

На правах рукописи

Ситникова Раиса Сергеевна

**АССОЦИАТИВНЫЕ ИНВАЗИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО
ТРАКТА ЛОШАДЕЙ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ
(ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА, МЕРЫ БОРЬБЫ)**

03.02.11 – паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2021 г.

Работа выполнена на кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Научный руководитель: **Гаврилова Надежда Алексеевна**
доктор ветеринарных наук, доцент

Официальные оппоненты: **Енгашев Сергей Владимирович**, академик РАН, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», профессор кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы.

Колесников Владимир Иванович, доктор ветеринарных наук, профессор, Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», главный научный сотрудник лаборатории ветеринарной медицины

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ)

Защита состоится «___» _____ 2021 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д. 5, тел/факс (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5. и на официальном сайте: <https://spbguvm.ru>.

Автореферат разослан: «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Надежда Викторовна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность темы исследования. В настоящее время наряду с использованием лошадей в сельском хозяйстве получает развитие конный спорт, прокат лошадей в городских условиях и конный туризм. Развитию коневодства препятствуют паразитарные болезни, что подтверждают работы Л.А. Бундиной (2012), В.А. Вислобокова (2007), А.Н. Герке (2007), Е.В. Ермаковой (2018), О.Л. Куликовой (2009), О.О. Муромцевой (2001), М.Б. Мусаева (2014), Г.Н. Худова (2002), И.С. Шаровой (2007) и др.). Контроль эпизоотической ситуации по паразитарным болезням необходим для своевременного выявления источника инвазии и проведения лечебно-профилактических мероприятий. Исследования паразитофауны желудочно-кишечного тракта лошадей, проводимые в различные годы в Ленинградской области (А.Н. Герке, 2002-2005; Е.В. Ермакова, 2017-2019), были направлены преимущественно на выявление гельминтов и их идентификацию, но не учитывали возможные ассоциации паразитов. Изучению распространения гастрофилеза лошадей и разработке мер борьбы с желудочными оводами посвящены работы ряда исследователей, таких как: в Центральном ФО – И.А. Волкова (2009), в Северном Зауралье – В.А. Габрузя (2000), в Алтайском крае – В.Д. Некрасова (2003), в Республике Саха (Якутия) – Г. Т. Хохоловой (2008). В Ленинградской области изучение эпизоотической ситуации по гастрофилезу не проводилось более 25 лет.

Эффективность мероприятий, направленных на борьбу с инвазиями, вызываемыми паразитами желудочно-кишечного тракта лошадей, зависит от особенностей эпизоотического процесса конкретного региона, своевременной диагностики, терапии и профилактики болезней. Несмотря на проведенные изыскания по внедрению новых препаратов широкого спектра действия, желаемый результат лечения животных не достигнут. Одной из причин недостаточной эффективности мероприятий по борьбе с инвазиями лошадей многие исследователи (Б.Ц. Дашинамаев, 2007; М.Х. Джафаров, 2017; С.В. Енгашев, 2018; Т.А. Кузьмина, 2002; К.М. Мирзоева, 2018, Voersema J.H., 2002; Kaplan R.M., 2012; Matthews J.V., 2014; Pook J.F., 2002 и др.) связывают с формированием резистентных популяций гельминтов и членистоногих к используемым препаратам.

Разработка мер борьбы с ассоциативными инвазиями желудочно-кишечного тракта лошадей с учетом особенностей эпизоотического процесса в условиях Ленинградской области, с применением препаратов, обладающих широким спектром действия, терапевтической эффективностью, удобных в применении, отвечающих требованиям безопасности определили направление данных исследований

1.2 Степень разработанности темы. Изучению ассоциативных инвазий желудочно-кишечного тракта лошадей посвящены работы многих исследователей. В различных регионах России данную тему изучали Дашинамаев Б.Ц. (2008) – Забайкальский ФО, Куликова О.Л. (2009) –

Нижегородская область, Некрасов В.Д (2002) – Алтайский край, Петров Ю. Ф. (2004) – центральный район Нечерноземья, Полков В. В. (2001) – Зауралье, Самигуллин Р.Н. (2008) – Республика Башкортостан. В работах Герке А.Н. (2005-2007), Ермаковой Е.В. (2017-2019), проводивших изучение эпизоотической ситуации по гельминтозам лошадей в Ленинградской области, установлена паразитофауна, возрастная и сезонная динамика гельминтозов, но не изучено формирование ассоциаций возбудителей. Кроме того, в литературных источниках нет данных за последние десятилетия по эпизоотической ситуации по гастрофилезу лошадей в Ленинградской области.

При ассоциативной инвазии лошадей гельминтами и личинками оводов рода *Gastrophilus* предложены комплексы диагностических мероприятий, но их усовершенствование остается актуальной задачей. Разработке способов лечения лошадей при ассоциативных инвазиях желудочно-кишечного тракта посвящены исследования Айтуганова Б.Е. (2007), Дашиманиева Б.Ц.(2007), Джафаров М.Х (2017), Енгашева С.В. (2018,2019), Куликовой О.Л. (2009), Латко М.Д. (2006), Мурамцевой О.О. (2003), Мусаев М.Б. (2014), Полкова В.В. (2001), Синякова М.П. (2013), Шаровой И.С. (2007), Kaplan R.M. (2014), Lyons E.T. (2016) и других ученых. В настоящее время имеется широкий спектр противопаразитарных препаратов, применяемых при инвазионных болезнях, обладающих не всегда достаточной терапевтической эффективностью. После длительного применения препаратов, имеющих действующие вещества из одной фармакологической группы, отмечено формирование у паразитов резистентности к ним, о чем отмечено в работах отечественных и зарубежных авторов (Кузьмина Т.А., 2002; Brazik E.L. (2006), Voersema J.N. (2002), Kaplan R.M. (2012), Matthews J.V. (2014), Pook J.F. (2002) и др. Разработка мер борьбы с ассоциативными инвазиями желудочно-кишечного тракта лошадей, основанных на знании эпизоотического процесса, точной и своевременной постановке диагноза и назначении эффективных препаратов крайне необходимы.

