоля при пироплазмидозах крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Для испытания нового метода пролонгированной химиофилактики был проведен производственный опыт в одном из хозяйств Дагестана, неблагополучном по пироплазмидозу.

Входящий в состав препарата ДАЦ диминацена ацетурат быстро ингибирует ДНК клеток паразитов крови, что приводит к их гибели в течение нескольких часов. Препарат ДАЦ является эффективным средством для животных при заболевании пироплазмозом, бабезиозом, тейлериозом, гемоспориозом.

Опыт проведен на 30 головах крупного рогатого скота, которых разделили на 3 группы по 10 голов в каждой. Животным двух групп вводили препарат и пролонгатор в дозах: 0,25 мг/кг в 15%-ном водном растворе ПЭГ и в дозе 0,25 мг/кг в 20%-ном водном растворе, третья группа служила контролем (препарат без пролонгатора).

Эффективность метода определяли путем периодического исследования мазков периферической крови опытных животных на наличие плазмидий в эритроцитах, для мониторинга, синхронно с исследованиями, измеряли температуру тела животных.

Результаты и обсуждение. Установлено, что применение метода пролонгированной химиофилактики пироплазмоза у крупного рогатого скота в объеме 5 мл на 100 кг массы тела через каждые 25 дней (шестикратно) позволяет предотвратить болезнь в течение всего сезона заболеваний. Такой метод обработки позволяет в последующем сократить количество обработок животных за сезон с 24 до 12–13 раз. Также были уточнены данные по распространению пироплазмидозов крупного рогатого скота в девяти районах Республики Дагестан.

Ключевые слова: кровепаразитарные болезни, пироплазмидозы, пролонгированная химиофилактика, полиэтиленгликоль, ДАЦ (диминацена ацетурат), крупный рогатый скот.

Введение

На территории Республики Дагестан на животных паразитирует более 32 видов иксодовых клещей из 9 родов, 22 вида являются переносчиками возбудителей пироплазмидозов и анаплазмоза [2]. Пироплазмоз — кровепаразитарное протозойное заболевание скота, имеющее широкое распространение в Дагестане. Этот протозооз наносит значительный экономический ущерб скотоводству за счет высокой смертности инвазированных животных, массовых аборт, яловости и снижения молочной продуктивности коров, а также нарушений репродуктивных функций у быков-производителей. Среди поголовья мясного скота и овец данное заболевание приводит к резкому исхуданию животных, потере до 30% массы тела и значительно ухудшению качества мясной продукции от убойных животных. Наблюдается массовая гибель заболевших животных [1, 3, 5]. При изучении распространения пироплазмидозов в соседних регионах, также отмечается массовое увеличение неблагополучных очагов по этим заболеваниям крупного рогатого скота и в других республиках приграничных с Россией [6]. Решение проблемы борьбы с пироплазмидозами крупного рогатого скота затрудняется отсутствием эффективных отечественных и дефицитом зарубежных лекарственных препаратов [8]. Несмотря на интенсивный поиск терапевтических и биологических средств защиты скота от возбудителей данного заболевания, в ветеринарной практике до сих пор не найдены стабильно эффективные средства и схемы лечения больных животных. Трудность заключается в том, что ни при каких других заболеваниях животных не происходят такие тяжелые патологические изменения в нервной и сердечно-сосудистой системах, во всех внутренних органах и в желудочно-кишечном тракте, как при этом заболевании [9, 10, 11]. Исходя из вышеизложенного, можно говорить о необходимости изыскания новых эффективных препаратов и методов борьбы с пироплазмидозами крупного рогатого скота. Особенно в таких регионах как Дагестан, где скотоводство всегда было приоритетным и занимает большую долю сельского хозяйства республики.

Целью настоящего исследования является определение эффективности против пироплазмидозов препарата ДАЦ, в дозе 0,25 мг/кг живой массы, в сочетании с 20%-ным раствором полиэтиленгликоля. Уточнение данных по распространению пироплазмидозов крупного рогатого скота в Республике Дагестан.

Материалы и методы

Работа выполнена в одном из хозяйств Дагестана неблагополучном по кровепаразитарным болезням. Метод пролонгированной химиофилактики основан на применении ДАЦ в 5%-ной концентрации, в дозе 0,25 мг/кг живой массы, в сочетании с 20%-ным раствором полиэтиленгликоля (ПЭГ). ДАЦ (диминацена ацетурат) — препарат, содержащий не менее 99,2% ДВ. Представляет собой микрогранулированный порошок желтого цвета, растворимый в воде (производится в Республике Беларусь).

Раствор препарата готовили стерильно, в колбу вносили 75 мл стерильной дистиллированной воды температурой 37°C, затем в этой колбе последовательно растворяли 5г гранулята ДАЦ, после чего добавляли 20г ПЭГ.

Для проведения опыта было подобрано 30 голов крупного рогатого скота. У животных, взятых для опыта, проводили микроскопию мазков периферической крови. Подопытных животных разделили на три группы по 10 голов в каждой.

Животным первой группы (10 голов) вводили внутримышечно препарат ДАЦ, в дозе 0,25 мг/кг в водном 15%-ном растворе ПЭГ, в объеме 5 мл на 100 кг живой массы.

Второй группе (10 голов) вводили внутримышечно ДАЦ в дозе 0,25 мг/кг, в 20%-ном водном растворе ПЭГ, в объеме 5 мл на 100 кг живой массы.

Третья группа животных (10 голов) служила контролем. Этой группе препарат вводили без пролонгатора (ПЭГ).

Растворы препарата вводили животным внутримышечно, шестикратно, через каждый 25 дней в сезон заболеваний.

За животными вели наблюдение в течение 40 дней: измеряли температуру тела, периодически исследовали мазки периферической крови. Начиная с 11-го дня выпаса на пастбище, мазки брали у животных ежедневно. При периодическом обследовании кожно-шерстного покрова на животных регистрировали клещей *Dermacentor marginatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma scupense*, *Boophilus calcaratus*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa*.



Результаты и обсуждение

Входящий в состав препарата диминацена ацетурат быстро ингибирует ДНК клеток паразитов крови, что приводит к их гибели в течение нескольких часов. Препарат ДАЦ является эффективным средством для животных при заболевании пироплазмозом, бабезиозом, тейлериозом, гемоспориديозом.

Производственные испытания метода пролонгированной химиофилактики (ДАЦ в сочетании с полиэтиленгликолем) пироплазмоза крупного рогатого скота показали, что животные, обработанные с использованием этого метода в объеме 5 мл на 100 кг живой массы, шестикратно через каждые 25 дней не заболели в течение всего сезона заболеваний. Было выяснено, что такой метод обработки позволяет в последующем сократить количество обработок животных за сезон с 24 раз до 12-13, и предохраняет животных от пироплазмоза в условиях естественного заражения (через клещей-переносчиков) в течение сезона заболеваний.

Метод химиофилактики крупного рогатого скота, заключающийся в применении ДАЦ в сочетании с полиэтиленгликолем, отличается увеличением продолжительности химиофилактического действия при кровепаразитарных заболеваниях крупного рогатого скота.

Республика Дагестан по своему географическому и природному расположению имеет благоприятные условия для развития и распространения на ее территории многих видов клещей — переносчиков возбудителей пироплазмидозов животных, в течение 210-320 дней в году [4,7].

Нами собраны и проанализированы данные отчетов Республиканской ветеринарной лаборатории по зараженности крупного рогатого скота пироплазмидозами в 9 районах Республики Дагестан, которые представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распространение пироплазмидозов крупного рогатого скота в различных климатических зонах Республики Дагестан(по данным ветеринарной отчетности)

№	Наименование районов	Обследовано (гол.)	Выявл. б-х (гол.)	Пироплазмидозы				%
				<i>Piroplasma bigeminum</i>	<i>Francaeiella colchica</i>	<i>Teileria annulata</i>	Смешанная форма	
1.	Дербентский	72	65	33	17	4	11	90
2.	Хасавюртовский	61	21	14	7	-	-	34
3.	Кизилюртовский	54	19	4	3	9	3	35
4.	Кумторкалинский	180	107	34	21	43	13	59
5.	Ногайский	24	11	-	-	11	-	45
6.	Карабудахкентский	48	34	11	7	14	7	81
7.	Губинский	57	7	7	-	-	-	12
8.	Бабаюртовский	163	123	74	-	39	10	75
9.	Тарумовский	15	7	4	1	2	-	46
Итого		652	402	181	56	121	44	51

Как видно из данных таблицы, пироплазмидозы крупного рогатого скота довольно широко распространены в Дагестане. По данным ветеринарной отчетности средняя зараженность по девяти районам составляет 51%, с колебаниями от 12% в Губинском и до 90% в Дербентском районе. Поэтому разработка и применение химиофилактики является весьма актуальной проблемой в этом регионе.

Применение метода пролонгированной химиофилактики, наряду с сохранением благополучия животных по заболеваниям и сокращению числа обработок также способствует облегчению труда ветеринарных работников и животноводов, экономии acaricidных и химиофилактических препаратов, предупреждению загрязнения окружающей среды ядохимикатами, сокращению накопления их в организме животных и сохранению здоровья людей.

Заключение

Таким образом, метод пролонгированной химиотерапии, основанный на применении ДАЦ в 5%-ной концентрации, в дозе 0,25 мг/кг живой массы в сочетании с 20%-ным раствором полиэтиленгликоля (вводят внутримышечно в объеме 5 мл на 100 кг живой массы, шестикратно через каждые 25 дней), позволяет предотвратить заболевание животных пироплазмозом в течение всего сезона. Такой метод профилактики позволяет в последующем сократить количество обработок животных за сезон с 24 до 12-13 раз.

Литература

1. Абдулмагомедов С.Ш., Магомедов О.А., Бакриева Р.М. Профилактика и меры борьбы с пироплазмидозами крупного рогатого скота в Республике Дагестан // Мат. Всерос. Научно-практической конференции молодых ученых — Махачкала — 2013. — с. 160-162.
2. Абдулмагомедов С.Ш., Нуратинов Р.А., Бакриева Р.М., Магомедшапиев Г.Ш., Абдурахманов Ш.Г. Фауна иксодовых клещей и особенности экологии // Экология Животных. Юг России: экология, развитие — Махачкала — 2012. — №3. — с.13-15.
3. Акбаев М.Ш., Водянов Н.Е., Косминков Н.Е. Паразитология и инвазионные болезни животных — М.: Колос.-1988 — с. 433-499.
4. Айдиев Р.С. Пироплазмидозы крупного рогатого скота на территории Терско — Сулакской низменности и совершенствование мер борьбы // Дисс. ... канд. вет. наук — 03.02.11. — Махачкала — 2010 — 140с.
5. Бижанова Н.З. Распространение пироплазмидозов крупного рогатого скота в Кизилюртовском районе Дагестана // Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки — 2013. — №1. — с. 22-23.
6. Гулов А.Х. Эпизоотология пироплазмидозов и совершенствование мер борьбы с ними в Хатлонской области Республики Таджикистан // Дисс. ... канд. биол. наук. — 03.00.19. — Душанбе — 2004. — 131с.
7. Дарбишева М.Г., Абдулмагомедов С.Ш., Магомедшапиев Г.М., Бакриева Р.М. Эпизоотическая ситуация по пироплазмидозам крупного рогатого скота и меры профилактики и терапии в республике Дагестан // Российский паразитологический журнал. — 2014. — №3. — с. 23-25.
8. Дробина А.И. Пироплазмидозы крупного рогатого скота: эпизоотическая ситуация, лечение и профилактика // Дисс. ... канд. вет. наук — 03.00.19. — Ставрополь — 2007. — 160с.
9. Заболоцкий В.Т., Белименко В.В. Профилактика кровепаразитарных болезней домашних животных // Ветеринария и кормление. — 2013. — №4. — с. 38 — 40.
10. Урсиллов Д.Т.-М., Мусаев З.Г., Абдулгамидов С.Ш. Лечение пироплазмидозов крупного рогатого скота в условиях Дагестана // Сборник Научных Трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Победы и 40-летию инженерного факультета « Проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса юга России» — Махачкала 2013. — с. 37 — 39.
11. Ятусевич А.И., Галат В.Ф., Мироненко В.М., Березовский А.В., Прус М.П., Братушкина Е.Л., Сокока Н.М., Галат М.В., Вербицкая Л.А. Руководство по ветеринарной паразитологии // Минск: ИВЦ Минфина. — 2015.— 496 с.

References

1. Abdulmagomedov, S.Sh. Prevention and control of hemosporidial infection in cattle in the Republic of Dagestan. Mat. Vseros. Nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchennykh [Proc. of All-Russian research and practical conference of young scientists]. Makhachkala, 2013, pp.160-162.
2. Abdulmagomedov S.Sh., Nuratinov R.A., Bakrieva R.M., Magomedshapiev G.Sh., Abdurahmanov Sh.G. Fauna of ixodid ticks and ecological features. *Ekologiya Zhivotnyh. Yug Rossii: ekologiya, razvitie* [Ecology of animals. South of Russia: ecology, development]. Makhachkala, 2012, no. 3, pp.13-15.
3. Akbaev M.Sh., Vodyanov N.E., Kosminkov N.E. *Parazitologiya i invazionnye bolezni zhivotnyh* [Parasitology and infectious diseases in animals]. M., Kolos, pp. 433-499.
4. Aidiev R.S. *Piroplazmidozy krupnogo rogatogo skota na territorii Tersko — Sulakskoy nizmennosti i sovershenstvovanie mer bor'by*. Diss. ... kand. vet. nauk [Piroplasmidosis in cattle on the territory of Tersk-Sulansk region and improvement of fight measures. Diss. PhD vet. sci.]. Makhachkala, 2010. 140p.
5. Bizhanova N.Z. Prevalence of piroplasmidosis among the cattle in the Kizilyurt region of Dagestan. *Izvestiya Dagestanskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Estestvennyye i tochnyye nauki* [Proceedings of DSPU. Natural and Exact Sciences], 2013, no. 1, pp. 22-23.
6. Gulov A.H. *Epizootologiya piroplazmidozov i sovershenstvovanie mer bor'by s nimi v Khatlonskoy oblasti Respubliki Tadjikistan*. Diss. ... kand. biol. nauk. [Epizootiology of piroplasmidoses and improvement



- of measures to combat them in the Khatlon region of Tajikistan. Diss. PhD biol. sci.]. Dushanbe, 2004. 131p.
7. Darbisheva M.G., Abdulmagomedov S.Sh., Magomedshapiev G.M., Bakrieva R.M. Epizootic situation on piroplasmidoses of cattle and measures of prevention and treatment in the Republic of Dagestan. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2014, no. 3, pp. 23-25.
8. Drobinina A.I. *Piroplazmidozy krupnogo rogatogo skota: epizooticheskaya situatsiya, lechenie i profilaktika*. Diss. ... kand. vet. nauk [Piroplasmidoses in cattle : epizootic situation, treatment and prevention. Diss. PhD vet. sci.]. Stavropol, 2007. 160p.
10. Ursilov, D.T.-M., Musaev Z.G., Abdulmagomedov S.Sh. Treatment of piroplasmidosis of cattle in the Republic of Dagestan. *Sbornik Nauchnyh Trudov Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Problemy i perspektivy razvitiya agropromyshlennogo kompleksa yuga Rossii»* [Proc. of Int. sci. and pract. conf. «Problems and development prospects of agroindustrial complex of the South of Russia»]. Makhachkala, 2013, pp. 37-39.
11. Yatusevich, A.I., Galat, A.V., Berezovskiy A.V., Prus M.P., Bratushkina E.L., Soroka N.M., Galat M.V., Verbitskaya L.A. *Rukovodstvo po veterinarnoy parazitologii* [A guide in Veterinary Parasitology]. Minsk. Technoperspektiva, 2007, 496 p.
12. Zabolotskiy, V.T., Belimenko V.V. Prevention of blood parasitic diseases in domestic animals. *Veterinariya i kormlenie* [Veterinary and feeding], 2013, vol. 4, pp. 38-40.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23079

Received 27.08.2016

Accepted 28.11.2016

DISTRIBUTION AND PREVENTION OF HAEMOSPORIDIA INFECTIONS AMONG THE CATTLE IN THE REPUBLIC OF DAGESTAN

Musaev Z.G.¹, Abdulmagomedov S.Sh.¹, Kurochkina K.G.², Musaeva M.N.¹, Shihragimov A.M.¹

¹FSBSI "Caspian Zonal Research Veterinary Institute", Makhachkala, Russia, e-mail: pznivi05@mail.ru

²All-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: vog@vniigis.ru

Abstract

Objective of research: Determination of the efficiency of 5% concentration Diminazene aceturate at the dose of 0.25 mg/kg body in combination with polyethylene glycol solution applied against piroplasmidosis in cattle.

Materials and methods: Trial of the new method of prolonged chemoprevention was carried out in one of the farms of Dagestan, which is unfavorable for piroplasmidosis. Aceturate contained in this drug rapidly inhibits DNA in cells of blood parasites, which leads to their death within several hours. Diminazene aceturate proved to be effective against piroplasmidosis, babesiosis, teleriosis, hemosporidiosis of animals. The experiment was conducted on 30 head of cattle divided into 3 groups 10 head in each. Animals of two groups received the preparation and prolongator at the dose of 0,25 mg/kg in the 15% aqueous solutions of polyethylene glycols (PEG), and at the dose of 0,25 mg/kg in the 20% aqueous solutions; the third group served as a



control (received the preparation without prolongator). Efficacy of the method was estimated by periodic examination of blood smears from experimental animals for plasmodia in erythrocytes and synchronous measurement of body temperature of animals.

Results and discussion: It was found that the method of prolonged chemoprophylaxis applied against piroplasmidosis in animals (at the dose of 5 ml per 100 kg body weight, 6 times every 25 days) enables disease prevention during the whole disease season. Such method allows reducing the number of treatments from 24 to 12-13 times in a season. In addition, data on the distribution of hemosporidia infections among the cattle in the Republic of Dagestan were clarified.

Keywords: blood parasitic diseases, chimio prophylaxis, piroplasmidosis, Diminazene aceturate, polyethylene glycol (PEG), cattle.

© 2016 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 (CA-BI.org/Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)



ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА

Поступила в редакцию 09.09.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.1-085
DOI: 10.12737/23080

Для цитирования:

Суслов В.В., Енгашева Е.С., Кедик С.А., Шняк Е.А., Максимова П.О. Пролонгированные формы антигельминтных препаратов // Российский паразитологический журнал. — 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 539–546

For citation:

Suslov V.V., Engasheva E.S., Kedik S.A., Shnyak E.A., Maximova P.O. Prolonged forms of anthelmintic drugs Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 539–546

ПРОЛОНГИРОВАННЫЕ ФОРМЫ АНТИГЕЛЬМИНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Суслов В.В.¹, Енгашева Е.С.², Кедик С.А.¹, Шняк Е.А.¹, Максимова П.О.³

¹Московский институт тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, пр. Вернадского, 86, e-mail: svvchem@yandex.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии, 123022, Москва, Звенигородское шоссе, 5, e-mail: kengasheva@vetmag.ru

³Московский технологический университет (МИТХТ), 119571, Москва, пр-т Вернадского, 86

Реферат

Цель исследования — провести анализ состояния и перспективы применения пролонгированных форм антигельминтных препаратов в ветеринарии.

Проведен анализ источников литературы, в том числе иностранных авторов, по вопросу разработки и применения в ветеринарии пролонгированных лекарственных форм антигельминтных лекарственных форм. Анализируются данные по кинетике авермектинов и празиквантела в организме животных и приведены сравнительные результаты по изучению зависимости и корреляции фармакокинетических параметров препаратов с их антигельминтной эффективностью. Для предотвращения заражения животных в пастбищный период разрабатываются пролонгированные формы авермектинов, обеспечивающие профилактику заражения в течение длительного периода. Предпринимаются попытки создания пролонгированных лекарственных форм празиквантела для профилактики заражения шистосомами *Schistosoma japonicum*. Показана возможность получения полимерных микросфер, содержащих ивермектины в форме имплантатов. В качестве растворителей используют N-метилпирролидон, триацетин, бензилбензоат и др. Для пролонгации действия ивермектина предлагаются смеси композита на основе сахарозы, ацетатизобутирата и полимолочной кислоты, что обеспечивает высвобождение ивермектина в течение 80 суток. Описаны пролонгированные формы празиквантела как имплантатов на основе поликапролактона и его смеси с полиэтиленгликолем, которые получают экструдированием расплава смеси празиквантела и полимеров.