Решение существующей проблемы определило цель и задачи исследования.

1.3 Цель и задачи исследования. Целью исследования стало изучение эпизоотической обстановки по ассоциативным инвазиям желудочно-кишечного тракта лошадей в Ленинградской области и разработка способа лечения животных.

Для достижения указанной цели поставлены следующие задачи:

1. Изучить распространение, сезонную динамику, возрастные аспекты гастрофилеза и нематодо-гастрофилезной инвазии лошадей в Ленинградской области.
2. Установить ассоциации возбудителей, вызывающие микстинвазии желудочно-кишечного тракта лошадей.
3. Усовершенствовать способы диагностики инвазий желудочно-кишечного тракта лошадей.

4. Изучить терапевтическую эффективность и возможное побочное действия раствора для перорального применения «Иверсан» при гастрофилезе и нематодо-гастрофилезной инвазии лошадей.
5. Определить сроки проведения лечебно-профилактических обработок лошадей при ассоциативной нематодо-гастрофилезной инвазии для коневодческих хозяйств Ленинградской области.

1.4 Научная новизна. В Ленинградской области после длительного временного промежутка благополучия по гастрофилезу у лошадей диагностирован миаз, вызванный паразитированием *Gastrophilus intestinalis*.

Установлены двух, трех и четырехкомпонентные микстинвазии, отличающиеся по ассоциациям в небольших частных хозяйствах, конноспортивных клубах и на конном заводе.

Разработана модель штатива для пробирок, позволяющая повысить удобство проведения исследований. Получен Патент на изобретение № 2733515, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 02 октября 2020 г. (Бюл. №28).

Сканирующей электронной микроскопией выявлены морфологические дефекты личинок стронгилят (L 3).

Для лечения лошадей при гастрофилезе и нематодо-гастрофилезной инвазии впервые использован раствор для перорального применения «Иверсан», содержащий в качестве действующего вещества в 1,0 мл раствора 40,0 мг ивермектина.

Установлена эффективность препарата «Иверсан» на ларвальные стадии оводов рода *Gastrophilus* в дозе 200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного, задаваемого индивидуально с водой из шприца по беззубому краю на корень языка или с кормом. Отсутствие побочного действия препарата на организм животных подтверждено результатами клинических и биохимических исследований крови животных. На основании полученных данных внесены дополнения в инструкцию по применению препарата «Иверсан» (Регистрационное удостоверение 77-3-2.19-4435№ ПВР-3-12.15/03238).

1.5 Теоретическая и практическая значимость работы.

Полученные данные по особенностям развития эпизоотического процесса при ассоциативных инвазиях желудочно-кишечного тракта лошадей дают возможность выявить закономерности возникновения и распространения инвазии в условиях Ленинградской области, что необходимо для определения сроков проведения лечебно-профилактических мероприятий в хозяйствах.

Применение запатентованного штатива для пробирок настольного повышает удобство проведения исследований, так как конструкция штатива позволяет размещать основную информацию о содержимом каждой

установленной пробирки на листе бумаги, вставленном в вертикальный каркас стойки.

Сканирующая электронная микроскопия позволяет выявлять морфологические дефекты у личинок (L3) п/о Strongylata, которые необходимо учитывать при идентификации.

При гастрофилезе и немато-гастрофилезной инвазии рекомендовано использование раствора для перорального применения «Иверсан», содержащего в качестве действующего вещества в 1,0 мл раствора 40,0 мг ивермектина на основании дополнения инструкции по применению препарата «Иверсан» (Регистрационное удостоверение 77-3-2.19-4435№ ПВР-3-12.15/03238).

Результаты исследований используют при чтении лекций и проведении практических занятий по курсу «Паразитология и инвазионные болезни» и научно-исследовательской работе на кафедрах паразитологии им В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Государственный аграрный университет Северного Зауралья, эпизоотологии, паразитологии и микробиологии ФГБОУ ВО Костромская ГСХА, эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Брянский ГАУ.

1.6 Методология и методы исследования. Методологические подходы в решении задач основаны на особенностях жизненных циклов возбудителей инвазий желудочно-кишечного тракта лошадей, проявления эпизоотического процесса в условиях климатической зоны обследуемого региона. При выборе методов исследований и анализе полученных результатов учтены вид, возраст, порода, условия содержания и кормления, вероятные контакты с источниками возбудителей, значение факторов передачи. Объектом исследования служили ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта лошадей. Предмет исследования – это причинно-следственные факторы, определяющие паразитофауну желудочно-кишечных инвазий лошадей в Ленинградской области.

Для проведения исследований использованы следующие методы: паразитологические, клинические, микроскопические, гематологические, биохимические, фармакологические, статистические.

Положения, выносимые на защиту:

1. В Ленинградской области имеются региональные особенности эпизоотического процесса при гастрофилезе и немато – гастрофилезной инвазиях лошадей.
2. Использование штатива для пробирок настольного повышает удобство проведения исследований.

3. Применение сканирующей электронной микроскопии позволяет выявлять морфологические дефекты у личинок п/о Strongylata, которые важно учитывать при идентификации.

3. Препарат «Иверсан», задаваемый лошадям в дозе 1 мл на 200 кг массы животного индивидуально, перорально с водой или с кормом эффективен при гастрофилезе и нематодо – гастрофилезной инвазии лошадей.

4. При нематодо – гастрофилезной инвазии лошадей сроки проведения лечебно-профилактических обработок зависят от особенностей эпизоотического процесса в условиях данного региона.