Ключевые слова: ивермектины, празиквантел, пролонгированные формы, имплантаты, кинетика, эффективность, гельминтозы.

Широкое распространение гельминтозов наносит огромный экономический ущерб животноводству из-за падежа животных, недополучения мясной и молочной продукции. К числу наиболее распространённых паразитозов среди овец и крупного рогатого скота относят дикроцелиоз, фасциолёз, диктиокаулез, мониезиоз и стронгилятозы пищеварительного тракта. Максимальную заражённость животных гельминтами отмечают в конце лета и осенью [3, 4].

Лечением животных при гельминтозах стали заниматься с тех пор, как были установлены болезни, вызываемые гельминтами [1].



В ветеринарной практике накоплен большой опыт по использованию антигельминтных препаратов в животноводстве. Имеется несколько классов соединений, оказывающих антигельминтный эффект. Многие из них действуют на узкий круг паразитов, но также существуют средства широкого спектра действия [1, 2].

Для лечения и профилактики гельминтозов животных существует большое число препаратов как отечественного, так и зарубежного производства. С целью повышения эффективности терапии, снижения себестоимости лечения и повышения производительности обработки животных целесообразно применять пролонгированные лекарственные формы препаратов со сроком действия 4–6 мес. К действующим веществам для получения этих препаратов предъявляются такие требования как низкая терапевтическая концентрация в плазме крови, эффективная при парентеральном введении; длительный срок полувыведения, а также желательное наличие активных метаболитов лекарственного вещества.

Таким требованиям отвечают вещества класса авермектинов. В литературе описаны также попытки получения пролонгированной лекарственной формы празиквантела [9].

Создание препаратов пролонгированного действия против паразитарных болезней является одной из основных задач в ветеринарии. В настоящее время имеется огромное число антигельминтиков, используемых в борьбе с гельминтозами. Однако часть из них действуют очень короткое время; после дегельминтизации животные вновь заражаются от неправильного применения препаратов; ко многим из них развивается резистентность. Это указывает на необходимость разработки препаратов пролонгированного действия, которые профилактируют инвазии до 120–180 суток. В связи с этим назрела необходимость проанализировать имеющуюся литературу для разработки препаратов пролонгированного действия.

Ивермектин — первый макроциклический лактон, который был внедрен в клиническую практику [7]. Он обладает широким спектром действия, высокой эффективностью, безопасностью в применении, что сделало его весьма распространённым препаратом в животноводстве [23]. Фармакокинетическое поведение ивермектина зависит от способа введения, состава препарата и вида животного [8]. Ивермектин обладает высокой липофильностью и имеет низкую растворимость в водных растворах, которая колеблется от 0,006 до 0,009 ppm [17]. Это приводит к его значительному депонированию в жировой ткани вне зависимости от способа введения и, как следствие, к медленному высвобождению и достаточно продолжительному присутствию препарата в плазме [16]. Период полувыведения ивермектина из плазмы крови при подкожном введении составляет: для овец 3–7 суток, коров — 5, свиней — 4, лошадей — 6,5, собак — 1,8 суток [8].

Активность ивермектина определяется его высокоспецифичным связыванием с глутамат регулируемые хлорными каналами нервных и мышечных клеток беспозвоночных. Открытие этих каналов приводит к медленному и необратимому увеличению проводимости мембраны, что приводит к параличу соматической мускулатуры. Ивермектин действует как агонист ГАМК-рецепторов, нарушая передачу нервных импульсов за счет системы нейромедиации [22].

Минимальная терапевтическая (антигельминтная) концентрация авермектинов, в том числе ивермектина, составляет 0,5–1 нг/мл [13]. Концентрация ивермектина в плазме, обеспечиваемая такими высокоэффективными препаратами как Ivomec и Ivomec Gold (Merial), составляет от 1 до 8 нг/мл. Эти инъекционные препараты представляют собой 1–3,5%-ные растворы ивермектина в смеси пропиленгликоль/глицеролформаль или других неводных растворителей. Срок действия таких препаратов, обусловленный свойствами ивермектина, составляет до 90 суток и имеет дозозависимый характер (рис. 1) [26].

Празиквантел используется против инвазий, вызванных трематодами и цестодами. Действие празиквантела обусловлено его способностью вызывать очень быстрое увеличение проницаемости мембран для двухвалентных катионов, что приводит к увеличению концентрации ионов кальция в мускулатуре трематод и цестод и вызывает ее паралич. Кроме того, празиквантел приводит к вакуолизации оболочек, что делает паразитов восприимчивыми к действию иммунной системы и пищеварительных ферментов носителя (хозяина) [4].

После перорального введения более 80% дозы празиквантела всасывается, в том числе при совместном приеме с кормом. Пик концентрации в плазме достигается в течение 1–3 ч



после приема. Препарат претерпевает быстрый метаболизм в печени, продукты которого, в том числе, обнаруживаются в спинномозговой жидкости. Период полувыведения празиквантела из плазмы составляет 1–1,5 ч, период полувыведения метаболитов — около 4 ч. Около 80% продуктов метаболизма выводятся с мочой в течение 4 суток, при этом более 90% — в течение первых 24 ч. Празиквантел также обнаруживают в грудном молоке [11].

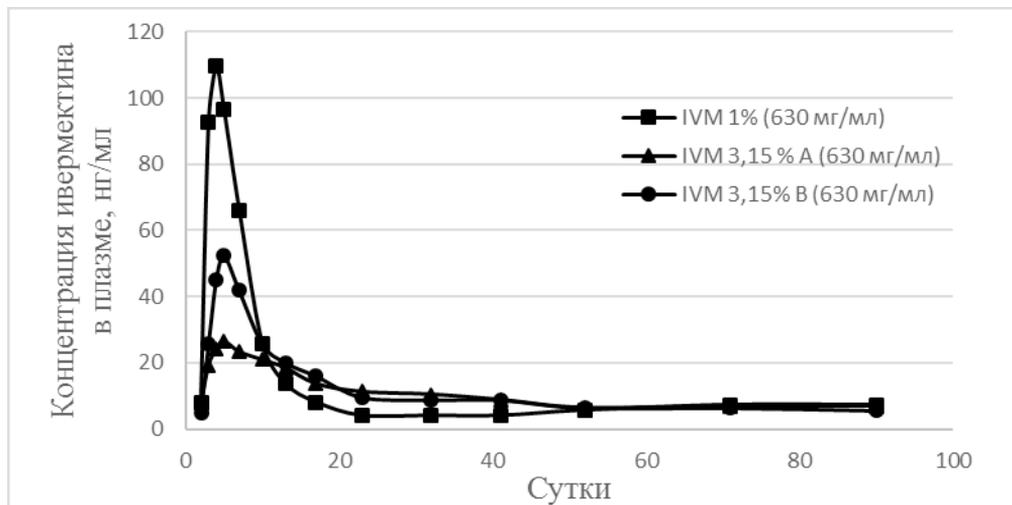


Рис. 1. Средняя концентрация ивермектина в плазме крови после подкожного введения препаратов (IVM)

С целью создания препарата более длительного действия была изучена возможность получения полимерных микросфер, содержащих ивермектин, и in situ формируемых имплантатов [3, 7].

Исследования фармакокинетики ивермектина в виде полимерных микросфер в организме собак (табл. 1) и его эффективности были проведены на примере *Dirofilaria immitis*, паразитирующих в сердце собак [5, 6]. Каждой собаке (6 собак в каждой группе) была сделана однократная инъекция в дозе 0,5 мг/кг.

Таблица 1

Характеристика и фармакокинетические параметры микросфер ивермектин-PLGA в организме собак

Показатель	Образцы микросфер			
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
Содержание ивермектина теор., %	25	35	50	32,5
Содержание ивермектина практ., %	24,3	30,8	46,5	29,6
Средний размер частиц, мкм	91,0	90,0	89,0	90,0
AUC (среднее)	410±118,8 (412,6)	400±98,4 (364,7)	330±67,7 (325,1)	375±106,4 (334,0)
Сmax, нг/мл (среднее)	8,4±3,57 (6,87)	7,2±4,44 (5,85)	3,9±1,33 (3,41)	3,4±1,27 (2,78)
Tmax, сут.ок(среднее)	228±33,2 (214)	174±87,6 (214)	1±0 (1)	169±99,0 (193)

Примечание. Сmax — максимальная концентрация в плазме; Tmax — время достижения максимальной концентрации; AUC — площадь под кривой концентрация в плазме-время.

Установлена 100%-ная эффективность образцов T_1 , T_2 , T_3 и T_4 против *D. immitis* на 121 и 170-е сутки после однократной инъекции микросфер.

По результатам изучения фармакокинетики для дальнейших исследований наиболее перспективны микросферы T_3 и T_4 , которые обеспечивают равномерный профиль концентрации ивермектина в плазме животных — около 1–2 нг/мл.

Впоследствии, была показана возможность получения полимерных микросфер с ивермектином на основе других полимеров — полимолочной кислоты и поликапролактона. Также были изучены возможность их радиационной стерилизации и влияние состава и условий получения на свойства микросфер и кинетику высвобождения ивермектина в условиях *in vitro* [15]. Однако фармакокинетика и терапевтическая эффективность таких форм ивермектина для борьбы с экто- и эндопаразитами требуют дополнительного изучения.

Исследования по получению *in situ* формируемых имплантатов, содержащих ивермектин, ограничиваются изучением влияния биосовместимых растворителей с различными физико-химическими свойствами на высвобождение (*in vitro*) ивермектина из имплантатов данного типа [12]. В качестве растворителей были выбраны N-метилпирролидон, пирролидон, триацетин и бензилбензоат [21, 27]. Было показано, что основными факторами, влияющими на скорость процесса высвобождения, являются смешиваемость растворителя с водой и вязкость растворов [20].

Кроме того, было показано, что применение смесевых растворителей позволяет регулировать скорость высвобождения в начальный момент времени, не изменяя содержания полимера и ивермектина.

С целью увеличения пролонгированного действия ивермектина предложен состав смесевого композита на основе SAIB (сахарозы ацетат изобутират) и полимолочной кислоты для получения имплантируемой системы доставки [24]. Состав, состоящий из 4 г ивермектина, 15 мл NMP, 5 г полимолочной кислоты и SAIB до 100 мл, обеспечил пролонгированное высвобождение лекарственного вещества в течение 80 суток.

Описанные подходы к созданию препарата в форме *in situ* формируемого имплантата были с успехом использованы при разработке препарата Longrange (Meril) на основе эприномектина — структурного аналога ивермектина [19]. Препарат состоит из 50 мг эприномектина, 270 мл N-метилпирролидона, 630 мл триацетина, 50 мг PLGA и 0,2 мг/мл ионола.

Препарат Longrange обеспечивает концентрацию эприномектина в плазме крови животного на уровне не менее 1 нг/мл в течение 150 суток.

Единственной пролонгированной парентеральной формой празиквантела, описанной в литературе, является имплантат на основе поликапролактона (ПКЛ) и его смеси с полиэтиленгликолем (ПЭГ) [9]. Такие имплантаты, содержащие празиквантел, получали экстрадированием расплава смеси празиквантела и полимеров.

Исследования кинетики высвобождения празиквантела из полученных имплантатов показали, что оно происходит в две стадии: быструю и медленную. В первые 1–2 суток наблюдается высвобождение с высокой скоростью от 5 до 35 мг/сут, затем скорость значительно падает, что делает мало вероятным достижение терапевтической концентрации празиквантела при использовании имплантатов на основе ПКЛ [18]. Такую особенность кинетики высвобождения связывают с высокой гидрофобностью поликапролактона.

В дальнейшем, в состав имплантатов был включен полиэтиленгликоль ПЭГ (табл. 2), что привело к увеличению скорости высвобождения празиквантела в условиях проведения теста высвобождения *in vitro* [9].

Результаты изучения фармакокинетики празиквантела на крысах (*in vivo*) показали их сходство с результатами *in vitro* по характеру кривой, при этом длительность высвобождения празиквантела достигала 80–90% в течение 40–45 суток, а результаты *in vivo* и *in vitro* различались в 1,2–2 раза. Количество высвобожденного празиквантела (*in vivo*) определяли на основе анализа имплантатов, извлеченных в соответствующие моменты времени. Концентрация празиквантела в плазме крови животных изменялась в пределах 300–700 нг/мл (рис. 2) [9].

Таким образом, на основании исследований, которые показали, что минимальная эффективная концентрация празиквантела равна 100 нг/мл, можно заключить, что описанные имплантаты будут обладать выраженным антипаразитарным действием [10, 18].

Таблица 2

Состав и свойства имплантатов на основе ПКЛ

Обозначение имплантата	Соотношение празиквантел/ ПЭГ/ПКЛ	Масса, мг	Высвобождение празиквантела in vitro, %/сут	Высвобождение празиквантела in vivo, %/сут
F1	50/0/50	210	100/30	–
F2	50/5/45	210	90/60	–
F3	50/10/40	210	90/70	–
F4	50/20/30	210	80/70	80/45
F5	50/30/20	210	80/85	–

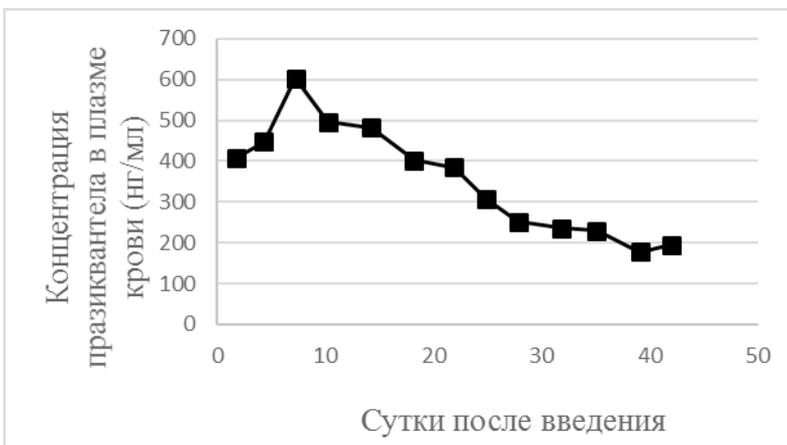


Рис. 2. Изменение концентрации празиквантела в плазме крови (крысы массой 350 г, Введение празиквантела из расчета 105 мг/350 г)

Терапевтическое действие разработанных имплантатов было показано в эксперименте на мышах, инвазированных *S. japonicum*, с различным временем введения имплантата — от 0 до 6 недель с момента заражения, что показало эффективность на различных стадиях развития паразитов [10].

Результаты изучения фармакокинетики празиквантела, полученные при исследовании на мышах, аналогичны результатам, полученным на крысах [9].

Заключение

Приведенные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности создания пролонгированных препаратов празиквантела в форме имплантатов, однако, достаточно высокая терапевтическая концентрация (более 100 нг/мл) и относительно высокая скорость полувыведения (около 1,5 ч) могут затруднить создание препарата с продолжительностью действия более 1–2 мес и потребуют весьма высокого содержания активного вещества в препарате. Так, для создания концентрации 300 нг/мл в крови крыс в течение 40 суток требуется имплантация 105 мг празиквантела, что дает основание полагать, что для создания минимальной терапевтической концентрации 100 нг/мл в крови собак массой 20 кг потребуются имплантация не менее 6000 мг празиквантела, что эквивалентно 60 имплантатам описанного состава. Очевидно, что введение такого числа имплантатов невозможно на практике. Также следует отметить, что приведенные исследования не дают возможность оценить вторичное депонирование празиквантела после высвобождения его



из имплантата, что могло бы дать более точную картину по фармакокинетике и времени действия препарата в форме имплантата.

В настоящее время отсутствуют пролонгированные лекарственные формы для инъекционного введения, содержащие два активных компонента — ивермектин и празиквантел. В ряде патентных источников [14, 25] в описательной части упоминается возможность реализации изобретения в форме комбинированного препарата. Однако, в виду отсутствия примеров и более детальной информации по реализации изобретения и способе его применения можно заключить, что данная комбинация включена в текст только для защитных целей.

Литература

1. Архипов И.А. Антигельминтики: фармакология и применение. — М., 2009. — 404 с.
2. Демидов Н.В. Антигельминтики в ветеринарии. — М: Колос, 1982. — 367 с.
3. Муромцев А.Б., Рыжов В.В. Экология гельминтов крупного рогатого скота в Калининградской области // Известия КГТУ. — 2012. — № 27. — С. 206–212.
4. Шульц Р.С., Диков Г.И. Гельминтозы овец и меры борьбы с ними. — 1965. — 256 с.
5. Camargo J.A., Sapin A., Daloz D., Maincent P. Ivermectin-loaded microparticles for parenteral sustained release: in vitro characterization and effect of some formulation variables. *Journal of Microencapsulation*, 2010, Vol. 27, No 7, pp. 609–617.
6. Camargo J.A., Sapin A., Nouvel C. et al. Injectable PLA-based in situ forming implants for controlled release of Ivermectin a BCS Class II drug: solvent selection based on physico-chemical characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2013, Vol. 39, No 1, pp. 146–155.
7. Campbell W.C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Current pharmaceutical biotechnology*, 2012, Vol. 13, No 6, pp. 853–865.
8. Campbell W.C., Benz G.W. Ivermectin: a review of efficacy and safety. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1984, Vol. 7, No 1, pp. 1–16.
9. Cheng L., Guo S., Wu W. Characterization and in vitro release of praziquantel from poly(ϵ -caprolactone) implants. *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, Vol. 377, pp. 112–119.
10. Cheng L., Lei L., Guo S. et al. *Schistosoma japonicum*: treatment of different developmental stages in mice with long-acting praziquantel implants. *Exp. Parasitol.*, 2011, Vol. 129, No 3, pp. 254–259.
11. Cioli D., Pica-Mattocchia L. Praziquantel. *J. Parasitol. Res.*, 2003, Vol. 90, pp. 3–9.
12. Clark S.L., Crowley A.J., Schmidt P.G. et al. Long-term delivery of ivermectin by use of poly(D,L-lactic-co-glycolic)acid microparticles in dogs. *AJVR*, 2004, Vol. 65, No 6, pp. 752–757
13. Cocquyt C.M. et al. Pharmacokinetics of moxidectin in alpacas following administration of an oral or subcutaneous formulation. *Research in veterinary science*, 2016, Vol. 105, pp. 160–164.
14. Corgozinho C.N. C. et al. Long Acting Injectable Formulations: заяв. пат. 12/739,300 США. — 2008.
15. Dorati R., Genta I., Colzani B. et al. Preliminary investigation on the design of biodegradable microparticles for ivermectin delivery: set up of formulation parameters. *Drug Dev Ind Pharm.*, 2015, Vol. 41, No 7, pp. 1182–1192.
16. El-Banna H.A., Goudah A., El-Zorba H. et al. Comparative pharmacokinetics of ivermectin alone and a novel formulation of ivermectin and rafoxanide in calves and sheep. *Parasitol. Res.*, 2008, Vol. 102, pp. 1337–1342.
17. Fink D., Porras A., Campbell W. C. Pharmacokinetics of ivermectin in experimentally infected cattle. In: *Ivermectin and Abamectin*. Springer-Verlag, New York, 1989, pp. 90–113.
18. Fogang Y.F. et al. Managing neurocysticercosis: challenges and solutions. *International Journal of General Medicine*, 2015, Vol. 8, p. 333.
19. Hunter J. S., Yoon S., Yazwinski T. A. et al. The efficacy of eprinomectin extended-release injection against naturally acquired nematode parasites of cattle, with special regard to inhibited fourth-stage *Ostertagia* larvae. *Vet. Parasitol.*, 2013, Vol. 192, No 4, pp. 346–352.
20. Islam S. Lipophilic and hydrophilic drug loaded PLA/PLGA in situ implants. *Int. J. of Pharm. and Pharm. Sci.*, 2011, Vol. 3, No 3, pp. 181–188.
21. Madhu M., Shaila L., Anwar B. J. Biodegradable injectable implant systems for sustained delivery using poly (lactide-co-glycolide) copolymers. *Int. J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 2009, Vol. 1, No 1, pp. 103–107.
22. Moreno L. et al. Ivermectin Pharmacokinetics, Metabolism and Tissue/Egg Residue Profiles in Laying Hens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2015, Vol. 63, No 47, pp. 10327–10332.
23. Ōmura S., Crump A. Ivermectin: panacea for resource-poor communities? *Trends in parasitology*, 2014, Vol. 30, No 9, pp. 445–455.
24. Rehbein S., Baggott D. G., Johnson E. G. et al. Nematode burdens of pastured cattle treated once at turnout with eprinomectin extended-release injection. *Vet Parasitol.*, 2013, Vol. 192, No 4, pp. 321–331.
25. Soll M.D. et al. Long acting injectable formulations: пат. 8362086 США. — 2013.