Апробация работы. Научное направление, методическая основа и результаты исследований доложены и обсуждены на научно-практических конференциях: III Международный V Всероссийский семинар «Здоровье лошади (г. С-Петербург, 2-5 мая 2019 г), III Международном паразитологическом симпозиуме, посвященном 100 – летию кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова «Современные проблемы общей и частной паразитологии» (г. Санкт-Петербург, 18-20 декабря 2019г.); Конкурсе на лучшую работу среди аспирантов и молодых ученых на III Международном паразитологическом симпозиуме (Диплом III степени), XLVII Межвузовской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии», посвященной 136-летию академика Е.Н. Павловского, Санкт-Петербург, ВМА им С.М. Кирова, 24 марта 2020 г.; 74-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне, Санкт-Петербург, СПбГАВМ, 7-14 апреля 2020 г; 75-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной, объявленному в 2021 году президентом РФ Путиным В.В., году науки и технологий, XXII Международная конная выставка «ИППОСФЕРА» (11-13 июня 2021 г.).

Личный вклад соискателя. Представленная диссертационная работа является результатом 3-х лет научных исследований автора и личный вклад состоит в проведении клинических, паразитологических, гематологических исследований. Автор осуществляла постановку и выполнение экспериментов, анализ и интерпретацию полученных результатов, участвовала в написании статей, патента на изобретение № 2733515 «Штатив для пробирок настольный», в производственных условиях изучала эффективность препарата «Иверсан» при гастрофилезе лошадей, возможное его побочного действия на организм животных. Часть исследований и публикации проведены и написаны в соавторстве. Соавторы научных публикаций не возражают против использования в диссертации материалов совместных исследований, что подтверждено справками.

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 7 работ, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 138 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, список использованной литературы, приложение. Иллюстрационный материал диссертации включает 28 рисунков и 9 таблиц. Список использованной литературы включает 188 наименований, в том числе 43 иностранных авторов.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Материалы и методы исследования

Работа выполнена в период с 2018 по 2021 годы на кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ). Эпизоотическую ситуацию по инвазиям желудочно-кишечного тракта лошадей изучали в конноспортивных клубах (КСК), конезаводе (КЗ) и частных хозяйствах Ломоносовского, Всеволожского, Гатчинского, Волосовского, Лужского, Приозерского, Кингисеппского, и Тосненского районов Ленинградской области. Обследовано 568 лошадей.

Для диагностики гастрофилеза в хозяйствах проводили осмотр шерстного покрова лошадей в период с июня по октябрь, слизистой оболочки ротовой полости – с августа по ноябрь, фекальных масс на наличие личинок гастрофилюсов (L 3) – с мая по июль 2018 и 2019 годов. Подсчет яиц гастрофилюсов на волосяном покрове лошадей осуществляли на площади 10 см².

Для диагностики оксиуроза брали содержимое с перианальных складок при помощи ватной палочки, смоченной в 50% глицерине и соскобов с использованием прозрачной клейкой ленты (скотча). Интенсивность инвазии устанавливали подсчетом яиц в отпечатке скотча или мазке. С целью диагностики других гельминтозов пробы фекалий исследовали усовершенствованным методом Дарлинга с использованием универсальной флотационной жидкости и проводили культивирование личинок по методу А.М. Петрова и В.Г. Гагарина. Микроскопическое исследование осадка на предмет обнаружения личинок гельминтов проводили по методике Логиновой О.А. и Беловой Л.М. (2016). Идентифицировали личинок стронгилят проводили при помощи микроскопа «Микмед-6» (ЛОМО, Россия). Съемку осуществляли при помощи зеркальной фотокамеры 5D Mark II (Canon, Япония) и оптико-механического адаптера (ЛОМО, Россия). Определение линейных размеров проводили в программе ImageJ с предварительной калибровкой по объект-микрометру ОМП (ЛОМО, Россия).

Морфологические исследования с использованием сканирующего электронного микроскопа выполняли на оборудовании центра коллективного пользования «Таксон» (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/3038/>). Подготовку личинок

выполняли путем погружения их в жидкость Буэна с последующей отмывкой в спиртах, возрастающей концентрации, и финальной промывкой в ацетоне. После проведения сушки на аппарате CPD-2 (Hitachi, Япония) на личинок наносили слой платины при помощи ионного напылителя IB-5 (Eiko Engineering, Япония). Сканирующую электронную микроскопию осуществляли в лаборатории по изучению паразитических червей и протистов ЗИН РАН при помощи микроскопа Quanta SEM 250 (Thermo Fisher Scientific, США). Изображения получали в программе XT Microscope Control.

Возрастную динамику определяли на КЗ «Ковчег» и небольших частных хозяйствах Ленинградской области в период с 2018 по 2020 года.

Сезонную динамику кишечных инвазий лошадей определяли на КЗ «Ковчег» Ломоносовского района Ленинградской области. Ежемесячно проводили осмотр лошадей и копрологические исследования с июня 2018 по июнь 2020 года.

Для определения терапевтической эффективности при гастрофилезе лошадей препарата «Иверсан», разработанного и выпускаемого ООО «НВЦ Агроветзащита», г. Москва в конноспортивном клубе «Prime Horse» Ломоносовского района лошадей, спонтанно инвазированных гастрофилюсами, разделили на три группы по 10 голов в каждой.

Животным из группы № 1 (n=10) задавали препарат «Иверсан», содержащий в 1 мл 40,0 мг ивермектина, в дозе 1 мл на 200 кг массы животного индивидуально, вводя с водой из шприца по беззубому краю на корень языка.

Для животных группы №2 (n=10), предварительно, препарат «Иверсан» в той же дозировке смешивали с овсом и оставляли на 6 часов. Пропитанные препаратом зерна в дальнейшем смешивали со 150-200 г корма и скармливали лошадям.

Лошадям из контрольной группы препарат не применяли во время эксперимента, но в дальнейшем животным проведена терапия.

За всеми лошадьми вели наблюдение с первого дня приема препарата «Иверсан» в течение 14 дней. Обращали внимание на активность животных, потребление ими воды и корма, наличие изменений функции желудочно-кишечного тракта, состояние слизистых оболочек и шерстного покрова, а также проводили осмотр слизистых оболочек ротовой полости лошадей, для определения эффективности терапии при гастрофилезе.