26. Steven L.C., Angela J. C., Paul G. S. et al. Long-term delivery of ivermectin by use of poly(D,L-lactic-co-glycolic)acid microparticles in dogs. *AJVR*, 2004, Vol. 65, No 6, pp. 752–757.

27. Yapar A., Baykara T., Ari N. Investigation of in vitro and in vivo performance of injectable in situ implants. *Turk J. Pharm. Sci.*, 2010, Vol. 7, No 1, pp. 9–20.

References

1. Arhipov I.A. Antigel'mintiki: farmakologiya i primenenie. M., 2009. — 404 s.
2. Demidov N.V. Antigel'mintiki v veterinarii. M: Kolos, 1982. — 367 s.
3. Muromcev A.B., Ryzhov V.V. Ekologiya gel'mintov krupnogo rogatogo skota v kaliningradskoj oblasti. *Izvestiya KGTU*, 2012, № 27, S. 206–212.
4. Shul'c R.S., Dikov G.I. Gel'mintozy ovec i mery bor'by s nimi. 1965, 256 s.
5. Camargo J.A., Sapin A., Daloz D., Maincent P. Ivermectin-loaded microparticles for parenteral sustained release: in vitro characterization and effect of some formulation variables. *Journal of Microencapsulation*, 2010, Vol. 27, No 7, pp. 609–617.
6. Camargo J.A., Sapin A., Nouvel C. et al. Injectable PLA-based in situ forming implants for controlled release of Ivermectin a BCS Class II drug: solvent selection based on physico-chemical characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2013, Vol. 39, No 1, pp. 146–155.
7. Campbell W.C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasiticagents. *Current pharmaceutical biotechnology*, 2012, Vol. 13, No 6, pp. 853–865.
8. Campbell W.C., Benz G.W. Ivermectin: a review of efficacy and safety. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1984, Vol. 7, No 1, pp. 1–16.
9. Cheng L., Guo S., Wu W. Characterization and in vitro release of praziquantel from poly(ϵ -caprolactone) implants. *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, Vol. 377, pp. 112–119.
10. Cheng L., Lei L., Guo S. et al. *Schistosoma japonicum*: treatment of different developmental stages in mice with long-acting praziquantel implants. *Exp. Parasitol.*, 2011, Vol. 129, No 3, pp. 254–259.
11. Cioli D., Pica-Mattocchia L. Praziquantel. *J. Parasitol. Res.*, 2003, Vol. 90, pp. 3–9.
12. Clark S.L., Crowley A.J., Schmidt P.G. et al. Long-term delivery of ivermectin by use of poly(D,L-lactic-co-glycolic)acid microparticles in dogs. *AJVR*, 2004, Vol. 65, No 6, pp. 752–757
13. Cocquyt C.M. et al. Pharmacokinetics of moxidectin in alpacas following administration of an oral or subcutaneous formulation. *Research in veterinary science*, 2016, Vol. 105, pp. 160–164.
14. Corgozinho C.N. C. et al. Long Acting Injectable Formulations: заяв. пат. 12/739,300 США. — 2008.
15. Dorati R., Genta I., Colzani B. et al. Preliminary investigation on the design of biodegradable microparticles for ivermectin delivery: set up of formulation parameters. *Drug Dev Ind Pharm.*, 2015, Vol. 41, No 7, pp. 1182–1192.
16. El-Banna H.A., Goudah A., El-Zorba H. et al. Comparative pharmacokinetics of ivermectin alone and a novel formulation of ivermectin and rafoxanide in calves and sheep. *Parasitol. Res.*, 2008, Vol. 102, pp. 1337–1342.
17. Fink D., Porras A., Campbell W. C. Pharmacokinetics of ivermectin in experimentally infected cattle. In: *Ivermectin and Abamectin*. Springer-Verlag, New York, 1989, pp. 90–113.
18. Fogang Y.F. et al. Managing neurocysticercosis: challenges and solutions. *International Journal of General Medicine*, 2015, Vol. 8, p. 333.
19. Hunter J.S., Yoon S., Yazwinski T.A. et al. The efficacy of eprinomectin extended-release injection against naturally acquired nematode parasites of cattle, with special regard to inhibited fourth-stage *Ostertagia* larvae. *Vet. Parasitol.*, 2013, Vol. 192, No 4, pp. 346–352.
20. Islam S. Lipophilic and hydrophilic drug loaded PLA/PLGA in situ implants. *Int. J. of Pharm. and Pharm. Sci.*, 2011, Vol. 3, No 3, pp. 181–188.
21. Madhu M., Shaila L., Anwar B. J. Biodegradable injectable implant systems for sustained delivery using poly (lactide-co-glycolide) copolymers. *Int. J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 2009, Vol. 1, No 1, pp. 103–107.
22. Moreno L. et al. Ivermectin Pharmacokinetics, Metabolism and Tissue/Egg Residue Profiles in Laying Hens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2015, Vol. 63, No 47, pp. 10327–10332.
23. Ōmura S., Crump A. Ivermectin: panacea for resource-poor communities? *Trends in parasitology*, 2014, Vol. 30, No 9, pp. 445–455.
24. Rehbein S., Baggott D. G., Johnson E. G. et al. Nematode burdens of pastured cattle treated once at turnout with eprinomectin extended-release injection. *Vet Parasitol.*, 2013, Vol. 192, No 4, pp. 321–331.
25. Soll M.D. et al. Long acting injectable formulations: пат. 8362086 США. — 2013.
26. Steven L.C., Angela J.C., Paul G.S. et al. Long-term delivery of ivermectin by use of poly(D,L-lactic-co-glycolic)acid microparticles in dogs. *AJVR*, 2004, Vol. 65, No 6, pp. 752–757.
27. Yapar A., Baykara T., Ari N. Investigation of in vitro and in vivo performance of injectable in situ implants. *Turk J. Pharm. Sci.*, 2010, Vol. 7, No 1, pp. 9–20.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23080

Received 09.09.2016

Accepted 28.11.2016

PROLONGED FORMS OF ANTHELMINTIC DRUGS

Suslov V.V.¹, Engasheva E.S.², Kedik S.A.¹, Shnyak E.A.¹, Maximova P.O.³

¹MITHT named M.V. Lomonosov, 119571, Russia, Moscow, Vernadsky Prospekt, 86

²GNU VNIIVSGE, 123022, Russia, Moscow, Zvenigorodskoe Highway, 5, e-mail: kengasheva@vetmag.ru

³Moscow Technological University (MITHT), Chair of GTyPF, 119571, Russia, Moscow, Prospekt Vernadskogo, 86

Abstract

Purpose of the research — to conduct analysis of the status and perspective of application of prolonged forms of anthelmintic drugs in veterinary.

Materials and methods. On the topic of development and application of prolonged forms of anthelmintic in veterinary was conducted the analysis of 27 literature sources including 23 foreign authors. Were analyzed the data about kinetics of avermectins and praziquantel in the animals body and comparative results about dependence and correlation of pharmacokinetic parameters with their anthelmintics efficiency.

The results and discussion. Prolonged forms of avermectins which prevent the infections for long period are developing to prevent infection of animals during grazing season. Attempts to create prolonged dosage forms of praziquantel to prevent the *Schistosoma japonicum* infections are currently in progress. Was shown the possibility of obtaining polymeric microspheres, which contains ivermectins in the form of implants. As solvents are used N-methylpyrrolidone, triacetin, benzyl benzoate etc. Mixes of composite based on sucrose, acetate isobutyrate and polylactic acid is offered for prolongation of the action of ivermectin, which is provides release of ivermectin within 80 days. Were described prolonged forms of praziquantel as the implants on a base of polycaprolactone and it's mix with polyethylene glycol, which is obtained by extrusion of a melt of a mixture of praziquantel and polymers.

Keywords: ivermectins, praziquantel, prolonged forms, implants, kinetics, efficiency, helminthosis.

© 2016 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 (CA-BI.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 10.04.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:615.015.4
DOI: 10.12737/23081

Для цитирования:

Арисов М.В., Гламаздин И.Г., Дёмин А.И., Артемов В.В. Исследование переносимости комплексного противопаразитарного препарата «Инспектор ошейник» // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 547–553

For citation:

Arisov M.V., Glamazdin I.G., Dyomin A.I., Artemov V.V. Tolerability research of complex antiparasitic preparation «Inspector collar». Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 547–553

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕНΟΣИМОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ПРОТИВОПАРАЗИТАРНОГО ПРЕПАРАТА «ИНСПЕКТОР ОШЕЙНИК»

Арисов М.В.¹, Гламаздин И.Г.², Дёмин А.И.², Артемов В.В.³

¹Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Большая Черемушкинская, 28, email: arisov_vet@mail.ru

²Московский государственный университет пищевых производств, 125080 Москва, Волоколамское шоссе, 11, e-mail: tyomabullet@yandex.ru

³Ветеринарный приют «Баню Эко», Москва

Реферат

Цель исследований — изучить переносимость препарата «Инспектор ошейник» на основе фипронила, пирипроксифена и ивермектина на собаках и кошках в терапевтической и двукратно увеличенной терапевтической дозах.

Материалы и методы. Исследования проводили в приюте для собак и кошек «Баню Эко» (Москва). Влияние препарата на организм изучали на 15 клинически здоровых беспородных собаках 2–6-летнего возраста массой тела 10–14 кг и на 15 клинически здоровых беспородных кошках 2–4-летнего возраста массой тела 2–3,5 кг, содержащихся на стандартном полнорационном кормлении. Животных по принципу аналогов разделили на шесть групп (три группы собак и три группы кошек) по пять животных в каждой. Собакам и кошкам первой опытной группы надевали один ошейник (что соответствует терапевтической дозе препарата) на срок 45 суток. Второй опытной группе надевали два ошейника (двукратно увеличенная терапевтическая доза) на 45 суток. Третьей группе (контрольной) ошейник не надевали. В течение опыта за животными вели ежедневное наблюдение, отмечая их общее состояние, поведение, аппетит, контролировали их массу, температуру тела. До начала опыта, а также через 15 и 30 суток после начала применения препарата брали кровь и мочу для исследования морфологических и биохимических показателей. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Препарат «Инспектор ошейник» обладает хорошей переносимостью даже в двукратно увеличенной терапевтической дозе. Все наблюдаемые показатели оставались в пределах физиологической нормы.

Ключевые слова: инспектор ошейник, собаки, кошки, переносимость, ивермектин, пирипроксифен, фипронил, гематология, биохимия.

Введение

В мире ежегодно разрабатывается и выходит на рынок огромное число комплексных противопаразитарных препаратов, однако процент домашних животных, больных парази-



тозами, по-прежнему остается высоким. Это связано с целым рядом причин: рост числа как домашних, так и бродячих животных; приобретение паразитами резистентности к лекарственным препаратам; смешанные инвазии; ухудшение условий окружающей среды (особенно в крупных городах); недостаточный уровень ветеринарного контроля.

В связи с этим, разработка новых комплексных противопаразитарных препаратов в разных лекарственных формах является одной из самых актуальных задач современной ветеринарной медицины.

В ветеринарной практике для лечения домашних животных при паразитозах широко применяют ветеринарные препараты в виде полимерной ленты с действующими веществами, так называемые ошейники. Исследования препаратов в форме ошейников показали, что эффективность этих форм препаратов достигается при ношении животными ошейника продолжительное время, при этом действующие вещества постепенно выделяясь, переходят с полимера на шерстный покров животных. Особенностью препаратов в форме ошейников является то, что даже при ношении на ограниченной поверхности тела погибают все эктопаразиты [1, 2].

На базе ЗАО «Научно-производственная фирма «Экопром» с участием Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина разработан комплексный препарат в виде полимерной ленты «Инспектор ошейник», в состав которого входят фипронил (5,0%), пирипроксифен (2,0%) и ивермектин (1,2%).

Фипронил — инсектицид из группы фенилпиразолов. Способствует нарушению нормального функционирования центральной нервной системы у биологической мишени, блокируя лигандзависимые хлоридные каналы, регулирующие прохождение нервных импульсов. Применение фипронила обусловлено его контактным и кишечным действием в отношении взрослых особей различных видов насекомых (блох, вшей, власоедов), чесоточных и ушных клещей. При попадании на поверхность тела животного продолжительное время локализуется в сальных железах дермального слоя, не попадая в системный кровоток. Равномерное распределение вещества по всей поверхности кожи и шерсти осуществляется с помощью секрета сальных желез. Одно из неоспоримых качеств фипронила — отсроченное высвобождение (распределяется по поверхности тела животного приблизительно в течение 24 ч), что обуславливает увеличение времени активного действия препарата.

Пирипроксифен — аналог ювенильного гормона насекомых; подавляет эмбриогенез и нарушает нормальный цикл метаморфоза насекомых (яйцо–личинка–куколка–взрослая особь); нарушает процессы синтеза хитина и линьки личинок, препятствует развитию полноценных куколок и вызывает гибель насекомых на преимагинальных стадиях развития, обеспечивая прекращение воспроизводства популяции эктопаразитов.

Ивермектин обладает выраженным противопаразитарным действием на личинки подкожных, носоглоточных, желудочных оводов, вшей, кровососок и саркоптоидных клещей; усиливает выработку нейромедиатора торможения гамма-аминомасляной кислоты, что приводит к нарушению передачи нервных импульсов, параличу и гибели паразита. После нанесения на кожно-волосистой покров ивермектин попадает в кровоток через кожу и распределяется в органах и тканях, обеспечивая паразитоцидное действие.

При разработке и изучении ветеринарного препарата необходимо исследовать реакции, возникающие в организме животных под влиянием изучаемого лекарственного средства. Целесообразность передачи нового препарата в практику, а также возможные области его применения могут быть полностью выяснены только в результате количественной и качественной оценки разных сторон его фармако-токсикологических эффектов. Одна из основных задач, возникающих при изучении действия препарата — выявление побочных нежелательных эффектов и исключение отдаленного действия на животных и человека [3].

Целью нашей работы было изучение переносимости препарата «Инспектор ошейник» на собаках и кошках в терапевтической и двукратно увеличенной терапевтической дозах.

Материалы и методы

Исследования проводили в приюте для собак и кошек «Бано Эко» (Москва). Влияние препарата на организм изучали на 15 клинически здоровых беспородных собаках 2–6-лет-



него возраста массой тела 10–14 кг и на 15 клинически здоровых беспородных кошках 2–4-летнего возраста массой тела 2–3,5 кг, содержащихся на стандартном полнорационном кормлении. Животных по принципу аналогов разделили на шесть групп (три группы собак и три группы кошек) по 5 животных в каждой.

Собакам и кошкам первой опытной группы надевали один ошейник (что соответствует терапевтической дозе препарата) на срок 45 суток. Второй опытной группе надевали два ошейника (двукратно увеличенная терапевтическая доза) на 45 суток. Третьей группе (контрольной) ошейник не надевали. Все исследования проводились в течение 45 суток.

Ошейник представляет собой полимерную ленту коричневого цвета с фиксатором, со слабым специфическим запахом. Длина ошейника для крупных собак составляет 75 см, для средних собак — 65 см, для мелких собак и щенков — 40 см, для кошек — 40 см.

Животные, отобранные для эксперимента, были клинически здоровы, содержались в благоприятных условиях; их ежедневный рацион состоял из полноценного корма, рассчитанного по рецептуре фирмы-изготовителя и обеспечивающего поддержание нормального физиологического состояния. Кормление осуществляли два раза в сутки. Количество воды, потребляемое животными, не ограничивали.

В течение опыта за животными вели ежедневное наблюдение, отмечая их общее состояние, поведение, аппетит, контролировали их вес, температуру тела.

До начала опыта, а также через 15 и 30 суток после начала применения препарата брали кровь и мочу для исследования морфологических и биохимических показателей.

Подсчет форменных элементов крови проводили на автоматическом счетчике «Пикоскель» (ВР), уровень гемоглобина определяли гемиглобицианидным методом, СОЭ — по Панченкову, активность щелочной фосфатазы — с помощью наборов фирмы «Лабсистем» (Финляндия), активность аланинаминотрансферазы — с использованием наборов фирмы «Коне» (Финляндия), аспаратаминотрансферазы — с помощью набора фирмы «Reanal» (Венгрия), общий белок — рефрактометрически, мочевины — энзиматическим методом с уреазой, общий билирубин — фотометрическим методом, креатинин — по методу Поппера.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента (программа Microsoft Excel «Student-200»).

Результаты и обсуждение

Было установлено, что общее состояние собак и кошек опытных групп существенно не отличалось от состояния животных контрольных групп: все они находились в удовлетворительном состоянии, были подвижны, активны, охотно принимали корм и пили воду, отклонений физиологических функций не отмечали.

Статистически достоверных изменений массы тела собак и кошек в первой и второй подопытных группах и контрольной в течение 30 суток эксперимента, а также при контроле на 45-е сутки от начала исследования не установлено. За время проведения эксперимента по изучению переносимости препарата достоверного снижения массы тела у животных не зафиксировано.

Достоверного изменения температуры тела у животных в период опыта не отмечено ни у опытных, ни у контрольных групп.

Гематологические показатели животных до и после применения ошейника приведены в таблице 1.

Данные, приведенные в таблице 1 свидетельствуют о том, что количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина и скорость оседания эритроцитов у собак и кошек опытных и контрольных групп находились в пределах физиологической нормы, как до начала опыта, так и на 30 и 45-е сутки после начала ношения ошейника, что говорит об отсутствии отрицательного влияния препарата на организм, в том числе на кроветворную систему.

Результаты исследования ряда биохимических показателей сыворотки крови собак и кошек опытных и контрольных групп приведены в таблице 2.