Для выяснения возможного побочного действия препарата «Иверсан» проводили общий клинический анализ крови и биохимический анализ сыворотки крови лошадей групп №1, №2 и контрольной до применения препарата и спустя 10 дней. Брали венозную кровь в пробирки с КЗ ЭДТА (этилендиаминтетраацетат) – для клинического исследования и в пробирки с активатором свертывания и гелем для биохимического исследования.

Пробирки с кровью, а также фекалиями при копрологическом исследовании, размещали в штативе в вертикальном положении и информацию о их содержимом вставляли в штатив, что позволяло

воспользоваться данными при проведении эксперимента. Модель штатива разработана и запатентована сотрудниками кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Исследования проб крови лошадей проводили в условиях клинико-биохимической лаборатории «Веттест» (г. Санкт-Петербург, Московский проспект, д. 78 Б). Для клинического анализа крови использовали ветеринарный гематологический автоматический анализатор Mindray BC-2800 Vet. Биохимический анализ сыворотки крови проводили в автоматическом анализаторе Mindray BS 120.

Для определения терапевтической эффективности препарата «Иверсан» при нематодо-гастрофилезной инвазии в КСК «Школа Анны Громзиной» Гатчинского района Ленинградской области сформировали три группы по 10 голов в каждой (две подопытные и одну контрольную).

В группе №1 препарат «Иверсан» задавали с водой в дозе 1 мл на 200 кг массы животного, в группе №2 – с кормом из расчета 1 мл препарата на 200 кг массы животного и в группе №3 – животные препарат не получали. Оценка эффективности препарата проводили на основании осмотра слизистой оболочки ротовой полости через 5, 10 и 14 суток со дня введения препаратов и путем подсчета яиц гельминтов в пробах фекалий по методу Л.Д. Мигачевой, Г.А. Котельникова (1987) до начала эксперимента и на 5, 10, 21 сутки (± 1 сутки) после дегельминтизации. Число яиц, выявленных в одной ячейке, при сильной интенсивности инвазии умножали на коэффициент 60 (в расчете на объем 30 мл), при слабой – на расчетный коэффициент 38. Просмотр препаратов осуществлялся с помощью микроскопа Carl Zeiss Primo Star с визуализацией при увеличении 10x4, 10x10, 10x40.

Статистическую обработку цифровых показателей проводили с использованием пакетов STATISTICA, БИОСТАТИСТИКА, с помощью программы Microsoft Excel. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным 0,05.

2.2 Результаты исследования

2.2.1 Видовой состав и распространение возбудителей паразитарных болезней лошадей в Ленинградской области

При осмотре шерстного покрова лошадей, содержащихся в КСК и на КЗ Ломоносовского района, КСК «Гермес Всеволожского района, КСК «Школа Анны Громзиной» Гатчинского района обнаружены яйца овода *Gastrophilus intestinalis*. Средняя экстенсивность инвазии (ЭИ) гастрофилюсами лошадей составляла 61,5 %. Интенсивность инвазии (ИИ) варьировалась от 5 до 94 яиц на 10м^2 . Установлена обратно пропорциональная связь между ЭИ и ИИ.

В 2018 году в Ленинградской области первые яйцекладки оводов были обнаружены во II-й декаде августа, кладка продолжалась до I-й декады

сентября. В 2019 году первые кладки яиц оводов были с III-ей декады августа по II декаду сентября. Максимальное количество яиц овода откладывали при среднемесячной температуре, не превышающей +16°C. Активность насекомых начиналась с 8-9 часов утра и заканчивалась около 19 часов. Выпадения личинок начиналось со II-й декады июня.

В обследованных хозяйствах гельминтофауна была идентичной. В большей степени лошади ивазированы гельминтами в небольших частных хозяйствах в Волосовском, Лужском, Приозерском, Кингисеппском, Ломоносовском, Всеволожском и Тосненском районах. В среднем ЭИ оксиурисами лошадей составляла 36,4%, параскарисами – 39,7%, стронгилятами органов пищеварения – 70,1 %, стронгилоидесами – 72,3%.

В КСК оксиурисами лошади ивазированы на 5,6%, параскарисами – 21,6%, стронгилятами – 44,4%, стронгилоидесами – 9,9%.

На конном заводе «Ковчег» ЭИ оксиурисами составляла 4,5%, параскарисами – 29,3%, стронгилятами 34,8%, стронгилоидесами – 11,6%.

2.2.2 Возрастная динамика гастрофилеза и нематодо-гастрофилезной инвазии лошадей в коневодческих хозяйствах различной формы собственности

Инвазия лошадей оводом *G. intestinalis* выявлена во всех возрастных группах животных. В меньшей степени ивазированы жеребята до 1 года. ЭИ у жеребят не превышала 6 %.

Возрастную динамику при гельминтозах желудочно-кишечного тракта определяли в частных хозяйствах и на КЗ «Ковчег» в период с 2018 по 2020 годы. Жеребята в частных хозяйствах и на КЗ «Ковчег» наиболее ивазированы стронгилятами органов пищеварения в возрасте до 1 года, ЭИ составляла 94,1% и 87,4%, соответственно. Наименьший процент ЭИ отмечен у лошадей старше 10 лет, как на конном заводе (ЭИ 30,7%), так и в частных хозяйствах (ЭИ 63,9%).

Наибольшая ЭИ параскарисами в КЗ «Ковчег» отмечается у жеребят до 1 года – 38,9%, а в частных хозяйствах – от 1 года до 3 лет (ЭИ 80%). В дальнейшем с возрастом ЭИ снижается до минимальной у лошадей старше 10 лет. ЭИ параскарисами лошадей старше 10 лет составляет в частных хозяйствах 30,7%, на конном заводе – 5,2%.

ЭИ *S. westeri* на конном заводе снижается с увеличением возраста лошадей, от максимальной у жеребят до 1 года – 68,2% и до минимальной – старше 10 лет – 6,5%. В частных хозяйствах ЭИ у лошадей высокая до 1 года, затем снижается от 1 до 3 лет и в дальнейшем с возрастом животных достигает максимальных показателей.