Исследуемые биохимические показатели (активность щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, уровень общего белка, мочевины, общего билирубина, а также креатинина) сыворотки крови у животных опытной и контрольной

Таблица 1

Гематологические показатели собак и кошек до и после применения препарата «Инспектор ошейник»

Срок исследования, сутки	Эритроциты, $10^{12}/л$		Лейкоциты, $10^9/л$		Гемоглобин, г/л		СОЭ, мм/час по Панченкову	
	собаки	кошки	собаки	кошки	собаки	кошки	собаки	кошки
<i>Опытная группа 1</i>								
0	6,5±0,21	6,5±0,44	10,3±0,37	11,1±0,78	144,9±6,10	120,8±3,40	2,4±0,24	4,8±0,37
30	6,4±0,22	6,6±0,36	10,0±0,27	11,6±0,61	140,7±5,73	123,3±5,55	2,4±0,24	4,6±0,24
45	6,7±0,15	6,6±0,41	10,4±0,45	11,9±0,75	141,4±7,56	122,5±7,23	2,8±0,37	4,8±0,20
<i>Опытная группа 2</i>								
0	6,8±0,26	6,4±0,46	11,2±0,45	12,3±0,79	144,1±4,66	119,2±6,81	3,4±0,51	3,8±0,20
30	6,9±0,27	6,3±0,28	11,4±0,36	12,8±0,59	148,3±6,91	123,1±5,22	3,2±0,37	3,6±0,40
45	6,9±0,33	6,6±0,32	11,4±0,55	12,6±0,69	148,1±5,03	122,5±3,46	3,2±0,37	3,4±0,40
<i>Контрольная группа</i>								
0	6,4±0,28	6,6±0,44	9,9±0,73	10,9±0,91	150,7±7,02	115,5±4,86	2,0±0,32	3,0±0,32
30	6,4±0,27	6,7±0,32	10,2±0,58	10,7±0,91	149,0±6,66	116,5±3,30	2,2±0,37	3,8±0,37
45	6,3±0,27	6,9±0,21	10,1±0,39	11,3±0,77	147,1±6,58	121,2±3,84	2,4±0,51	3,4±0,51



Таблица 2

Биохимические показатели сыворотки крови собак и кошек

Срок исследования, сутки	Щелочная фосфатаза, ЕД/л		Аспартатаминотрансфераза, ЕД/л		Аланинаминотрансфераза, ЕД/л		Мочевина, ммоль/л		Общий билирубин, ммоль/л		Креатинин, мкмоль/л		Общий белок, г/л	
	собаки	кошки	собаки	кошки	собаки	кошки	собаки	кошки	собаки	кошки	собаки	кошки	собаки	кошки
<i>Опытная группа 1</i>														
0	33,2 ±4,97	45,3 ±2,88	21,8 ±3,62	13,3 ±1,70	31,4 ±4,74	39,1 ±5,73	6,0 ±0,70	7,8 ±0,57	5,1 ±0,88	7,0 ±0,65	66,2 ±11,08	114,1 ±6,52	63,5 ±1,77	60,7 ±1,61
30-е	34,7 ±4,57	43,2 ±3,29	22,5 ±4,02	13,8 ±1,81	30,4 ±4,07	38,3 ±5,46	5,8 ±0,60	7,9 ±0,43	5,4 ±1,00	7,1 ±0,67	69,2 ±11,07	117,0 ±6,90	64,2 ±2,57	63,3 ±2,22
45-е	34,5 ±4,62	43,4 ±3,82	23,1 ±4,01	13,9 ±1,41	30,0 ±4,34	38,0 ±5,47	5,5 ±0,81	8,1 ±0,59	5,0 ±0,84	7,5 ±0,71	71,6 ±11,34	119,0 ±5,85	64,5 ±2,59	61,8 ±1,86
<i>Опытная группа 2</i>														
0	25,5 ±2,37	45,3 ±3,47	26,0 ±2,05	15,7 ±2,07	30,6 ±4,89	34,1 ±4,13	5,2 ±0,47	8,2 ±0,62	5,3 ±0,73	5,9 ±0,96	68,9 ±5,47	124,7 ±5,92	64,1 ±2,59	63,2 ±3,18
30-е	26,5 ±2,71	44,0 ±3,66	24,9 ±1,88	15,3 ±2,30	29,6 ±4,50	34,7 ±4,19	5,4 ±0,41	8,0 ±0,64	5,7 ±0,62	6,1 ±0,74	66,7 ±5,62	126,2 ±5,81	64,7 ±1,90	63,5 ±1,94
45-е	24,2 ±2,28	44,5 ±3,66	25,2 ±2,00	15,2 ±2,40	29,0 ±4,55	35,2 ±4,63	5,3 ±0,43	8,0 ±0,64	5,5 ±0,79	5,4 ±0,90	67,7 ±4,96	123,0 ±6,92	66,1 ±1,83	63,6 ±1,72
<i>Контрольная группа</i>														
0	26,9 ±4,86	46,1 ±4,40	31,3 ±4,87	16,4 ±2,30	31,3 ±4,87	41,5 ±2,76	5,8 ±0,62	7,5 ±0,57	6,9 ±0,90	6,9 ±0,79	79,1 ±7,05	109,4 ±6,41	66,0 ±2,02	62,7 ±1,63
30-е	27,5 ±3,72	47,2 ±4,15	32,0 ±4,70	17,2 ±2,30	32,0 ±4,70	40,7 ±2,48	5,6 ±0,62	7,7 ±0,69	6,4 ±0,90	6,7 ±0,74	81,2 ±7,24	107,6 ±6,39	65,4 ±2,03	63,4 ±1,89
45-е	25,7 ±3,88	47,5 ±4,36	30,6 ±5,07	15,9 ±1,92	30,6 ±5,07	40,8 ±2,62	5,6 ±0,48	8,0 ±0,71	6,3 ±0,75	6,7 ±0,68	81,5 ±6,82	107,8 ±7,24	64,9 ±2,66	64,5 ±1,67



групп достоверно не отличались и находились в пределах физиологической нормы до и после опыта.

Лейкограмма крови у животных в опытных и контрольных группах не изменялась, процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов находилось в пределах физиологической нормы до и после применения препарата.

Таким образом, исследуемый ошейник не влияет на показатели лейкоцитарной формулы крови собак.

По результатам исследования урологических показателей животных у всех собак и кошек до опыта и после моча была светло-желтого цвета, специфического запаха, прозрачная, водянистой консистенции, слабо кислой реакции. При микроскопии мочи — эритроциты отсутствовали, число лейкоцитов — 1-2 в поле зрения.

Таким образом, проведенные исследования показали, что препарат «Инспектор ошейник» при ежедневном ношении собаками и кошками в рекомендуемой терапевтической и двукратно увеличенной терапевтической дозах в течение 45 суток не оказывает отрицательного влияния на общее состояние животных, их физиологический статус и поведение, а также не влияет на гематологические и урологические показатели.

Литература

1. Арисов М.В., Данилевская Н.В., Катаева Т.С. «РольфКлуб 3D» капли, спрей, ошейники — эффективные препараты против эктопаразитозов собак и кошек // Матер. 4-й Междунар. вет. дерматол. симп. VetPharma научно-практический журнал. — Санкт-Петербург, 2015. — № 2 (24). — С. 38–44.
2. Арисов М.В., Индюхова Е.Н. Клиническое исследование инсектоакарицидной активности «РольфКлуб 3D ошейника для собак» // Научно-практический журнал «Ветеринария, зоотехния и биотехнология». — Москва, 2014. — № 8. — С. 56–59.
3. Степанов А.А., Арисов М.В. Токсикологическая оценка инсектоакарицидного препарата инсакар при арахноэнтомозах плотоядных животных // Российский паразитологический журнал. — М., 2012. — № 1. — С. 98–103.

References

1. Arisov M.V., Danilevskaya N.V., Kataeva T.S. «RolfClub 3D» drops, spray, collars — effective remedies against ectoparasites in dogs and cats. *Mater. 4-y Mezhdunar. vet. dermatol. simp. VetPharma nauchno-prakticheskiy zhurnal*. [Proc. of the Fourth Int. Vet. Derm. Symp. VetPharma Sci. J. Spb., 2015, no. 2 (24), pp. 38–44.
2. Arisov M.V., Indyukhova E.N. Clinical research of insecticidal and acaricidal activities of «RolfClub 3D collars for dogs». *Nauchno-prakticheskiy zhurnal «Veterinariya, zootehniya i biotekhnologiya»* [Sci. J. «Veterinary, zootechnics and biotechnology»], M., 2014, no. 8, pp. 56–59.
3. Stepanov A.A., Arisov M.V. Toxicological evaluation of insecticidal and acaricidal drug Insacar for arachnoentomoses of carnivores. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2012, no.1, pp. 98–103.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23081

Received 10.04.2016

Accepted 28.11.2016

INVESTIGATION OF TOLERABILITY OF COMPLEX ANTIPARASITIC DRUG «INSPECTOR COLLAR»

Arisov M.V.¹, Glamazdin I.G.², Dyomin A.I.², Artemov V.V.³

¹The All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin 117218 Moscow, 28 B. Cheremushkinskaya St., tel./fax 8-499-124-56-55, email: arisov_vet@mail.ru

²FGBOU VPO Moscow State University of Food Production 125080 Moscow, 11, Volokolamsk Highway, e-mail: tyomabullet@yandex.ru

³Veterinary shelter "Bano Eco", Moscow

Abstract

Objective of research: To evaluate the tolerability of the drug, "Inspector Collar" based on Fipronil, Pyriproxyfen and Ivermectin in dogs and cats applied at a therapeutic dose and double increased therapeutic doses.

Materials and methods: Research was conducted at the shelter for dogs and cats «Bano Eco» (Moscow). Effect of drug "Inspector Collar" was studied on 15 clinically healthy outbred dogs between 2 and 6 years with the body mass of 10–14 kg and 15 clinically healthy outbred cats between 2 and 4 years with the body mass of 2–3,5 kg, receiving complete and balanced nutrition. Animals were divided into six groups (three groups of dogs and three of cats) five animals in each group. Dogs and cats from the first experimental group had put on one collar (equivalent of single therapeutic dose) for 45 days. The second experimental group had put two collars (double therapeutic dose) for 45 days. Animals from the third (control) group did not carry collars. During the experiment, daily supervision of animals was conducted; their general health status, behavior, appetite were observed, body mass and temperature estimated. Before and 15 and 30 days after the beginning of drug application, blood and urine tests were performed to study morphological and biochemical parameters. Statistical processing of data were carried out using Student's t-test.

Results and discussion: The research results showed that the drug "Inspector Collar" is well tolerated even at double therapeutic dose. All observed indicators remained within the physiological norm.

Keywords: inspector, collar, dogs, cats, portability, ivermectin, pyriproxyfen, fipronil, hematology, biochemistry.

© 2016 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 (CA-BI.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 15.03.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:616.995.1-085
DOI: 10.12737/23082

Для цитирования:

Кочетков П.П., Варламова А.И., Абрамов В.Е., Мисюра Н.С., Абрамова Е.В., Абрамов С.В., Кошеваров Н.И., Архипов И.А. Определение фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // Российский паразитологический журнал. — 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 554–562

For citation:

Kochetkov P.P., Varlamova A.I., Abramov V.E., Misura N.S., Abramova E.V., Abramov S.B., Koshevarov N.I., Arkhipov I.A. Determination of fenbendazole and its metabolites in milk by the method of liquid chromatography coupled with tandem mass-spectrometry. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 554–562

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНБЕНДАЗОЛА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В МОЛОКЕ КОРОВ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Кочетков П.П.^{1,2}, Варламова А.И.¹, Абрамов В.Е.¹, Мисюра Н.С.², Абрамова Е.В.^{1,2},
Абрамов С.В.^{1,2}, Кошеваров Н.И.², Архипов И.А.¹

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

²«Международный научно-исследовательский центр охраны здоровья человека, животных и окружающей среды», 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, стр. 11 А, e-mail: cozos@mail.ru

Реферат

Цель исследования — разработка методики определения фенбендазола и его метаболитов в молоке коров методом жидкостной хроматографии высокого давления с последующим масс-спектрометрическим детектированием.

Материалы и методы. Фенбендазол назначали 5 коровам в дозе 4,8 мг/кг перорально. Пробы молока отбирали через 1, 3, 5 и 10 суток после введения препарата. Методика работы включает описание реактивов, посуды и оборудования, масс-спектрометрические условия анализа фенбендазола и его производных, подготовку оборудования к работе, приготовление раствора элюента, подготовку хроматографа к анализу, определение хроматографических параметров стандартных образцов препарата, подготовку проб молока к анализу, определение параметров хроматографирования экстрактов, процедуру калибровки фенбендазола и метаболитов в элюенте.

Результаты и обсуждение. При изучении фармакокинетики фенбендазола и его метаболитов (сульфона и сульфоксида) в молоке коров установлено, что максимальные концентрации обнаружены через 24 ч после введения препарата и составили 22,6 нг/мл для фенбендазол сульфона, 34,0 нг/мл для фенбендазол сульфоксида и 19,7 нг/мл для фенбендазола. Спустя 10 суток после введения препарата содержание фенбендазола и его метаболитов в молоке коров не превышало максимально допустимых значений.

Ключевые слова: молоко, фенбендазол, метаболиты, сульфоксид, сульфон, фармакокинетика, жидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

Введение

Вигисокс — комплексный антигельминтный препарат с содержанием 8% фенбендазола, 72% никлозамида и вспомогательных веществ. Фенбендазол, входящий в состав препара-



та, обладает выраженным нематодоцидным и в меньшей степени цестодоцидным и трематодоцидным действиями. Механизм действия его заключается в угнетении фумарат редуктазы, нарушении проницаемости клеточных мембран и нервно-мышечной иннервации, что приводит к гибели гельминта [14, 15]. Установлена высокая эффективность препарата при мониезиозе, диктиокаулезе, стронгилятозах пищеварительного тракта овец, коз и крупного рогатого скота в дозе 60 мг/кг, при трихоцефалезе — 80 мг/кг [1–3].

Для внедрения препарата в ветеринарную практику необходимы сведения по параметрам фармакокинетики и остаточным количествам его действующих веществ в органах и тканях животных, что и явилось целью наших исследований. В связи с тем, что после всасывания фенбендазол быстро метаболизируется в печени до сульфоксида (оксфендазола), обладающего антигельминтным действием, и в дальнейшем до сульфона, то их остаточные количества требуют детекции [8].

Материалы и методы

Вигисокс вводили 5 коровам согласно инструкции однократно перорально в дозе 60 мг/кг живой массы, что соответствует 4,8 мг фенбендазола и 43,2 мг никлозамида на 1 кг живой массы. Молоко отбирали через 1, 3, 5 и 10 суток после введения препарата.

Коров в период опыта содержали в стандартных условиях хозяйства. Они не получали ранее каких-либо химиотерапевтических препаратов и были клинически здоровы.

Определение остаточных количеств фенбендазола и его метаболитов в молоке коров проводили на жидкостном хроматографе высокого давления с обращеннофазовой колонкой и масс-спектрометрическим детектором с тройным квадруполом. Обработку полученных данных осуществляли с помощью программы «MassHunter Workstation Software LC/MS Data Acquisition Triple Quadrupole Version B.06.00».

Для работы использовали следующие реактивы, посуду, оборудование: весы лабораторные ShinkoDenshi VIBRA HTR-220CE (класс точности специальный (1), предел взвешивания — 220 г, точность — 0,0001 г); жидкостной хроматограф высокого давления «Adilent 1290» с масс-спектрометрическим детектором Agilent 6430 (QQQ), насосом «Agilent 1290», термостатом колонок «Agilent 1290» и автосемплером «Agilent 1290»; обращеннофазовая предколонка Phenomenex C 18 4,0 × 2,0 мм; хроматографическая обращеннофазовая колонка Zorbax SB-C18 (Æ сорбента 1,8 мкм), 50 × 2,1 мм; шейкер-перемешиватель Eppendorf Thermomixer compact AG 22331; центрифуга Eppendorf 5418; гомогенизатор SilentCrusher M («Heidolph»); центрифуга Eppendorf 5810R и бакет-ротор A-4-81; вортекс Микроспин FV-2400 («BioSan»); полипропиленовые пробирки с крышками объемом 1,5, 15 и 50 мл («Greiner Bio»); посуда мерная лабораторная стеклянная, ГОСТ 1770; вода деионизированная (Milli-Q); ацетонитрил для ВЭЖХ, сорт 1, ТУ 6-09-5497 («Криохром»); аммиак, водный раствор, «хч» («Химмед»); азот марки ОСЧ, первый сорт, ГОСТ 9293-74; муравьиная кислота (HCOOH) 98%, 64-18-6 («Sigma Aldrich»); метанол для HPLC («Fluka»); этилацетат ГОСТ 22300-76 («Химмед»); стандартный образец фенбендазол («Sigma-Aldrich», 99,9%), стандартный образец оксфендазол (фенбендазол сульфоксид) («Sigma-Aldrich», 98,8%), стандартный образец фенбендазол сульфен («Sigma-Aldrich», 99,9%).

Масс-спектрометрические условия анализа фенбендазола и его производных включали: метод ионизации — электроспрей в положительном режиме (ESI+); температура ионизации 350 °С; поток газа 10 л/мин; давление небулайзера 40 psi и напряжение +/- 5000 В.

Для количественного определения фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфена и фенбендазола методом масс-спектрометрии проводили исследование распада ионов под действием бомбардирующего потока молекул азота с последующим разрешением продуктов распада (методика MS/MS).

Для количественного определения по методу MRM и качественного подтверждения принадлежности пика были использованы ионные переходы, приведенные в таблице 1.

Подготовка оборудования к работе включала приготовление раствора элюента и настройку хроматографа. Подвижная фаза раствора элюента состояла из 0,1%-ного раствора муравьиной кислоты в воде и 0,1%-ного раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле при соотношении компонентов 60 : 40 об/об.

Таблица 1

Ионные переходы фенбендазола, фенбендазол сульфоксида и фенбендазол сульфона

Вещество	MRM-переход	Параметры ионизации*/фрагментации**	Назначение
Фенбендазол (FEN)	300,1→268	FR=140, CE=20	Колич. определение
	300,1→190	FR=140, CE=30	Качественное подтверждение
	300,1→159	FR=140, CE=30	
Фенбендазола сульфоксид (FENSO)	316,0→284	FR=140, CE=15	Колич. определение
	316,0→191	FR=140, CE=15	Качественное подтверждение
	316,0→159	FR=140, CE=30	
Фенбендазола сульфон (FENSO2)	332,0→300	FR=100, CE=15	Колич. определение
	332,0→159	FR=100, CE=30	Качественное подтверждение

Примечание. *Потенциал декластеризации (FR), В.

**Напряжение ячейки соударения (CE), В.

Включение и настройку хроматографа проводили согласно прилагаемым инструкциям по эксплуатации. Хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 предварительно промывали элюентом в течение 40 мин подачей элюента со скоростью 0,2 мл/мин.

Растворы стандартных образцов фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфона, фенбендазола для построения калибровочного графика готовили следующим образом.

На аналитических весах взвешивали с точностью до четвертого десятичного знака по 0,0100 г стандарты фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфона и фенбендазола (с учетом чистоты стандартного образца). Навески растворяли в 10,0 мл элюента, получая при этом основные растворы с концентрацией 1 мг/мл. Затем, методом последовательных растворов в подвижной фазе готовили образцы основных стандартных растворов с концентрациями аналитов 100, 10 и 0,5 мкг/мл.

Калибровочные стандартные образцы растворов в элюенте в концентрациях 5, 25, 50, 100, 500 и 2500 нг/мл готовили путём разбавления основных стандартных растворов (в соответствии с табл. 2).

Приготовление калибровочных образцов в молоке проводили по той же схеме (табл. 2), используя в качестве растворителя коровье молоко, не загрязнённое анализируемыми соединениями. Приготовленные стандартные образцы в молоке вортиксовали и выдерживали перед отбором пробы в течение 1,5 ч при комнатной температуре.

Таблица 2

Приготовление калибровочных стандартных образцов

Концентрация в пробе, нг/мл	V _{растворителя} ¹ мкл	V _{аликвоты} ² мкл	Основной стандартный раствор анализируемых соединений, мкг/мл
0 (холостая проба)	1000	0	—
5	990	10	0,5
25	950	50	
100	990	10	10
500	950	50	
2500	975	25	100

Примечание. V_{растворителя} — объём добавляемого молока или элюента;

V_{аликвоты} — объём основного стандартного раствора анализируемых соединений.



Подготовку проб молока коров к анализу проводили по следующей схеме.

К стандартному образцу (или опытному образцу) молока объемом 250 мкл добавляли 100 мкл ацетонитрила, затем 50 мкл насыщенного раствора аммиака. Смесь тщательно vortexировали. Затем проводили трёхкратную экстракцию анализируемых соединений этилацетатом (3 × 1 мл). Этилацетатные экстракты объединяли и упаривали в токе азота. Сухой остаток растворяли в 250 мкл 80%-ного раствора ацетонитрила. Полученный экстракт переносили в хроматографические виалы, добавляя 2,5 мкл (1% от отобранного объема) муравьиной кислоты, vortexировали смесь и переносили в хроматографические виалы объемом 350 мкл для последующего анализа методом ВЭЖХ-МС/МС.

Полученные стандартные образцы растворов фенбендазола, фенбендазолсульфоксида и фенбендазолсульфона в элюенте и молоке использовали для определения времени удерживания целевых компонентов и построения калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации анализируемых соединений. Для определения параметров хроматографирования экстрактов применяли процедуру калибровки хроматографических данных, которая имеет две цели: определение времени удерживания анализируемого компонента для его последующей идентификации (качественный анализ проб) и определение концентрации аналита при помощи калибровочного графика (метод внешнего стандарта). Наиболее оптимальные условия хроматографирования были достигнуты при следующих параметрах: изократическая подача элюента со скоростью 0,2 мл/мин; давление ~ 280 bar; объем вводимой пробы — 5 μл; температура термостата колонки — 30 °С; температура термостата автосемплера — 4 °С. Время удерживания определяемых соединений составило 1,0 мин для фенбендазол сульфоксида, 1,5 — для фенбендазол сульфона и 2,5 мин — для фенбендазола. Длительность хроматографирования — 5 мин. Примеры полученных хроматограмм приведены на рисунке 1.