В частных хозяйствах больше лошадей, ивазированных *O. equi*, отмечено в возрастной группе от 6 до 10 лет (ЭИ - 50%). В меньшей степени ивазированы жеребята до 1 года – ЭИ 23,5%. На конном заводе «Ковчег» максимальная ЭИ у лошадей в возрасте от 1 до 3 лет – 33,8%, минимальные показатели (ЭИ 3,1%) у лошадей старше 10 лет. Независимо от возраста,

лошади на конном заводе в меньшей степени инвазированы оксиурисами, по сравнению с частными хозяйствами.

Аналогичная возрастная динамика прослеживалась на протяжении трех лет наблюдений.

2.2.3 Сезонная динамика гастрофилеза и нематодо – гастрофилезной инвазии лошадей в Ленинградской области

Двухгодичным наблюдением установили в Ленинградской области появление первых кладок яиц оводов во II-й декаде августа с продолжительностью до конца I-й декады сентября.

Максимальная ЭИ стронгилят органов пищеварения была выявлена у лошадей в июле и составляла 68,8%, наименьшая ЭИ наблюдалась в январе – 17,6%. ЭИ параскарисами максимальная отмечена в январе – 42,8%, а минимальное в августе – 17,2%. Максимальное количество зараженных лошадей оксиурисами составляло 9,6% в январе, а минимальное в июне и июле – 1%. ЭИ стронгилоидесами в июне была максимальной и составляла 19,2%, минимальная в январе – 4,3%.

2.2.4 Ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта лошадей

В КСК у животных установили преобладание моноинвазии (52%). Микстинвазии у лошадей были представлены двух, трех и четырех компонентными ассоциациями. Процентное соотношение моно- и микстинвазий представлены на рисунке 1.

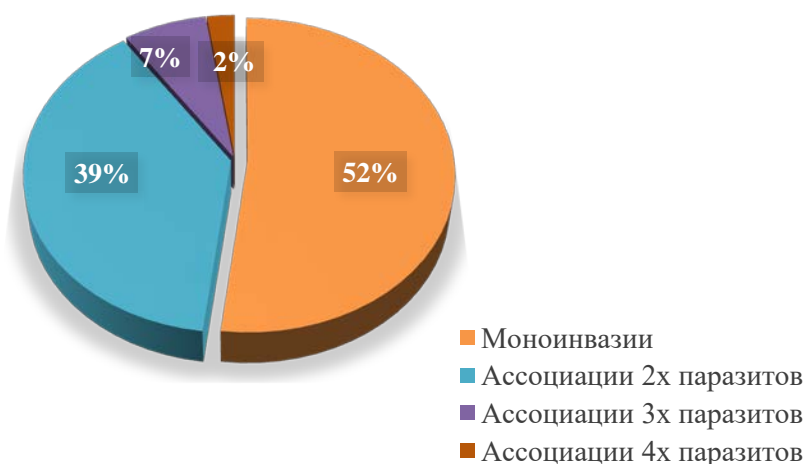


Рисунок 1 – Процентное соотношение моно- и микстинвазий в КСК в Ленинградской области (период 2018-2020гг)

Двухкомпонентные ассоциации в большей степени были сформированы гельминтами п/о *Strongylata* и *P. equorum*. Самая часто встречающаяся трехкомпонентная ассоциация была сформирована стронгилятами, параскарисами и гастрофилюсами. Ассоциации из четырех паразитов встречались редко и были установлены у трех лошадей из 162

обследованных. Представлены данные инвазии ассоциациями п/о *Strongylata*, *P. equorum*, *S. westeri*, *G. intestinalis* и п/о *Strongylata*, *P. equorum*, *S. westeri*, *O. equi*.

Процентное соотношение моно- и микстинвазий на конном заводе представлено на рисунке 2.

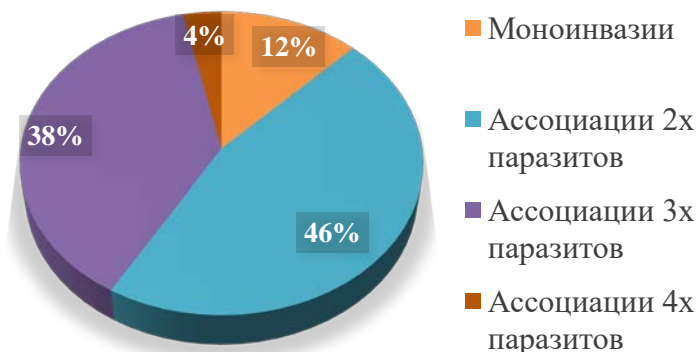


Рисунок 2 – Моно- и микстинвазии у животных в КЗ «Ковчег», процентное соотношение

На КЗ «Ковчег» у лошадей преобладали двухкомпонентные ассоциации, которые чаще формировали гельминты п/о *Strongylata* и *G. intestinalis* (9,6).

Микстинвазии, представленные тремя компонентами, чаще формировали ассоциации гельминтами из п/о *Strongylata*, *P. equorum* и *G. intestinalis* (10,1 %).

Ассоциации из четырех паразитов встречались редко и были представлены стронгилятами органов пищеварения, параскарисов, стронгилоидесов и гастрофилюсов. Доминирующая моно компонентная инвазия была представлена параскарисами (2,53 %).

На рисунке 3 представлено процентное соотношение моно- и миксинвазий в частных коневодческих хозяйствах.