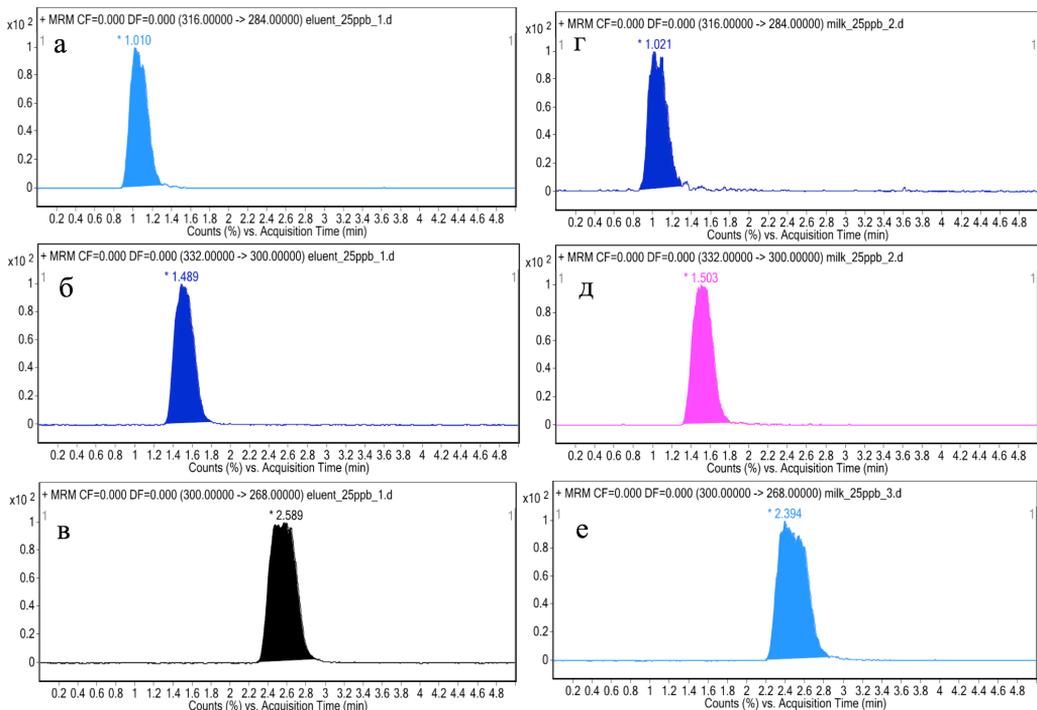


Рис. 1. Примеры хроматограмм стандартных растворов в элюенте (а, б, в) и хроматограмм экстрактов стандартного образца молока (г, д, е) с концентрацией аналитов 25 нг/мл (на рисунке показаны основные MRM-переходы фенбендазол сульфоксида (а, г), фенбендазол сульфона (б, д) и фенбендазола (в, е))

Были построены графики корреляции отношения площадей пиков фенобендазол сульфоксида, фенобендазол сульфона и фенобендазола в экстрактах к их концентрациям в молоке коров, и рассчитана степень их извлечения ($E, \%$) по формуле:

$$E = 100 \times S_{обр.} / S_{см.}$$

где $S_{обр.}$ — площадь пика стандарта (фенобендазол сульфоксида, фенобендазол сульфона, фенобендазола) в экстракте; $S_{см.}$ — площадь пика фенобендазол сульфоксида, фенобендазол сульфона, фенобендазола в стандартном образце раствора в элюенте. Средняя степень извлечения фенобендазол сульфоксида, фенобендазол сульфона, фенобендазола из молока составила соответственно 98,4; 91,8 и 91,4%.

Полученные результаты калибровки фенобендазола, фенобендазола сульфоксида и фенобендазола сульфона методом внешнего стандарта (калибровочного графика) с весами $1/x^2$ и свободным коэффициентом ($y = ax + b$) [6] приведены в таблице 3. Стабильность калибровочных растворов в процессе исследования оценивали согласно методике [5].

Таблица 3

Результаты калибровки фенобендазол сульфоксида, фенобендазол сульфона и фенобендазола в образцах молока коров

Вещество	Предел обнаружения, нг/мл	Предел количественного определения, нг/мл	Стандартная калибровочная кривая, нг/мл	Диапазон линейности, нг/мл
Фенобендазола сульфон	0,3	1,1	$y=326,4x-83,6$ $R^2 = 0,99$	5 — 2500
Фенобендазола сульфоксид	0,3	1,1	$y=93,7x+247,4$ $R^2 = 0,97$	5 — 2500
Фенобендазол	0,3	0,9	$y=629,3x-219,1$ $R^2 = 1,00$	5 — 2500

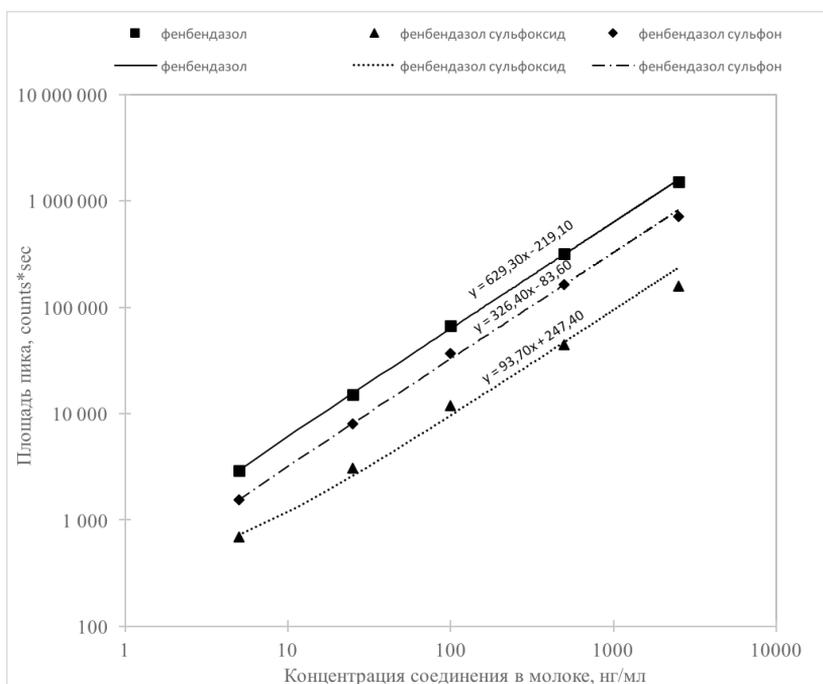


Рис. 2. Графики калибровочных зависимостей аналитических сигналов от концентрации фенобендазола, фенобендазол сульфоксида и фенобендазол сульфона



Для вычисления концентраций фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфона и фенбендазола в экстрактах применяли уравнение, полученное для линии тренда калибровочного графика по экстрактам:

$$C = (S_{обp} - a)/k,$$

где C — искомая концентрация соединения в соответствующем образце, нг/мл; $S_{обp}$ — площадь пика исследуемого вещества в экстракте пробы; k и a — коэффициенты корреляции, использованные для вычисления остаточных количеств исследуемого вещества в образцах молока (приведены в табл. 3).

На основании полученных хроматограмм холостых проб молока (без добавления аналитов) были экспериментально установлены предел обнаружения (LOD) и предел измерения (LOQ). Определение LOD и LOQ осуществляли в соответствии с методикой [5, 9, 10, 13]. Пример «пустых» хроматограмм, использованных для вычисления LOD и LOQ, приведен на рисунке 3. На хроматограммах выделены «пики» шумов при времени удерживания, соответствующих времени удерживания фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфона, фенбендазола.

LOD и LOQ рассчитывали по формулам:

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= 3 \times SD(S_{шум}) \times k^{-1} \\ \text{LOQ} &= 10 \times SD(S_{шум}) \times k^{-1}, \end{aligned}$$

где $SD(S_{шум})$ — стандартное отклонение отклика фенбендазол сульфоксида, фенбендазола сульфона и фенбендазола в холостых пробах тканей; k — калибровочный коэффициент (табл. 3).

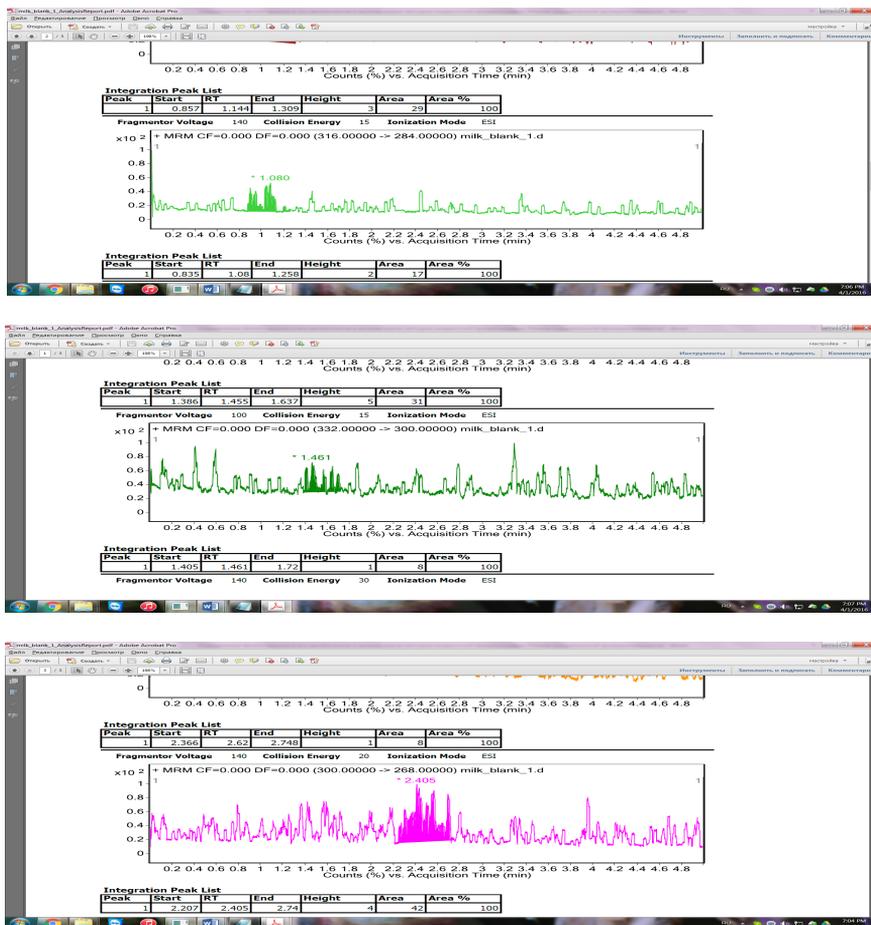


Рис. 3. Хроматограмма экстракта холостой пробы молока, использованной для вычисления LOD и LOQ фенбендазол сульфоксида (а), фенбендазол сульфона (б) и фенбендазола (в).

Результаты вычисления LOD и LOQ приведены в таблице 4.

Таблица 4

Метрологические характеристики методики определения фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфона, фенбендазола в образцах молока

Соединение	Диапазон линейности, нг/мл	LOD, нг/мл	LOQ, нг/мл	Повторяемость RSD, %	Точность, Δ, %
Фенбендазола сульфон	5 — 2500	0,3	1,1	3	14
Фенбендазола сульфоксид		0,3	1,1	6	34
Фенбендазол		0,3	0,9	8	7

Метрологическую аттестацию методики проводили в соответствии с рекомендациями по валидации методов количественного химического анализа [4, 7, 11, 16] по содержанию фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфона и фенбендазола в образцах молока коров. Для эксперимента были использованы несколько растворов экстрактов из молока фенбендазол сульфоксида, фенбендазол сульфона и фенбендазола с концентрациями 5, 25, 100, 500 и 2500 нг/мл в молоке. Характеристики прецизионности и точности методики приведены в таблице 4.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты изучения содержания фенбендазола и его метаболитов в коровьем молоке приведены в таблице 5.

Таблица 5

Содержание фенбендазола и его метаболитов в молоке коров после введения вигисокса в терапевтической дозе

Время после введения, ч	Среднее кол-во метаболитов, нг/мл		
	фенбендазол	Фенбендазола сульфон	Фенбендазола сульфоксид
24	19,7±9,2	22,6±9,9	34,0±26,1
48	7,6±1,9	12,1±2,9	5,0±1,3
96	5,6±0,8	1,7±0,6	9,0
120	5,8±0,5	1,4±0,2	1,8
240	7,1±3,6	1,7±0,8	2,6±2,4

При изучении остаточных количеств фенбендазола и его метаболитов (сульфоксида и сульфона) в молоке коров было установлено, что максимальные концентрации обнаружены через 24 ч после введения препарата вигисокс: 22,6 нг/мл — для фенбендазол сульфона, 34,0 нг/мл — для фенбендазол сульфоксида и 19,7 нг/мл — для фенбендазола.

Спустя 10 суток после применения вигисокса содержание фенбендазола и его метаболитов не превышало максимально допустимых значений [8].

Литература

- Архипов И.А., Радионов А.В., Белова Е.Е., Садов К.М., Архипова А.И. Антигельминтная эффективность вигисокса при гельминтозах овец // Рос. паразитол. журнал. — 2010. — № 4. — С. 89–93.
- Архипов И.А., Варламова А.В., Данилевская Н.В., Белова Е.Е., Садов К.И. Эффективность вигисокса при гельминтозах молодняка крупного рогатого скота // Рос. паразитол. журнал. — 2011. — № 4. — С. 126–129.
- Архипов И.А., Варламова А.И., Данилевская Н. В. Методика по применению вигисокса при гельминтозах жвачных животных // Рос. паразитол. журнал. — 2013. — № 2. — С. 112–113.



4. ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений.
5. Эпштейн Н.А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. — 2004. — Т. 38, № 4. — С. 48–56.
6. Carroll R.J., Ruppert D. Transformation and Weighting in Regression, Chapman and Hall, New York. — 1988.
7. Chiap P., Boulanger B., Dewe W. et al. An Analysis of the SFSTP guide on Validation of Chromatographic bioanalytical Methods: Progress and Limitations. J. Pharm. Biomed. Anal., 2003, Vol. 32, pp. 753–765.
8. Committee for medicinal products for veterinary use. Fenbendazole (extrapolation to all ruminants). EMEA/MRL/866/03-FINAL/June 2004.
9. Ermer J., Miller J. H. McB. Method Validation in Pharmaceutical Analysis / John Wiley & Sons, 2006, P. 418.
10. Хамиде Др., Сеньюва З., Гилберт Дж. Простое руководство для пользователей по разработке и валидации методов / Пер. под ред. А. Галкин. — М: «ООО Ториус 77», 2011. — 43 с.
11. Hartmann C., Smeyers-Verbeke J., Massart D. L., McDowall R. D. Validation on bioanalytical chromatographic methods. J. Pharm. Biomed. Anal., 1998, Vol. 17, pp. 193–218.
12. Marriner S.E., Bogan J.A. Pharmacokinetics of fenbendazole in sheep. Am. J. Vet. Res. — 1981, Vol. 42, No 7, pp. 1146–1148.
13. Причард Э., Барвик В. Контроль качества в аналитической химии / Пер. с англ. под. ред. И. В. Болдырёва. — СПб: «Профессия», 2011. — 320 с.
14. Rew R.S., Fetterer R.H. Mode of action of Antinematodal Drugs. In «Chemotherapy of parasitic diseases» Ed. W. C. Campbell, R. S. Rew, 1986, pp. 321–334.
15. Van den Bossche H. Chemotherapy of parasitic infections. Nature (London), 1978, Vol. 273, P. 626–630.
16. US Food and Drug Administration. Guidance for industry: Q2B validation of analytical procedures: methodology. Rockville, MD. 1996.

References

1. Arkhipov I.A., Radionov A.V., Belova E.E., Sadov K.M., Arhipova A.I. Anthelmintic efficacy of vigisox at helminthiasis in sheep. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2010, no. 4, pp. 89–93.
2. Arkhipov I.A., Varlamova A.V., Danilevskaya N.V., Belova E.E., Sadov K.I. Efficacy of vigisox at helminthiasis in young cattle. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2011, no. 4, pp. 126–129.
3. Arkhipov I.A., Varlamova A.I., Danilevskaya N. V. Methods for the use of vigisox at helminthiasis in ruminants. *Ros. parazitol. Zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2013, no. 2, pp. 112–113.
4. Carroll R.J., Ruppert D. Transformation and Weighting in Regression, Chapman and Hall, New York. 1988.
5. Chiap P., Boulanger B., Dewe W. et al. An Analysis of the SFSTP guide on Validation of Chromatographic bioanalytical Methods: Progress and Limitations. J. Pharm. Biomed. Anal., 2003, vol. 32, pp. 753–765.
6. Committee for medicinal products for veterinary use. Fenbendazole (extrapolation to all ruminants). EMEA/MRL/866/03-FINAL/June 2004.
7. Epshtein N.A. Validation of HPLC techniques in pharmaceutical analysis (review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal* [Pharmaceutical Chemistry Journal], 2004, vol. 38, no. 4, pp. 48–56.
9. Ermer J., Miller J. H. McB. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. 2006, John Wiley & Sons, p. 418.
10. GOST R ISO 5725-6-2002 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Место/год/издательство???
10. Hartmann C., Smeyers-Verbeke J., Massart D. L., McDowall R. D. Validation on bioanalytical chromatographic methods. J. Pharm. Biomed. Anal., 1998, vol. 17, pp. 193–218.
11. Marriner S.E., Bogan J.A. Pharmacokinetics of fenbendazole in sheep. Am. J. Vet. Res. — 1981, mol. 42, No 7, pp. 1146–1148.
12. Prichard E., Barwick V. Quality assurance in analytical chemistry. Spb., Publ. «Professiya», 2011. 320 p. (Russ. ed.: *Kontrol' kachestva v analiticheskoy himii*)
13. Rew R.S., Fetterer R.H. Mode of action of Antinematodal Drugs. Chemotherapy of parasitic diseases, 1986, pp. 321–334.
14. Senyuva H.Z., Gilbert J. A simple users' guide to methods of development and validation. (Russ. ed.: *Prostoe rukovodstvo dlya pol'zovateley po razrabotke i validatsii metodov*). M., Torius 77 Ltd., 2011. 43 p.
15. Van den Bossche H. Chemotherapy of parasitic infections. Nature (London), 1978, vol. 273, pp. 626–630.
16. US Food and Drug Administration. Guidance for industry: Q2B validation of analytical procedures: methodology. Rockville, MD. 1996.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23082

Received 15.03.2016

Accepted 28.11.2016

DETERMINATION OF FENBENDAZOLE AND ITS METABOLITES IN MILK
BY THE METHOD OF LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED
WITH TANDEM MASS SPECTROMETRY

Kochetkov P.P.^{1,2}, Varlamova A.I.¹, Abramov V.E.¹, Misura N.S.², Abramova E.V.^{1,2},
Abramov S.B.^{1,2}, Koshevarov N.I.², Arkhipov I.A.¹

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

²International Research Center for protection of human health, animals and environment., 117218, Russia, Moscow, 28 B. Cheremushkinskaya St., e-mail: cozos@mail.ru

Abstract

Objective of research: Development of methods for the determination of fenbendazole and its metabolites in milk by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry.

Materials and methods: Fenbendazole was administered orally to five cows. Samples of milk were taken on 1, 3, 5 and 10 days of drug application. The research method includes a description of reagents, plates and equipment; mass-spectrometric conditions for analysis of fenbendazole and its metabolites; preparation of the equipment to operation; preparation of eluent solution; preparation of the chromatograph to analysis; determination of chromatographic parameters of standard drug samples; preparation of milk samples to analysis; establishment of parameters of extracts' chromatography; procedure of calibration of fenbendazole and its metabolites in eluent.

Results and discussion: When studying the pharmacokinetics of fenbendazole and its metabolites (sulfone and sulfoxide) in milk, it was found that the maximal concentrations were determined 24 h after drug administration and were 22,6 ng/ml for fenbendazole sulfone, 34,0 ng/ml for fenbendazole sulfoxide and 19,7 ng/ml for fenbendazole. 10 days after treatment, the concentrations of fenbendazole and its metabolites in milk did not exceed permitted values.

Keywords: milk, fenbendazole, metabolite, sulfoxide, sulfone, pharmacokinetics, liquid chromatography, mass-spectrometry.