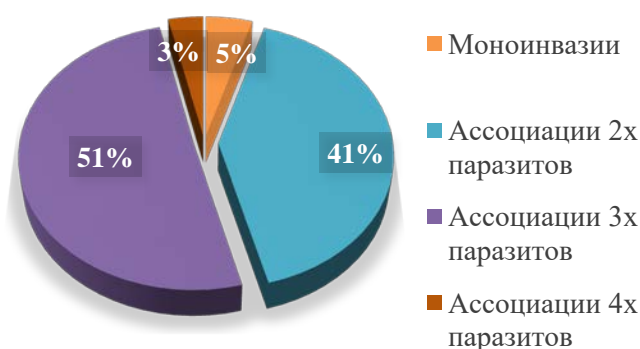


Рисунок 3 – Моно- и микстинвазии у лошадей в частных хозяйствах, процентное соотношение

У лошадей из небольших частных хозяйств установлено преобладание трехкомпонентной микстинвазии. Наиболее распространенная ассоциация представлена стронгилятами органов пищеварения, параскарисами и стронгилоидесами (23,08%).

Менее распространенные ассоциации, представленные двумя паразитами, были сформированы гельминтами п/о *Strongylata* и *S. westeri*.

Микстинвазия четырех паразитов была диагностирована у 6 лошадей из 208 обследованных и была представлена стронгилятами органов пищеварения, параскарисами, оксиурисами и стронгилоидесами (ЭИ 2,88 %).

Моноинвазии у лошадей из частных хозяйств диагностировались редко, были зарегистрированы у 8 лошадей из 208 обследованных, что составило 6% к общему числу инвазированных животных.

2.2.5 Диагностика ассоциативных инвазий желудочно-кишечного тракта лошадей

При проведении лабораторных исследований пробы фекалий после центрифугирования размещали в штатив, который состоял из стойки, выполненной из единой прозрачной пластиковой пластины, которая изогнута с образованием горизонтальных опорных оснований и вертикального каркаса, выполненного с возможностью вставления в него листа бумаги. При проведении эксперимента пробирки с содержимым устанавливали в пазах держателей штатива, а в пространство между двумя сторонами вертикального каркаса стойки вставляли лист бумаги с размещенной на нем информацией, касающейся содержимого пробирок.

При проведении сканирующей электронной микроскопии, подтвердили принадлежность личинок стронгилят к роду *Trichonema* по хорошо различимой гофрированности и длинному хвостовому концу (Рисунок 4).

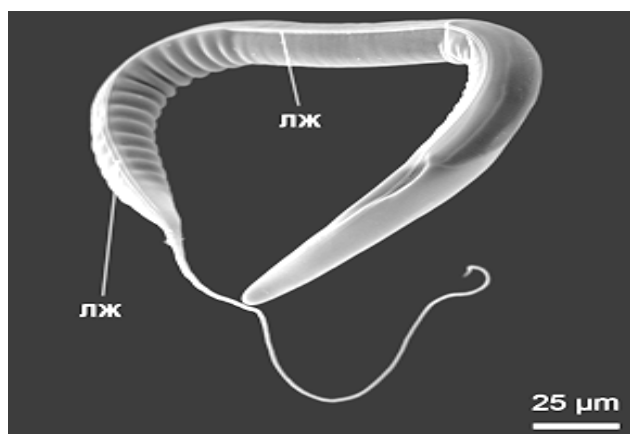


Рисунок 4– Личинка L3 рода *Trichonema*: общий вид личинки (ЛЖ – латеральный желоб), сканирующая электронная микроскопия (фото оригинал)

При культивировании личинок по методу А.М. Петрова и В.Г. Гагарина были обнаружены личинки стронгилят, имеющими укороченную форму тела (без хвостового конца) (рисунок 5).

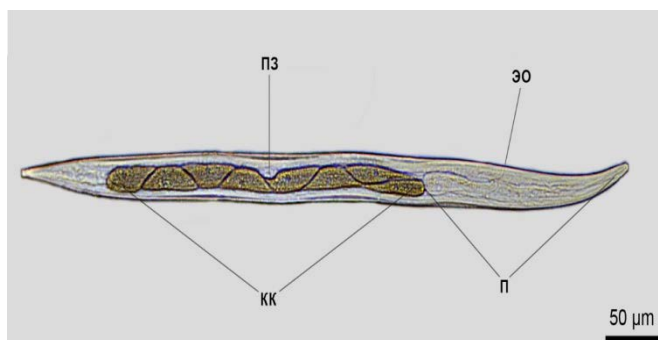


Рисунок 5 – Личинка L3 рода *Trichonema*: общий вид личинки с отсутствующим хвостовым концом (П – пищевод, ПЗ – половой зачаток; КК – кишечные клетки), светлопольная световая микроскопия, ув. x20 (по объективу) (фото оригинал)

Сканирующей электронной микроскопией было установлено место крепления хвостового конца к телу личинки (рисунок 6). При отделении хвостовой части личинки остаются жизнеспособными.

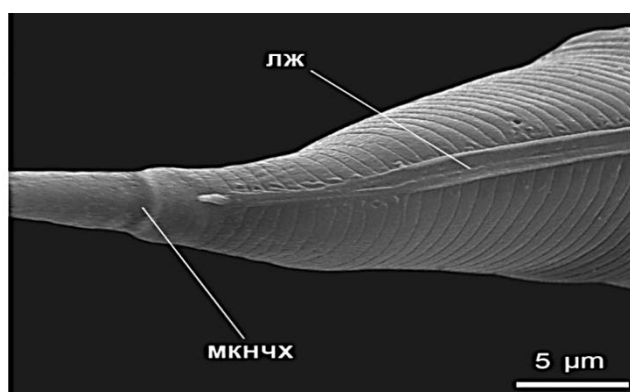


Рисунок 6 – Личинка L3 рода *Trichonema*: увеличенный фрагмент каудальной части личинки (ЛЖ – латеральный желоб; МКНЧХ – место крепления нитевидной части хвоста), СЭМ (фото оригинал)

2.2.6 Изучение терапевтической эффективности препарата «Иверсан» при гастрофилезе лошадей

Раствор для орального применения «Иверсан», содержащий в 100 мл раствора 4,0 г ивермектина, а также вспомогательные компоненты, при гастрофилезе лошадей применяли впервые. Лошадям из группы № 1 (n=10) задавали препарат в дозе 1 мл на 200 кг массы животного индивидуально, перорально с водой из шприца по беззубому краю на корень языка.