© 2016 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 (CA-BI.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 18.02.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 619:615.015.4
DOI: 10.12737/23083

Для цитирования:

Семенова М.В., Ковешникова Е.И. Оценка влияния препаратов аверсект форте и аверсект комби на эмбриональное развитие крыс // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 563–567

For citation:

Semenova M.V., Koveshnikova E.I. Assessment of effects of drugs Aversect Forte and Aversect Combi on embryonic development of the rat. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 563–567

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ АВЕРСЕКТ ФОРТЕ И АВЕРСЕКТ КОМБИ НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ КРЫС

Семенова М.В., Ковешникова Е.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28, e-mail: smv-79@yandex.ru, koveshnikova@vniigis.ru

Реферат

Цель исследований — оценка эмбриотропного эффекта новых комбинированных препаратов аверсект форте и аверсект комби на крысах.

Материалы и методы. Опыт по оценке возможных эмбриотоксических и тератогенных свойств препаратов аверсект форте и аверсект комби проводили согласно современным методическим указаниям на 32 крысах-самках и 8 крысах-самцах. Отобранных беременных самок разделили на две опытные и две контрольные группы. Препараты вводили с 7 по 14-е сутки беременности с учетом наибольшей чувствительности эмбрионов к различным воздействиям в этот период. Аверсект форте и аверсект комби вводили беременным самкам подкожно в дозе 0,3 мг/кг по ДВ. Контрольной группе вводили формообразующую смесь в соответствующем объеме. В течение всей беременности проводили наблюдение за общим клиническим состоянием самок. На 20-е сутки беременности опытных и контрольных крыс подвергали эвтаназии. После лапаротомии извлекали матку с плодами. Регистрировали число желтых тел беременности в обоих яичниках, мест имплантации, число живых, мертвых, резорбированных плодов. Эмбрионы тщательно осматривали на наличие внешних аномалий развития, определяли массу и краниокаудальный размер плодов, а также предимплантационную, постимплантационную и общую эмбриональную гибель, массу и диаметр плаценты. Плоды исследовали на наличие внутренних аномалий развития по методу Вильсона в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР. Полученные результаты обработали статистически.

Результаты и обсуждение. Аверсект форте и аверсект комби при введении в дозе 0,3 мг/кг по ДВ на 7–14-е сутки беременности не вызывали внешних и внутренних аномалий развития. Показатели гибели, масса и размеры эмбрионов находились на уровне фактических контрольных и физиологических значений для данного вида животных.

Ключевые слова: аверсект форте, аверсект комби, беременность, эмбриональное развитие, плод, эмбриогенез, аномалии развития, плацента, эмбриотоксическое и тератогенное действие, крысы.

Введение

В настоящее время на рынке лекарственных препаратов появляются новые, современные, высокоэффективные средства для лечения гельминтозов. Однако, воздействуя на па-



разитов, многие препараты в той или иной степени могут оказывать отрицательное влияние и на организм животных, в том числе на течение беременности, и приводить к патологиям в развитии плода.

Целью настоящих исследований была оценка эмбриотропного эффекта новых комбинированных препаратов аверсект форте и аверсект комби на крысах.

Материалы и методы

Опыт по оценке возможных эмбриотоксических и тератогенных свойств препаратов аверсект форте и аверсект комби проводили согласно современным методическим указаниям [1] на 32 крысах-самках и 8 крысах-самцах. На ночь к самкам подсаживали самцов, утром исследовали мазок из влагалища. День обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках у крыс принимали за первый день беременности. Отобранных беременных самок разделили на две опытные и две контрольные группы.

Препараты вводили с 7 по 14-е сутки беременности с учетом наибольшей чувствительности эмбрионов к различным воздействиям в этот период. Аверсект форте и аверсект комби вводили беременным самкам подкожно в дозе 0,3 мг/кг по ДВ. Контрольной группе вводили формообразующую смесь в соответствующем объеме.

В течение всей беременности проводили наблюдение за общим клиническим состоянием самок.

На 20-е сутки беременности опытных и контрольных крыс подвергали эвтаназии. После лапаротомии извлекали матку с плодами. Регистрировали число желтых тел беременности в обоих яичниках, мест имплантации, число живых, мертвых, резорбированных плодов. Эмбрионы тщательно осматривали на наличие внешних аномалий развития, определяли массу (г) и краниокаудальный размер (см) плодов, а также предимплантационную, постимплантационную и общую эмбриональную гибель, массу (г) и диаметр плаценты (см). Плоды фиксировали в жидкости Буэна и использовали для исследования на наличие внутренних аномалий развития по методу Вильсона в модификации отдела эмбриологии НИИЭМ АМН СССР [2]. Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с помощью простого сравнения средних по двустороннему *t*-критерию Стьюдента. Различия определяли при 0,05 уровне значимости. Расчет выполнен на персональном компьютере с использованием приложения Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp. USA) и пакета статистического анализа данных Statistica 8.0 for Windows (StatSoft Inc., USA).

Результаты и обсуждение

Во время и после введения обоих испытуемых препаратов общее состояние самок оставалось без изменений; падежа опытных крыс не отмечали; отсутствовали внешние признаки, свидетельствующие о нарушении беременности (кровянистые выделения, снижение массы тела); животные активно принимали корм и воду.

Полученные результаты по оценке препаратов аверсект форте и аверсект комби на эмбриотропное действие приведены в Таблицах 1 и 2.

Гибель плодов на разных стадиях эмбриогенеза является одним из наиболее информативных и важных показателей при оценке влияния препаратов на антенатальное развитие. Следует отметить, что поскольку испытуемые препараты вводили с 7 по 14-е сутки беременности, т. е. в период после имплантации и во время органогенеза, то постимплантационная гибель имеет самое непосредственное отношение к предмету исследования. Тем не менее, мы определяли предимплантационную гибель (в данном случае физиологическую) и общую эмбриональную смертность.

Таким образом, после введения аверсекта форте предимплантационная гибель составила $6,97 \pm 2,86\%$, постимплантационная — $2,50 \pm 1,78\%$ и общая эмбриональная смертность равнялась $9,30 \pm 3,30\%$ по сравнению с контрольными значениями соответственно $6,81 \pm 2,79\%$, $2,43 \pm 1,73$ и $9,09 \pm 3,24\%$ (табл. 1). При исследовании эмбрионального материала внешних и внутренних аномалий развития не выявили. Средняя масса плодов в опыте составила $2,70 \pm 0,02$ г в сравнении с контролем $2,69 \pm 0,01$ г, краниокаудальный размер плодов в опыте — $3,51 \pm 0,01$ см, в контроле — $3,54 \pm 0,01$ см.



Таблица 1

Влияние препарата аверсект форте на эмбриональное развитие крыс (n = 8, P ≤ 0,05)

Показатель	Значение показателя при введении препарата на 7–14-е сутки беременности	
	аверсект форте	контроль
Число самок	8	8
Среднее число плодов на одну самку	9,75±0,36 t = 0,48	10,0±0,32
Среднее число резорбций на одну самку	0,25±0,16 t = 0	0,25±0,16
Предимплантационная гибель, %	6,97±2,86 t = 0,04	6,81±2,79
Постимплантационная гибель, %	2,50±1,78 t = 0,02	2,43±1,73
Общая эмбриональная гибель, %	9,30±3,30 t = 0,05	9,09±3,24
Масса плода, г	2,70±0,02 t = 0,04	2,69±0,01
Краниокаудальный размер, см	3,51±0,01 t = 1,49	3,54±0,01
Масса плаценты, см	0,60±0,008 t = 1,46	0,58±0,007
Диаметр плаценты, см	1,56±0,01 t = 1,21	1,54±0,08
Число плодов с аномалиями развития, %	–	–
* Во всех случаях P ≥ 0,05		

После введения аверсекта комби предимплантационная гибель эмбрионов составила 10,60±3,55%, постимплантационная 2,63±1,87 и общая эмбриональная гибель 12,94±3,87% по сравнению с соответствующими контрольными показателями 9,41±3,34%, 1,29±0,37 и 10,58±3,55% (табл. 2). Внешние и внутренние аномалии развития отсутствовали. Средняя масса плодов в опыте составила 2,67±0,02 г против контрольного значения 2,66±0,01 г, краниокаудальный размер плодов в опыте — 3,47±0,02 см, в контроле — 3,52±0,01 см.

Таблица 2

Влияние препарата аверсект комби на эмбриональное развитие крыс (n = 8, P ≤ 0,05)

Показатель	Значение показателя при введении препарата на 7–14-е сутки беременности	
	аверсект комби	контроль
Число самок	8	8
Среднее число плодов на одну самку	9,25±0,36 t = 0,47	9,50±0,32
Среднее число резорбций на одну самку	0,25±0,16 t = 0,56	0,12±0,12
Предимплантационная гибель, %	10,60±3,55 t = 0,24	9,41±3,34
Постимплантационная гибель, %	2,63±1,87 t = 0,70	1,29±0,37



Окончание табл. 2

Показатель	Значение показателя при введении препарата на 7–14-е сутки беременности	
	аверсект комби	контроль
Общая эмбриональная гибель, %	12,94±3,87 t = 0,45	10,58±3,55
Масса плода, г	2,67±0,02 t = 0,02	2,66±0,01
Краниокаудальный размер, см	3,47±0,02 t = 1,93	3,52±0,01
Масса плаценты, см	0,60±0,008 t = 1,05	0,62±0,008
Диаметр плаценты, см	1,54±0,01 t = 1,78	1,57±0,01
Число плодов с аномалиями развития, %	–	–
* Во всех случаях $P \geq 0,05$		

Заключение

Таким образом, препараты аверсект форте и аверсект комби при подкожном введении в дозе 0,3 мг/кг не оказывают отрицательного влияния на эмбриональное развитие крыс в антенатальном периоде.

Литература

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / под ред. А.Н. Миронова. — Москва, 2012. — 944 с.
2. Wilson J.G. Current status of teratology — general principles and mechanisms derived from animal studies. In: Handbook of teratology / Eds. Wilson J. G., Clarke Fraser F. New York: Plenum Press, 1977. — pp. 47–74.
- 3.

References

1. Mironov A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* [Handbook of preclinical studies of drugs. Part One.]. M., 2012, 944 p. (In Russian)
2. Wilson J.G. Current status of teratology — general principles and mechanisms derived from animal studies. Handbook of teratology. New York, Plenum Press, 1977. pp. 47–74.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23083

Received 18.02.2016

Accepted 28.11.2016

ASSESSMENT OF EFFECTS OF DRUGS AVERSECT FORTE AND AVERSECT COMBI ON EMBRYONIC DEVELOPMENT OF THE RAT

Semenova M.V., Koveshnikova E.I.

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: smv-79@yandex.ru, koveshnikova@vniigis.ru



Abstract

Objective of research: To estimate the effect of new combination drugs Aversect Forte and Aversect Combi on rats.

Materials and methods: The present experiment for the evaluation of eventual embryotoxic and teratogenic properties of drugs Aversect Forte and Aversect Combi was conducted on 32 female and 8 male rats based on the current methodological guidelines.

Pregnant female rats were divided into 2 experimental and 2 control groups.

Drugs were applied between the 7th and the 14th day of pregnancy taking into account the highest sensitivity of embryos towards different types of influence within this time period.

Aversect Forte and Aversect Combi were injected to pregnant rats subcutaneously at a dose of 0,3 mg a.i./kg of individual body weight. Rats from the control group received a forming mixture in comparable volume. Within the whole period of pregnancy, we observed the general clinical condition of female rats.

Results and discussion: Effects of new domestic preparations Aversect Forte and Aversect Combi on the antenatal development of the rat via subcutaneous injection of preparations to female rats at a dose of 0,3 mg a.i./kg between the 7th and the 14th day of pregnancy were estimated. The test preparations did not cause any external and internal developmental anomalies; indicators of embryo death, mass and dimensions of embryos were at the actual level of control and physiological parameters for that type of animals.

Keywords: Aversect Forte, Aversect Combi, embryotoxic and teratogenic effects, rats.

© 2016 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 (CA-BI.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 01.11.2016
Принята в печать 28.11.2016

УДК 632:595.132:633.6
DOI: 10.12737/23084

Для цитирования:

Бабич А.Г., Бабич А.А. Концептуальные основы интегрированной защиты основных сельскохозяйственных культур от цистообразующих нематод // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 568–574

For citation:

Babich A.G., Babich A.A. The conceptual basis of integrated, environmentally friendly system for the protection of major crops from cyst nematodes. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 568–574

КОНЦЕПТУАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ ИНТЕГРИРОВАННОЙ ЗАЩИТЫ ОСНОВНЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ОТ ЦИСТООБРАЗУЮЩИХ НЕМАТОД

Бабич А.Г., Бабич А.А.

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, ул. Героев Обороны, 15, babich200@yandex.ru

Реферат

Цель исследования — Разработать основы интегрированной защиты сельскохозяйственных культур от овсяной, свекловичной, золотистой картофельной, люцерновой и клеверной нематод.

Материалы и методы. Эффективность различных противонематодных мероприятий изучалась в 1991–2016 годах в Винницкой, Киевской, Сумской, Черниговской и других областях Украины. Материалом исследований были образцы почвы, растений, яйца, личинки, взрослые особи, цисты свекловичной, овсяной, золотистой картофельной, люцерновой и клеверной нематод. Изготовление временных и постоянных препаратов, определение видового состава цистообразующих нематод осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [3, 6].

Результаты и обсуждение. Разработаны основы интегрированной защиты сельскохозяйственных культур от овсяной, свекловичной, золотистой картофельной, люцерновой и клеверной нематод. Для предотвращения массового размножения цистообразующих нематод, насыщенность севооборотов растениями-хозяевами не должна превышать: зерновые колосовые — 40%, свекла и масличные капустные (рапс, редька, горчица) — 20%, картофель — 15%, многолетние бобовые травы — 20%. Вовлечение в круговорот побочной продукции растениеводства и сидератов оказывает положительное влияние на уровень плодородия почвы и активацию жизнедеятельности природных антагонистов гетеродерид.

Ключевые слова: цистообразующие нематоды, растения-хозяева, севообороты, комплекс защитных мероприятий.

Введение

Цистообразующие нематоды известны еще со второй половины прошлого столетия как одна из причин «почвоутомления». Микроскопические размеры и очаговое распространение существенно усложняют их своевременное выявление, а стадия покоя — циста, обеспечивает многолетнее выживание потомства при неблагоприятных условиях. Основным средством контроля численности гетеродерид прежде было научно обоснованное чередование сельскохозяйственных культур. Однако переход на рыночное ведение сельского хозяйства существенно изменил структуру посевных площадей, привел к изъятию из агроценозов ряда ценных в фитосанитарном отношении культур и как следствие, к несбалан-



сированному их общему чередованию. В условиях узкой специализации растениеводства, резкого сокращения норм внесения традиционных органических, ограниченного использования минеральных удобрений, химических средств защиты и упрощению в целом технологий выращивания сельскохозяйственных культур, отмечается тенденция к ухудшению фитосанитарного состояния агроценозов [1, 2, 4, 5].

Материалы и методы

Эффективность различных противонематодных мероприятий изучалась в 1991-2016 годах в Винницкой, Киевской, Сумской, Черниговской и других областях Украины. Материалом исследований были образцы почвы, растений, яйца, личинки, взрослые особи, цисты свекловичной, овсяной, золотистой картофельной, люцерновой и клеверной нематод.

Изготовление временных и постоянных препаратов, определение видового состава цистообразующих нематод осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [3, 6].

Результаты и обсуждение

В современных условиях хозяйствования, наиболее доступными и экологически безопасными, являются агротехнические мероприятия (рис. 1, 2). Эффективное контролирование численности популяций гетеродерид достигается оптимальным чередованием культур в противонематодных севооборотах. Для предотвращения массового размножения овсяной нематоды необходимо избегать повторных посевов зерновых колосовых, а в смесях с однолетними травами не высевать овес. При необходимости увеличения валовых сборов зерновых, целесообразнее вместо овса отдавать предпочтение зернобобовым культурам — сое и гороху. В промежуточных посевах также не следует высевать овес на зеленый корм. При длительном использовании однолетних трав, в качестве зеленого конвейера поступления кормов, существует риск завершения полного цикла развития овсяной нематоды, а соответственно и увеличения уровня заселенности почвы.

На слабо заселенных овсяной нематодой угодьях отдавать предпочтение посевам яровых, а средне-заселенных — озимым колосовым культурам. По выносливости к фитопаразиту зерновые колосовые культуры находятся в такой последовательности — озимые: ячмень > рожь > пшеница; яровые: ячмень > пшеница > овес.

В основных районах свеклосеяния, необходимо соблюдать четырех-пятилетние перерывы между повторным размещением свеклы и масличных капустных культур (рапс, редька, горчица). Двухлетние перерывы между повторным выращиванием указанных культур не обеспечивают эффективного контроля численности свекловичной нематоды. Для повышения противонематодной эффективности севооборотов с короткой ротацией, свеклой следует занимать только половину отведенной площади каждого ротационного поля. Последующее размещение культуры в разных частях поля обеспечивает двукратное увеличение временного возврата растений-хозяев на прежнее место. Следует также отметить, что более высокой продуктивностью в очагах гетеродероза, особенно в засушливые годы, отличались сорта с глубоким размещением в почве корнеплодов. В частности кормовой свеклы: Уманский полусахарный, Центаур-поле и столовой: Багряный, Деликатесный, Бордо харьковский.

Для предотвращения массового размножения золотистой картофельной нематоды, доля восприимчивых сортов картофеля в многопольных севооборотах не должна превышать 15% от общей площади, а при условии выращивания в одном из полей устойчивых сортов, оптимальным является 20%-ное насыщение пасленовыми культурами (10% восприимчивых + 10% устойчивых сортов). При этом восприимчивые сорта картофеля необходимо размещать в звене с более длительным перерывом между повторным выращиванием растений-хозяев.

В очагах распространения люцерновой нематоды, необходимо отдавать предпочтение выращиванию клевера, клеверной — люцерны, а в случае совместного заселения угодья — эспарцета.

На заселенных цистообразующими нематодами угодьях применять комбинированную систему обработки почвы, сочетающую отвальную под технические и пропашные культуры и безотвальную или поверхностную под остальные культуры. При доминировании безот-



вальной обработки отмечается тенденция к дифференциации гумусного слоя и локализации корневой системы, а также цистообразующих нематод в поверхностных горизонтах почвы. Отвальная обработка и фрезерование обеспечивают более равномерное распределение цистообразующих нематод по вертикальному профилю пахотного слоя. Однако при систематическом их использовании ухудшается устойчивость почв к ветровой и водной эрозии, что может привести к увеличению площади очагов. Рациональное сочетание различных способов обработки почвы уменьшает негативные последствия их одностороннего применения, ограничивает и существенно замедляет расширение существующих очагов гетеродерид.

Кислые почвы подлежат известкованию — внесением дефеката не менее 3–4-летнего хранения и других мелиорантов из расчета нормы известки на гидролитическую кислотность почвы. Известковые удобрения целесообразно вносить под предшественник или предпредшественник свеклы, а в половинной норме непосредственно и под картофель.

Для получения дружных всходов и снижения уровня заселенности начальных фаз роста и развития личинками нематод — зерновые колосовые, свеклу, многолетние травы следует высевать, а картофель высаживать в ранне-оптимальные сроки с коррекцией на погодные условия текущего года.

Применение минеральных и органических удобрений в оптимальных соотношениях — резерв повышения продуктивности сельскохозяйственных культур в очагах распространения гетеродерид. Ныне наиболее доступными и дешевыми являются побочная продукция растениеводства, в частности солома колосовых культур, рапса, сои, ботва свеклы и т.д. Вовлечение в круговорот альтернативных органических удобрений оказывает положительное воздействие также на активацию жизнедеятельности природных антагонистов цистообразующих нематод.

В современных энергосберегающих технологиях выращивания свеклы и картофеля, альтернативой — традиционной органо-минеральной системе удобрения, было внесение умеренной нормы подстильного навоза (10 т / га) в сочетании с побочной продукцией зерновых колосовых (5 т/га) и сидератами на фоне полного минерального питания.

В очагах глободероза, рациональным способом использования элементов питания и физиологически активных веществ, было экономное внесение птичьего помета (2,5 т/га) на фоне сидератов, сбалансировано-ограниченное минеральных удобрений ($N_{30}P_{45}K_{60}$) в сочетании с предпосадочной обработкой клубней и опрыскиванием посевов картофеля биовитом, г. и регулятором роста деймос, в.р.

Предпосевная обработка семян защитно-стимулирующими веществами снижает уровень заселенности начальных фаз органогенеза растений. Использование обработанного защитно-стимулирующими веществами посевного материала было наиболее эффективно при допосевной численности гетеродерид не превышающей экономический порог вредности более чем в два-три раза. Послойное нанесение компонентов защитно-стимулирующих веществ на семена свеклы повышает эффективность защиты всходов от фитопаразитических нематод по сравнению с традиционной технологией (семена обрабатывают смесью всех компонентов одновременно). В очагах высокой численности свекловичной нематоды целесообразно совмещать обработку семян с припосевным дифференцированным внесением в рядки инсекто-нематотицида Маршала, 25% к.э.

Эффективный контроль сорняков-резерватов является одним из важных и необходимых приемов в интегрированной системе противонематодных мероприятий. Для достижения высокой противосорняковой эффективности следует придерживаться оптимальной ротационной последовательности, избегать повторных посевов родственных культур, а также насыщать современные севообороты промежуточными масличными культурами. Норму посева семян масличной редьки, горчицы целесообразно увеличивать на 20–25% по сравнению с зонально-рекомендованной. Загущенные посевы промежуточных культур существенно подавляли рост и развитие малолетних и многолетних сорняков-резерватов цистообразующих нематод. Для предотвращения массового размножения свекловичной нематоды целесообразнее высевать устойчивые сорта капустных: масличной редьки Пеллета, Немекс, Шлоболт, горчицы белой Макси.

Качественное осуществление в сжатые сроки лущения стерни, вслед за уборкой урожая озимых и яровых колосовых культур, нарушает протекание цикла развития овсяной немато-

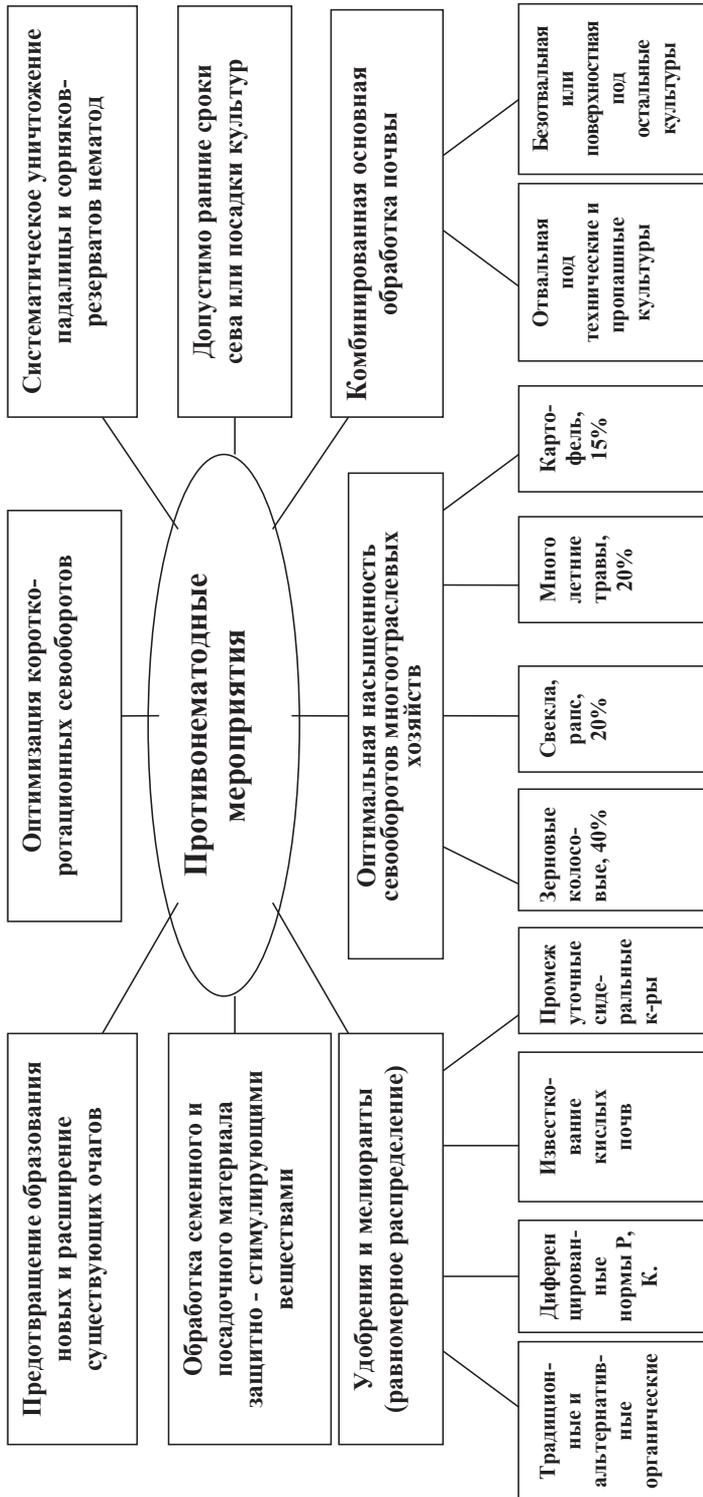


Рис. 1. Комплекс основных противонематодных мероприятий для получения запрограммированной урожайности сельскохозяйственных культур

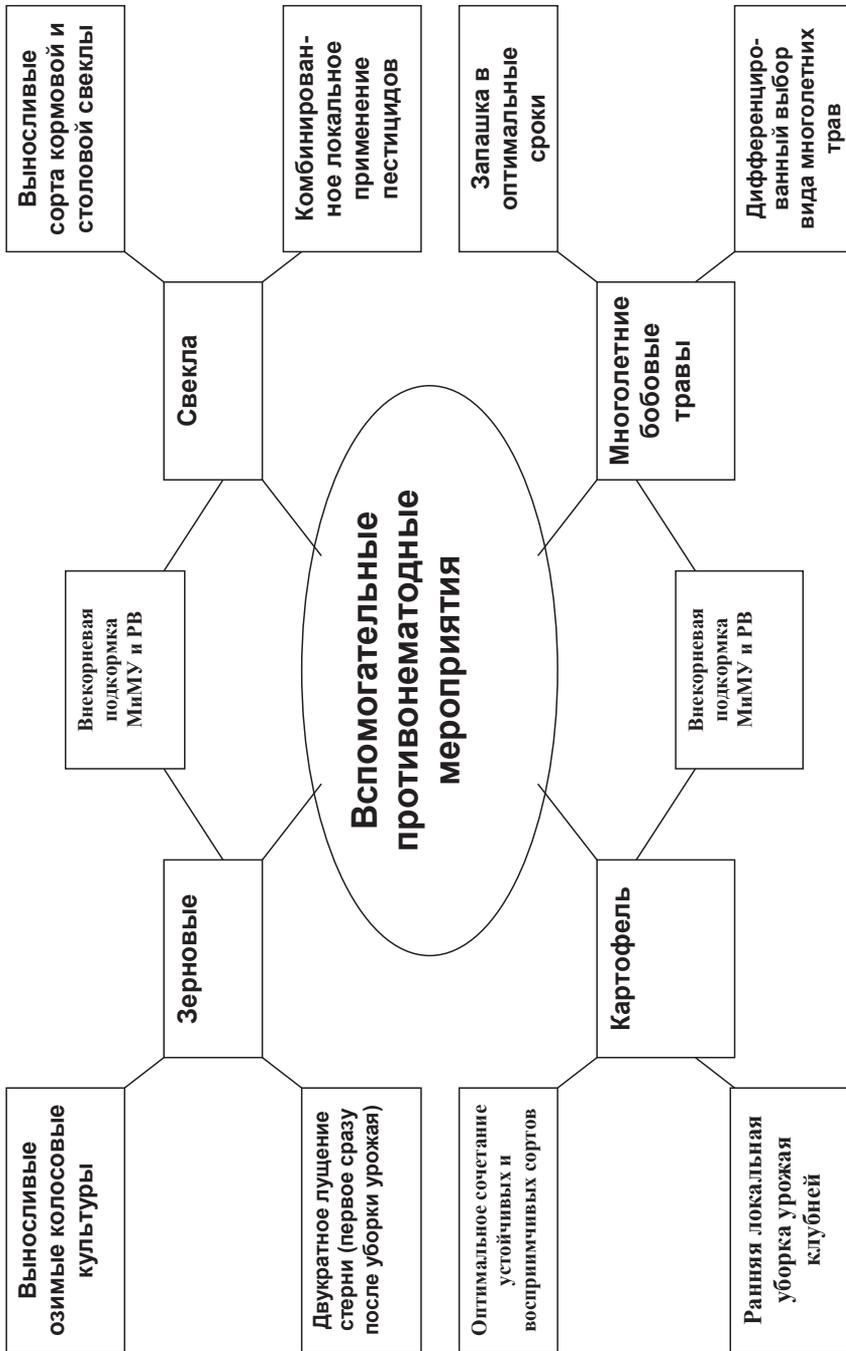


Рис. 2. Комплекс вспомогательных мероприятий для получения запрограммированной урожайности основных сельскохозяйственных культур



ды. На полях с многолетним корневищным типом засоренности, для повышения эффективности данного агроприема, следует дополнительно проводить еще и лемешное лушение. Всходы падалицы рапса, зерновых колосовых культур, сорняков-резерватов нематод необходимо своевременно уничтожать — не позднее трех недель с момента их появления.

Рациональное сочетание различных мероприятий позволяет ограничить дальнейшее расселение цистообразующих нематод, эффективно контролирует их численность на экономически неощутимом уровне и предотвращает значительные потери урожая основных сельскохозяйственных культур.

Выводы. Для предотвращения массового размножения цистообразующих нематод, насыщенность севооборотов растениями-хозяевами не должна превышать: зерновые колосовые — 40%, свекла, рапс и другие масличные капустные культуры — 20%, многолетние травы — 20%, картофель — 15%. Соблюдение сбалансированного органо-минерального питания сельскохозяйственных культур является одним из основных факторов повышения урожайности в очагах распространения гетеродерид. Вовлечение в круговорот питательных органических веществ альтернативных удобрений оказывает также положительное воздействие на активацию жизнедеятельности природных антагонистов цистообразующих нематод.

Литература

1. Бабич А.Г., Бабич А.А. Интегрированная защита сахарной свеклы от свекловичной нематоды // Российский Паразитологический Журнал. — 2014. — В4. — С. 117-124.
2. Буторина Н.Н., Зиновьева С.В., Кулинич О.А. // Прикладная нематология. — М.: Наука, 2006. — 350 с.
3. Кирьянова Е.С., Кралль Э. Л. // Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. — Л., 1969. — Т. 1. — 447 с.
4. Сагитов А.О. Перевертин К.А. Фитогельминтология — сельскохозяйственному производству.- Алма-Ата: Кайнар, 1987. — 183 с.
5. Скарбилович Т.С. Свекловичная нематода и меры борьбы с ней // Труды ВИГИС. — М., 1960, — Т.8. — С. 9-207.
6. Шестеперов А.А., Шавров Г.Н. // Выявление и учет фитогельминтозов. — Воронеж, 1984. — 86 с.

References

1. Babich A.G., Babich A.A. Integrated protection of sugar beet from beet cyst nematode. *Rossiyskiy Parazitologicheskii Zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2014, no. 4, pp. 117-124.
2. Butorina N.N., Zinov'eva S.V., Kulinich O.A. *Prikladnaya nematologiya* [Applied nematology]. M., Nauka, 2006. 350 p.
3. Kir'yanova E.S., Krall' E. L. *Paraziticheskie nematody rasteniy i mery bor'by s nimi*. [Plant-parasitic nematodes and measures of fight against them]. L., 1969, vol. 1. 447 p.
4. Sagitov A.O. *Perevertin K.A. Fitogel'mintologiya — sel'skhozajstvennomu proizvodstvu* [Phytohelinthology for the agricultural production]. Almaty, Publ. Kainar, 1987. 183 p.
5. Skarbilovich T.S. Sugar beet cyst nematode and measures of fight against it. *Trudy VIGIS* [Proc. of VIGIS]. M., 1960, vol. 8, pp. 9-207.
6. Shestepеров A.A., Shavrov G.N. *Vyyavlenie i uchet fitogel'mintozov* [Diagnosis and registration of phytohelminthiasis]. Voronezh, 1984. 86 p.



Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23084

Received 01.11.2016

Accepted 28.11.2016

THE CONCEPTUAL BASIS OF INTEGRATED, ENVIRONMENTALLY
FRIENDLY SYSTEM FOR THE PROTECTION OF MAJOR CROPS
FROM CYST NEMATODES

Babich A.G., Babich A.A.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 03041 Kiev, 15 Heroev
Oborony St., e-mail: babich200@yandex.ru

Abstract

Objective of research. To elaborate a framework for integrated protection of agricultural crops from oat, sugar beet, Golden potato, alfalfa and clover nematodes.

Materials and methods. The effectiveness of different anti-nematode measures was studied in 1991-2016 in Vinnyza, Kiev, Sumy, Chernigov and other regions of Ukraine. As research material served samples of soil, plants; eggs, larvae, imago; beet, oat, Golden potato, alfalfa and clover cyst nematodes. Preparation of temporary and permanent slides, determination of the species composition of cyst nematodes were carried out by standard methods [3, 6].

Results and discussion. The framework of integrated protection of agricultural crops from oat, sugar beet, Golden potato, alfalfa and clover nematodes has been elaborated. To prevent mass reproduction of cyst-forming nematodes, the saturation of crop rotations with host plants must not exceed 40% — with cereal grains; 20% — beet and oilseed Brassica (canola, radish, and mustard); 15% — potatoes; 20% — perennial legumes. Involvement of crops and green manure in the by-products cycle has a positive effect on the level of soil fertility and activation of life activity of natural antagonists of Heteroderidae.

Keywords: cyst nematodes, host plants, crop rotations, a complex of protective measures.

© 2016 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 (CA-BI.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: 10.03.2016
Принята в печать: 28.11.2016

УДК 632.651:581.1
DOI: 10.12737/23085

Для цитирования:

Удалова Ж.В., Зиновьева С.В. Индуцированная устойчивость растений как альтернатива химическим средствам защиты растений // Российский паразитологический журнал. М., 2016. — Т. 38. — Вып. 4. — С. 575–582

For citation:

Udalova Zh. V., Zinovieva S. V. Induction of plant resistance to nematodes sedentary biogenic elicitors. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4, pp. 575–582

ИНДУЦИРОВАННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ КАК АЛЬТЕРНАТИВА ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Удалова Ж.В.^{1,2}, Зиновьева С.В.²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрыбина, 117218, Москва, ул. Б.Черёмушкинская, д.28, e-mail: udalova.zh@rambler.ru

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

Реферат

На системах картофель — *Globodera rostochiensis* и томаты — *Meloidogyne incognita* показано, что обработка семян томатов и клубней картофеля перед посадкой биогенными индукторами (хитозаном, жасмоновой и салициловой кислотами по отдельности и в сочетании с хитозаном) индуцирует системную устойчивость (СИУ) восприимчивых растений и популяция нематод на растениях, обработанных этими препаратами в определенных концентрациях, проявляла признаки морфо-физиологического угнетения. Показано, что механизм действия СИУ связан с изменением тех же защитных механизмов, которые отмечены при естественном иммунитете растений к нематодам. Применение для повышения устойчивости растений исследованных биогенных индукторов удовлетворяет требованиям нового поколения препаратов для защиты растений и их использование может быть перспективным.

Ключевые слова: нематоды, системная индуцированная устойчивость, хитозан, салициловой кислота, жасмоновая кислота.

Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 38, Iss. 4

DOI: 10.12737/23085

Received 10.03.2016

Accepted 28.11.2016

INDUCTION OF PLANT RESISTANCE TO NEMATODES SEDENTARY BIOGENIC ELICITORS

Udalova Zh. V.^{1,2}, Zinovieva S. V.¹

¹All-Russian K.I. Skryabin Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants, Russia, 117218, Moscow, Bolshaya Cheriomuskinskaya st., 28, e-mail: udalova.zh@rambler.ru

²Centre of Parasitology, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Russia, 119071, Moscow, Leninskij prospect, 33, e-mail: zinovievas@mail.ru



Abstract

Objective of research: to study the mechanisms of induced tomato plant resistance to root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and potato to cyst nematode *Globodera rostochiensis*.

Materials and methods: The biogenic elicitors — chitosan and signal molecules — SA, JA for the modulation of immune plant responses were used. In experiment 1, tubers of potato cultivars Istrinskii (PCN-susceptibility) and Krintsa (PCN-resistant), were treated with aqueous solutions of the immunomodulators at the specified concentrations. A low molecular weight soluble chitosan and acetylation degree of 15% and signal molecule — SA was used as an elicitor. In experiment 2, system tomato *M. incognia* was studied. Water solutions of chitosan, signal molecules: SA, JA were used for treatment of tomato seeds for 2 h and then the seeds were planted in sterile soil. The control plants were treated with water. Cultivation of plants was carried out by the standard technique. Plants were maintained in a greenhouse long enough for the nematodes to complete their life cycle. Development of nematodes in the processed plants estimated on morphophysiological and population characteristics. Biochemical indicators of roots and leaves of tomatoes estimated for 14 days after infection of plants. Previously identified major biochemical indicators of the plants in the genome that contain genes that determine the resistance of plants. The effects of biogenic elicitors on plant resistance were also evaluated by some metabolic changes related to natural plant resistance to tomato and potato to plant nematodes. These indicators were studied in clarifying mechanisms of induced resistance.

Results and discussion: Biogenic elicitors induce systemic resistance of plants to plant parasitic nematodes — *Meloidogyne incognita* and *Globodera rostochiensis* (decrease in the parasitic invasion of the roots; an inhibition of the vital activity of the parasite; a decrease in fertility and the amount of agents sources (larvae and eggs) capable of infecting the plants). The addition of signal molecules (salicylic and jasmonic acid) to elicitors increased their activity as immunomodulators. In present investigation, the mechanisms of induced plant resistance nematode were studied. The data obtained suggest that the mechanisms natural and induced by biogenic elicitors tomato resistance to the nematode have the same origin. These features meet all requirements of the new generation of methods of plant protection and the use of biogenic elicitors to raise plant resistance to parasitic nematodes may be promising.

Keywords: nematodes, systemic acquired resistance, elicitors, signal molecules, chitosan, salicylic acid, jasmonic acid.

Introduced

Plants are often exposed to biotic stresses derived from viruses, bacteria, fungi, nematodes, and insects that can endanger crop yields and cause relevant economic losses.

Plant-parasitic nematodes are pests of a wide range of economically important crops, causing severe losses to agriculture, incurring estimated economic losses in excess of €100 billion/year in worldwide. Sedentary cyst and root knot nematodes are obligatory parasites of a wide range of crops. Sedentary nematodes which cause characteristic formations on roots, galls or root-knots, and cyst-forming ones which females transform into cysts at the last stage of their life cycle, have been of great economic importance and a subject for intent studies of nematologists and phytopathologists worldwide. These sedentary endoparasites start a lasting relationship with their host plant; the nematodes force the plant to create an exclusive feeding site located in the plant root. For growth and development, the nematode fully depends on this food source.

Potato cyst nematode (PCN) *Globodera rostochiensis* is classified with the most dangerous and economically significant pathogens of the family Solanaceae. This nematode decreases the yield of potato (to 60%), worsens the quality and marketable condition of tubers, as well as enables potato infection with other diseases. PCN is a sedentary endoparasite of potato roots, fighting with which is hampered due to the good adaptation of the parasite to environmental conditions, long (10 to 15 years) lifespan of cysts in the absence of the host plant, and the threat of occurrence of aggressive pathotypes in the case of reduction of nematode-resistant potato varieties in a monoculture.

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are one of the most important plant parasitic nematodes of great economic importance which reduce the quantity and the quality of the yields of many cultivated and wild plants everywhere (in tropical, subtropical and temperate regions).



Root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* — parasitize the root systems of a wide variety of crops, including cultivated tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill).

High level of adaptation to the parasitism of the nematode, complicates the control of these parasites. In many crops including potato, sugar beet and a range of vegetables, this small parasite is so successful that populations need to be controlled. Their adaptation to parasitism is so perfect that in many cases control strategies have been unsuccessful.

Currently, three main options are available for sedentary nematode control: i) crop rotation, ii) chemical control, and iii) the use of resistant host plant varieties. Genetically based resistance may be a simple and efficient solution to protect plants against pathogens and pests.

R-mediated resistance to nematodes correlates with hypersensitivity reactions, which is characterized by the rapid local death of plant cells at sites of penetration of nematodes and is accompanied by the accumulation of toxic products in the necrotic dead cells. The invading pathogen dies together with cells.