Животным в группе № 2 (n=10) задавали препарат с кормом из расчета 1 мл препарата на 200 кг массы животного. Рассчитанную индивидуально дозу препарата «Иверсан» смешивали с небольшим количеством овса (50-70 г) и оставляли на 6 часов. Затем пропитанные препаратом зерна смешивали с овсом массой 150-200 г и скармливали лошадям индивидуально, однократно.

Лошадям контрольной группы (№ 3) препарат «Иверсан» не применяли.

До введения препарата и через 10 дней после его применения у животных подопытных (№ 1, 2) и контрольной групп брали кровь для изучения гематологических и биохимических показателей.

Установили, что через 10 день после применения препарата состояние слизистых оболочек улучшилось, но наблюдалась небольшая отечность. Через 14 суток слизистые оболочки были целостные, отека, петехий, эрозий не было обнаружено, что свидетельствовало о восстановлении их структуры и отсутствии проникновения в подслизистый слой личинок овода *G. intestinalis*.

Все клинические показатели крови лошадей всех групп находились в пределах референтных значений, как до применения, так и после применения препарата «Иверсан», что позволило сделать заключение об отсутствии негативного побочного действия препарата на организм животных.

Таким образом, применение препарата «Иверсан» лошадям при инвазировании личинками овода *G. intestinalis* эффективно как при выпаивании, так и при скармливании с кормом из расчета 1 мл препарата на 200 кг массы животного, однократно.

2.2.7 Изучение эффективности препарата «Иверсан» при ассоциативной немато-гастрофилезной инвазии лошадей

Лошади, спонтанно инвазированные гастрофилюсами, параскарисами, стронгилоидесами и стронгилятами органов пищеварения, были разделены на три группы по 10 животных в каждой.

Лошади в группе №1 получали препарат «Иверсан» в дозе 1 мл на 200 кг массы животного индивидуально, перорально с водой из шприца по беззубому краю на корень языка.

Лошадям в группе № 2 задавали препарат с кормом из расчета 1 мл препарата на 200 кг массы животного.

Лошадям контрольной группы (№3) препарат «Иверсан» не применяли.

Оценку эффективности препарата проводили на основании восстановления структуры слизистых оболочек ротовой полости и отсутствии личинок *G. intestinalis* I-й стадии (LI), а также сокращении или отсутствии яиц гельминтов у лошадей, получивших лечение в сравнении с контролем на 5, 10 и 21 сутки (± 1 сут.).

При осмотре лошадей из первой и второй групп на 14-е сутки слизистая оболочка ротовой полости была бледно-розовая без изъязвлений и гиперемии. На 5 сутки в пробах фекалий лошадей в подопытных группах не обнаружены яйца параскарисов, стронгилят органов пищеварения и стронгилоидесов. Также яйца не выделялись на 10 и 21 сутки после применения препарата «Иверсан». У лошадей из контрольной группы ИИ гельминтами сохранялась.

Установили, что применение препарата «Иверсан» лошадям при микстинвазии нематодами желудочно-кишечного тракта и личинками (L 1)

гастрофилюса эффективно как при выпаивании, так и при скармливании с кормом из расчета 1 мл препарата на 200 кг массы животного, однократно.

2.2.8 Определение сроков проведения лечебно-профилактических обработок лошадей при нематодо - гастрофилезной инвазии лошадей

Поскольку паразитофауна лошадей в коневодческих хозяйствах Ленинградской области представлена геогельминтами и желудочными оводами, чей цикл развития связан с формированием куколки и выплодом имаго в почве, то необходимо применять препарат «Иверсан» во II-ой декаде апреля, что предотвратит загрязнение окружающей среды яйцами нематод и личинками (L3) овода рода *Gastrophilus*. Повторную обработку следует проводить в I декаде июня, так как вероятность попадания инвазионных яиц параскаридов и инвазионных личинок стронгилят при выпасе на пастбищах сохраняется. Данные сроки также определяются биологией возбудителей, так как цикл развития *P. equorum* составляет 2-2,5 месяца, а стронгилят рода *Trichonema* – 1,5-2 месяца. При нападении имаго *G. intestinalis* в III декаде августа – I декаде сентября происходит инвазирование лошадей личинками (L1) овода, внедрение которых в *tunica mucosa* на 3-4 недели, вызывает воспаление слизистой оболочки, затрудненный прием корма и воды. Для предотвращения развития патологического процесса в ротовой полости и проникновения личинок овода для дальнейшего развития в желудке, а также уничтожения стронгилят и стронгилоидесов, пик инвазии которых приходится на июнь-июль, препараты на основе макроциклических лактонов следует дать лошадям в III декаде сентября. При переводе лошадей на стойловое содержание в I – II декаде октября возрастает вероятность контакта между животными как в конюшне, так и в левадах, что увеличивает вероятность заражения оксиурозом. Кроме того, в декабре наблюдается пик параскариозной инвазии и завершение миграции личинок рода *Delafondia*. Учитывая возможные способы инвазирования животных следующую дегельминтизацию следует провести в III декаде декабря.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные результаты исследования, следует отметить следующее:

1. В Ломоносовском, Всеволожском и Гатчинском районах Ленинградской области у лошадей установлено паразитирование овода *Gastrophilus intestinalis*. Лет оводов наблюдается со II декады августа по II декаду сентября, выделение личинок (L3) – во II декаде июня. За 3-х летний период наблюдений средние показатели ЭИ *G. intestinalis* составили 61,5%; ИИ от 5 до 94 экз. яиц на 10см². Жеребята были подвержены инвазии в меньшей степени (ЭИ – 6%).

2. Лошади в КСК, на КЗ и частных хозяйствах инвазированы нематодами п/о *Strongylata*, *P. equorum*, *O. equi*, *S. westeri* с различной ЭИ:

оксиурисами 5,6%, 4,5%, 36,4%; параскарисами –21,6%, 29,3%, 39,7%; стронгилятами – 44,4%, 34,8%, 70,1%; стронгилоидесами – 9,9%, 11,6%, 72,3% соответственно.