The new ecologically safe direction in plant protection based on the induction of plant resistance using the corresponding natural mechanism — i. e., systemic induced resistance (SAR) — is developed successfully during the last 10–20 years [3]. Using resistance induction in plants, it is planned to substitute or at least decrease the adverse effect of pesticides, which are now used in large volumes for treating agricultural crops. Various compounds (oligosaccharides, glycoproteins, fatty acids, and other substances) induce resistance in plants; they were named elicitors. SAR activated under the influence of metabolites of plant pathogens and various biotic and abiotic factors and reflecting a certain adaptive potential of the organism.

As known chitosan and its derivatives are elicitors or signal-transducing molecules involved in the regulation of expression of a broad array defence genes [7]. Numerous attempts have been made to use chitosan and other oligomers as elicitors of plant protection from various diseases including against nematodes [8, 11]. It is known that several chito-oligomers are able to bind to the receptor site on the membrane of plant cells [9]. SAR in plants activated the same defense mechanisms that operate in genetically determined resistance, but unlike this degree of protection, usually, does not exceed 20%.

One of the possibilities to elevate the efficiency of elicitor-induced defense is to supplement the elicitor with systemic signal molecules, such as jasmonic acid (JA), jasmonate methyl ester, salicylic acid (SA), ethylene, systemin, oligosaccharins, or some other compounds. It is known that the process of recognition of elicitors is mediated by signalling systems that determine the response of cells to various chemical and physical effects. For example SA and JA are important mediators in the transmission of stress signals in the genome of plant cells [2]. It was shown that application of JA and SA to tomato foliage induces systemic effects that suppress root-knot nematode infestation [18]. It is considered that the concentration of these substances increases at the site of infection by an incompatible pathogen or treatment with elicitor with subsequent transport of these substances or their derivatives via the phloem to various parts of the plant (or its organ) where they induce the defensive effects.

It is now recognized that the regulation of the number of phytopathogens by specific elicitors may be an addition or alternative to chemical methods of protection, since, unlike the latter this method does not cause damage to the environment. SAR continuously protects plants against broad spectrum of pathogens, including viruses, bacteria, fungi, and oomycetes.

Materials and methods

In present investigation the mechanisms of induced tomato plant resistance to root-knot nematode *M. incognita* (Kofoid et White, 1919) Chitwood, 1949 and potato to cyst nematode *G. rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 were studied.

The biogenic elicitors — chitosan and signal molecules — SA, JA for the modulation of immune plant responses were used.

In experiment 1, tubers of potato cultivars Istrinskii (PCN-susceptibility) and *Krinitza* (PCN-resistant), were treated with aqueous solutions of the immunomodulators at the specified concentrations. A low molecular weight soluble chitosan with an average molecular weight of 5 kDa and acetylation degree of 15% and signal molecule — SA (7×10^{-7} – 7×10^{-8} M) [5] was used as an elicitor. In experiment 2, system tomato *M. incognita* was studied. In this work we

used tomato resistant hybrids Shagane (resistance index (RI)- 100%) and susceptible Gamayun (RI — 30%).

Water solutions of chitosan, signal molecules: SA, JA ($10^{-7}M$ — $10^{-4}M$) were used for treatment of tomato seeds for 2 h and then the seeds were planted in sterile soil. The control plants were treated with water. Cultivation of plants was carried out by the standard technique [14]. Plants were maintained in a greenhouse ($\sim 24-27$ °C; 16 : 8 L : D photoperiod) long enough for the nematodes to complete their life cycle (6,5 wk). Development of nematodes in the processed plants estimated on morphophysiological and population characteristics. Biochemical indicators of roots and leaves of tomatoes estimated for 14 days after infection of plants.

Previously identified major biochemical indicators of the plants in the genome that contain genes that determine the resistance of plants (R-genes) [10, 16]. The resistance of plants to phytopathogens is known to be related to a multicomponent defense response. The effects of biogenic elicitors on plant resistance were also evaluated by some metabolic changes related to natural plant resistance to tomato and potato to plant nematodes. These indicators were studied in clarifying mechanisms of induced resistance.

The activities of enzymes were measured as described in [11]. Colloidal chitin (10 mg/ml) and laminarin were used as substrates for chitinase (EC 3.2.1.14) and β -1,3-glucanase (EC 3.2.1.39) activities. The specific activities of these enzymes were expressed in micromoles of N-acetylglucosamine and glucose formed per mg protein in 1 min, respectively. Lipoxygenase (LOX, EC 1.13.1.13) activity was spectrophotometrically using linoleic acid as a substrate [6]. The activity of phenylalanine ammonium lyase (PAL EC 4.3.1.5) the method described earlier in our modification [5] was determined spectrophotometrically (290 nm) by the formation of trans-cinnamic acid ($\mu M/g$ protein for hour) (phenylalanine was as substrate). Proteinase inhibitors (PIs) were assayed by the inhibition of trypsin activity. The PI activity in leaves and roots was estimated at the level of suppression of the amidase activity of trypsin using benzoylarginine paranitroanilide (BAPA) in accordance with Erlanger's method [4]. Sterols were isolated from tomato roots as described [15]. Fractions of free sterols were identified by high-performance liquid chromatography. The determination of phytoalexin — rishitin was performed as determined as described before [1].

Results and discussion

On the most reliable parameters characterizing the degree of potato resistance to *G. rostochiensis* is the number and size of cysts of this nematode in soil at the end of experiment, as well as the number of eggs in cysts (Table 1).

Table 1

Effect of biogenic elicitors on morphophysiological parameters of *G. rostochiensis*

Treatment	Krinitsa (R)			Istrinskii (S)		
	Cyst size, mm	Number of eggs per female	Number of cysts per 100 g soil	Cyst size, mm	Number of eggs per female	Number of cysts per 100 g soil
Control	0,129	0	33	0,164	71	180
Chitosan	0,115	0	0	0,144	59	81
SA	0,130	0	25	0,188	51	85
Chitosan +SA	—	0	0	0,129	61	60
LSD at $P \leq 0,05$	0,010			0,015	10	15

As evident from this table, the highest resistance was exhibited by cultivar *Krinitsa*, on roots of which *G. rostochiensis* formed immature eggs containing no cysts. On the roots of *Istrinskii* in the control found a large quantity of cysts. Biogenic elicitors (5 kDa chitosan and SA) induced protective effects. The low molecular weight water-soluble chitosan + SA displayed the maximum protective activity. This order of arrangement of potato plants with respect to their resistance



to *G. rostochiensis* correlated well with a decrease in the size of cysts and the fertility of nematodes. Thus, treatment with immunomodulators makes it possible to vary the resistance and corresponding sensitivity of potato to *G. rostochiensis*. The results are indicative of the possibility of such influence in principle. It cannot be ruled out that other effective elicitors will be able to induce a higher resistance of potato to *G. rostochiensis*, which imparts practical significance to these studies. Elicitors was induced the resistance of potato plants to *G. rostochiensis* not only at the site of treatment (surface of potato tubers), but also throughout the tuber and roots (Table 1). Systemic resistance to diseases, which involves all plant or organ tissues independently of the site of localization of phytopathogens or elicitors, is more important to agriculture than local resistance.

Analysis of the immune potential of plants tomato of susceptible cultivar grown from elicitor-treated seeds demonstrated that their defense responses to invasion by nematodes are similar to those of constitutively resistant cultivar. The treatment of tomato seeds with chitosan significantly suppressed the number of galls and eggs produced and increased duration of nematode development. The elicitors exhibited maximum efficiency when used in combination with signal molecules (SA and JA) (Table 2).

Table 2

The effect of elicitors and signal molecules on the development of tomato plants and *M. incognita*

Concentration, M	Stem weight, g	Stem length, cm	Number of galls/plant	Number of eggs/egg-suck
JA (10^{-7})	68,2	73,6	324	108
SA (7×10^{-8})	141,0	147,0	413	189
Chitosan (100 µg/ml)	86,0	124,3	193	99
Chitosan (100 µg/ml)+JA(10^{-7})	73,8	75,2	201	76
Chitosan (100 µg/ml)+SA (7×10^{-8})	103,3	128,5	144	68
Control infected	45,3	58,8	470	144
Control health	59,3	62,3	–	–
LSD ($P=0,05$)	24,7	18,3	73	108

At the next stage of this study, we attempted to determine the activity of some enzymes, which, according to previous data, are involved in plant tissue responses. For this purpose, the leaves of infected plants were assayed for the activity of PAL, since it is regarded as the key enzyme in the synthesis of phenylpropanoids, which are involved in the biogenesis of lignin, certain phytoalexins, and SA.

Catalase regulates hydrogen peroxide concentration in plant tissues, which, according to modern ideas, implements the role of a secondary messenger in plants, inducing a systemic cascade of defensive responses. Catalase is the major enzyme catalyzing degradation of hydrogen peroxide, the most stable and mobile reactive oxygen species (ROS). ROS produce toxic effects on pathogens by inducing destructive processes in cell membranes. Moreover, they play the role of messengers in transduction of signals to protective gene expression. of activity of LOX, which leads to the formation of signal molecules, taking part in transduction process and are involved in the formation of plants metabolites — signal molecules mediating the effects of elicitor. It is known that LOX catalyzes the initial stages of their synthesis. It is shown that jasmonates initiate protective reactions of tomato plants by enhancing the effects of biological elicitors.

Data on catalase and PAL activity in leaves of infected plants summarized in Tables 3 and 4. However, a fairly distinct correlation in catalase activity in potato leaves was observed. Under the influence of chitosan, catalase activity drastically decreased. Apparently, as a result of the suppression of the activity of catalase in tissues with induced resistance is sufficient concentration of hydrogen peroxide, which as a secondary messenger induces systemic resistance.

Table 3

Catalase and PAL activity in eaves of infected potato plants

Treatment	Catalase activity, $(\mu\text{M H}_2\text{O}_2 / (\text{mg protein} \cdot \text{min}))$	PAL activity, mM cinnamic acid/(mg protein h)
Water (control)	0,310	1,8
Chitosan	0,137	2,7
LSD at $P \geq 0,05$	0,046	0,51

Table 4

PAL and LOX iactivity in leaves of tomatoes infested by the root-knot nematode

Treatment	PAL activity in leaves μM cinnamic acid/ (mg protein h)	LOX activity, $\Delta\text{D}_{234} \text{min}^{-1}$
Control (water)	1,6	0,38
SA	3,3	–
JA	1,7	0,58
Chitosan	4,2	0,52
Chitosan + SA	–	0,78
Chitosan + JA	2,0	0,62
LSD at $P \geq 0,05$	0,98	0,14

Another important defense reaction is the formation of PR proteins in tissues of resistant plants infected by fungi, bacteria, and viruses or treated with elicitors. Chitinase and β -1,3-glucanases are the most extensively studied. These enzymes probably destroy cell walls in phytopathogens and are involved in the formation of oligosaccharides that regulate plant immune reactions.

It is known that higher plants do not have, or contain only minor amounts of, chitin and chitosan. However, enzymes cleaving these substances are abundant in higher plants. Under normal conditions, plants contain only minor quantities of chitinase and chitosanase. The content of these enzymes sharply increases under the effects of biotic and abiotic stress factors. After treatment of elicitors increased β -1,3-glucanase and chitinase activities in plants (Table 5).

Table 5

Activities of β -glucanase and chitinase in tissues of potato treated with chitosans (500 $\mu\text{g/ml}$) and water (control)

Treatment	Activity, $\mu\text{M}/(\text{min mg protein})$	
	β -1,3-glucanase	chitinase
Chitosan, 5 kDa	0,067	0,053
Control	0,029	0,052

Chitosan with a molecular weight of 5 kDa increased β -1,3-glucanase and chitinase activities in potato tubers.

Earlier studies have shown that activity of chitinase and β -1,3-glucanase in leaves of tomato plants, seeds of which were treated by chitosan, increased on 312% and 34% in comparison control, according [17].

The roles of proteinases and their inhibitors in the formation of protective reactions of plants to parasitic invasions is actively discussed interactions in modern scientific literature. Proteins inactivating the enzymes of pathogens are involved in plant protection from microorganisms. The protective function of PIs has attracted much attention in recent research.



The PI activity in leaves and roots of tomato resistant and susceptible cultivars was determined at 14th day after invasion [10]. The invasion of plants treated with JA caused an increase in the PI activity in leaves of both cultivars and the greatest change was observed in plants of the susceptible species (80%). In leaves of resistant tomatoes treated with JA, the invasion caused an increase in the PI activity by 29%. In roots of both Gamayun (S) and Shagane (R) cultivars treated with JA, during the invasion, there was a considerable increase in the PI activity (by factors of more than 2,5 and 2,2, respectively in susceptible and resistant cultivars) in comparison with non-invaded plants treated with JA. The study of plants invaded by gall nematodes showed that the treatment with JA decreased the invasion of tomato roots susceptible to the root-knot nematode (the number of galls in roots decreased by 31%), but the weight of the aboveground part was considerably higher compared to untreated plants (Table 2). These data agree with the data on the role of proteinases in the life of root-knot nematodes: it has been shown that proteinases of *M. incognita* participate in different processes during the whole life of the nematode, such as feeding, reproduction, and embryogenesis. Our data demonstrate that PIs are components of plant protection against root-knot nematodes.

One of the most important defenses of plant tissues against phytopathogens is their ability to produce low molecular weight antibiotics, phytoalexins, which are *de novo* synthesized in response to incompatible pathogens or races of pathogens and elicitors. Phytoalexins at toxic concentrations inhibit the growth and development of phytopathogens. It was shown that the 5 kDa chitosan, which was the most potent in protecting potato from plant parasitic nematode *Ditylenchus destructor* [13], induced the formation of the greatest amount of the phytoalexin — rishitin (Table 6).

Table 6

Induction of rishitin in potato tubers treated with chitosans 5 kDa

Chitosan concentration, mg/ml	0,1	1,0	3,0
Rishitin, mg/ml	0	8	40

No rishitin production was detected in control roots of tomato (Table 7). It is interesting that its level and appearance (over 40 µg/g within five days after invasion in case of pretreatment with chitosan differed from those in resistant cultivars [13].

Table 7

Induction of rishitin in potato tubers treated with chitosans 5 kDa

Chitosan concentration, mg/ml	0,1	1,0	3,0
Rishitin, mg/ml	0	8	40

Sterols as known play a special role in interactions of plants with parasitic nematodes, which are auxotrophs in relation to sterols, and replenish their deficit by sterols taken from the host tissues. The reproduction of the parasite is especially sterol-dependent. The sterol-dependence of nematodes determines the resistance of tomato plants that deprive the parasite of sterols.

Considerable differences between control and chitosan-treated plants were found in the contents and composition of free sterols. The total level of free sterols in roots of treated tomato plants decreased nearly twofold in comparison to control plants. A study of individual sterol fractions showed that campesterol and sitosterol accounted for this effect; their levels in the roots of treated plants decreased more than in control plants. The level of fucosterol in immunized plants increased considerably. The shares of other sterols in the total fraction changed to a small extent [15].

Reduction of sterols in plant roots is associated with accumulation of sesquiterpene rishitine, that have a common biosynthetic pathway with sterols. It is suggested that terpene biogenesis has switched from a healthy plant sterol formation pathway, to the formation of highly toxic phytoalexins. As a result, the parasite loses necessary nutrients for its development and simultaneously the nematode is affected by plant phytoalexins [12].

Thus, the treatment of potato tubers and tomato seeds by biogenic elicitors and composition of elicitors with signal molecules induced SAR in plants to sedentary nematodes simultaneously produced the following effects: a decrease in the parasitic invasion of the roots; an inhibition of



the vital activity of the parasite; a decrease in fertility and the amount of agents sources (larvae and eggs) capable of infecting the plants. The data obtained suggest that the mechanisms natural and induced by biogenic elicitors tomato resistance to the nematode have the same origin. These features meet all requirements of the new generation of methods of plant protection and the use of biogenic elicitors to raise plant resistance to parasitic nematodes may be promising. More knowledge about the resistance induction mechanism involved in inducer treatments of tomato seeds to acquire systemic resistance to plant parasitic nematodes could enhance the development of a new biologically and environmentally safe method for the sustainable management of these important plant pathogens.

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project №15-04-04625_a.

Reference

1. Avdyushko S.A., Bezzubov A.A., Chalova L.I., Ozertskovskaya O.L. Definition of phytoalexins potato rishitin and lúbimin using gas-liquid chromatography. New techniques of practical biochemistry. — Moscow: Nauka, 1988, S. 156–159 (in Russian)
2. Tarchevskii I.A. Signal'nye sistemy kletok rastenii (Signaling Systems of Plant Cells). — Moscow: Nauka, 2002, 294 p. (in Russian)
3. Durrant W.E., Dong X. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopath.* 2004, Vol. 42, p.185–209.
4. Erlanger B.F., Kokowsky N., Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1961, Vol. 95, p. 271–278.
5. Gerasimova N.G., Pridvorova S. M., Ozeretskovskaya O. L. Role of phenylalanine ammonia lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. // *Appl. Biochem. Microbiol.* — 2005, Vol. 41, p.103–105.
6. Il'inskaya L.I., Gerasimova N.A., Perekhod E.A. et al., Lipoxygenase activity in plants with induced resistance to diseases. // *Russ. J. Plant Physiol.* — 2000, Vol. 47, p. 449–455.
7. Muzzarelli R., Roccheti R. Chitin in Nature and Technology. — New York: Plenum, 1986, p. 385–386.
8. Ozeretskovskaya O.L., Vasyukova N.I., Gerasimova N.A. Potato Resistance Induced by Chitosan Derivatives. // *Doklady Biological Sciences.* — 2009, Vol. 427. p. 355–357.
9. Shibuya N., Kaku H., Kuchitsu K. et.al. Localization and binding characteristics of a high-affinity binding site for N-acetylchito-oligosaccharide elicitor in the plasma membrane from suspension-cultured rice cells suggest a role as a receptor for the elicitor signal at the cell surface. // *Plant Cell Physiol.* — 1996, Vol. 37, p. 894–898.
10. Udalova Zh.V., Revina T.A., Gerasimova N.G., Zinovieva S.V. Participation of Proteinase Inhibitors in Protection of Tomato Plants against Root-Knot Nematodes. // *Doklady Biological Sciences.* — Vol. 458, No 6, p. 726–729 DOI: 10.12737/23 10.1134/S0012496614050147
11. Vasyukova N.I., Il'inskaya L.I., Perekhod E.A. et al. Modulation of plant resistance to diseases by water-soluble chitosan. // *Applied Biochemistry and Microbiology.* — 2001, Vol. 37, p. 103–109.
12. Zinovieva S.V. Co-daptation mechanisms in plant — nematode systems. // *Parasitology.* — 2014, Vol. 48, p.110–130.
13. Zinovieva S.V., Chalova L.I. Phytoalexins of potato and their role in the resistance to stem nematodes. // *Helminthologia.* — 1987, V. 24, p. 303–309.
14. Zinovieva S.V., Ozeretskovskaya O.L., Il'inskaya L.I. et al. Biogenic elicitor (arachidonic acid) induced resistance in tomato to *Meloidogyne incognita*. // *Russ. J. Nematol.* — 1995, Vol. 3, p. 65–67.
15. Zinovieva S.V., Vasyukova N. I., Ozeretskovskaya O.L. Involvement of plant sterols in the system tomatoes *Meloidogyne incognita*. // *Helminthologia.* — 1990, Vol. 27, p. 211–216.
16. Zinovieva S.V., Vasyukova N.I., Ozeretskovskaya O.L. Biochemical aspects of plant interactions with phytoparasitic nematodes: a review. // *Applied Biochemistry and Microbiology.* — 2004, Vol. 40. p. 111–119.
17. Zinovieva S.V., Vasyukova N.I., Udalova Zh.V. et al. Induction of systemic resistance of tomato to root-knot nematodes by biogenic elicitors. Induced resistance in plants against insects and diseases. // *IOBC-WPRS Bulletin.* — 2012, Vol. 83, P. 281–284.
18. Zinovieva S.V., Vasyukova N.I., Udalova Zh.V., Gerasimova N.G. The participation of salicylic and jasmonic acids in genetic and induced resistance of tomato to *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919). // *Biology Bulletin.* — 2013, Vol. 40, p. 297–303. DOI: 10.12737/23 10.1134/S1062359013030126/

© 2016 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 (CA-BI.org/Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)