3. Жеребята в большей степени инвазированы нематодами п/о *Strongylata* (91,4% в частных хозяйствах), *S. westeri* и *P. equorum* (68,2% и 38,9% на КЗ соответственно). У лошадей старше 10 лет ЭИ *P. equorum* в частных хозяйствах составляла 30,7%, на конном заводе – 5,2%. Оксиурисами в большей степени инвазированы лошади 6 до 10 лет (ЭИ – 50% в частных хозяйствах).

4. Пик инвазии нематодами п/о *Strongylata* наблюдается в июле (ЭИ 68,8%), *P. equorum* – в январе (ЭИ 42,8), *S. westeri* – в июне (ЭИ 19,2%), *O. equi* – в январе (ЭИ 9,6%) и *G. intestinalis* – в августе (ЭИ 25,8%).

5. В частных хозяйствах доминирующей является микстинвазия с ассоциацией из трех паразитов и составляют от общего числа ассоциативных инвазий: нематоды п/о *Strongylata*, *P. equorum* и *S. westeri* (23,08%), *P. equorum*, *O. equi* и *S. westeri* (9,13%) и п/о *Strongylata*, *O. equi* и *S. westeri* (9,13%). На КЗ и КСК преобладают микстинвазии с ассоциацией двух паразитов. У лошадей на КЗ нематоды п/о *Strongylata* и *G. intestinalis* (9,6%), нематоды п/о *Strongylata* и *P. equorum* (ЭИ 5,56%), в КСК – нематоды п/о *Strongylata* и *P. equorum* (10,4%). Микстинвазии с ассоциацией нематод п/о *Strongylata*, *P. equorum*, *S. westeri* и овода *G. intestinalis* распространены у лошадей в КСК (1,23%) и на КЗ (1,52%) и нематод п/о *Strongylata*, *P. equorum*, *S. westeri* и *O. equi* в КСК (0,62%) и в частных хозяйствах (2,88%).

6. Модель настольного штатива для пробирок повышает удобство проведения исследований, так как установленные в вертикальном состоянии пробирки размещаются с информацией о содержимом на листе бумаги, вставленном в штатив.

7. Сканирующая электронная микроскопия позволяет выявить у личинок (L3) п/о *Strongylata* морфологические дефекты, которые необходимо учитывать при идентификации.

8. Препарат «Иверсан», применяемый лошадям перорально путем выпаивания с водой или задаваемый с кормом в дозе 200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного, однократно эффективен при гастрофилезе и нематодо-гастрофилезной инвазии. Отсутствие побочного действия препарата на организм животных подтверждено результатами клинических и биохимических исследований крови животных. На основании полученных данных внесены дополнения в инструкцию по применению препарата «Иверсан» (Регистрационное удостоверение 77-3-2.19-4435№ ПВР-3-12.15/03238).

9. Учитывая возможные вариации ассоциативной нематодо-гастрофилезной инвазии рекомендовано лечебно-профилактические обработки проводить 4 раза в год – во II-ой декаде апреля, в I декаде июня, в III декаде сентября и в III декаде декабря.

3.2 Предложения для практики

Для удобства проведения лабораторных исследований предложена модель настольного штатива для пробирок, которая позволяет не только устанавливать и хранить пробирки (с содержимым или без него) в вертикальном состоянии, но и размещать информацию о содержимом пробирок на листе бумаги, вставляемом в штатив (Патент на изобретение № 2733515, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 02 октября 2020 г. (Бюл. №28)).

Рекомендуем при гастрофилезе лошадей лечение животных проводить препаратом «Иверсан», содержащим в 1,0 мл 40,0 мг ивермектина, задавая его перорально, однократно в дозе 1 мл на 200 кг массы животного путем выпаивания из шприца или скармливания с овсом (дополнения в инструкцию по применению препарата «Иверсан».

Лечебно-профилактические обработки лошадей при ассоциативной нематодо-гастрофилезной инвазии проводить четырехкратно: во II-ой декаде апреля, в I декаде июня, в III декаде сентября и в III декаде декабря.

3.3 Перспективы дальнейшей разработки темы исследований

Дальнейшие исследования механизмов взаимодействия паразитов, возникновение их ассоциаций позволят прогнозировать комплексные подходы к проведению лечебных и профилактических мероприятий, позволяющих снижать и сдерживать риск заражения животных. Перспективным также является использование современных методов диагностики, в том числе молекулярно-генетических методов, которые возможно откроют причины формирования приоритетных комбинаций взаимного существования паразитов различных классов в определенных органах животных. Проведение регионального мониторинга ситуации по ассоциативным инвазиям лошадей важно проводить и в дальнейшем с точки зрения контроля эпизоотической ситуации. Изучение новых возможностей препаратов на основе макроциклических лактонов, подбор терапевтически эффективных лекарственных средств, удобных в применении для лечения животных важно продолжать в дальнейшем, по причине формирования резистентных форм паразитов к действующему веществу, находящемуся в препарате, применяемом длительное время.

3.4 Список работ, опубликованных по теме диссертации

3.4.1 Статьи в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ

1. Гаврилова, Н.А. Применение препарата «Иверсан» при гастрофилезе лошадей / Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, О.А. Логинова, Р.С. Ситникова *Международный вестник ветеринарии.* –2019, № 4. – С.19-24.

2. Гаврилова, Н.А. Ассоциативная желудочно-кишечная инвазия лошадей в Ленинградской области / Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, О.А. Логинова, **Р.С. Ситникова** // Международный вестник ветеринарии. –2020, № 2. – С.31-37.
3. Гаврилова, Н.А. Эпизоотическая ситуация по гельминтозам лошадей в частных хозяйствах Ленинградской области / Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, О.А. Логинова, М.Г. Роберман, **Р.С. Ситникова** // Международный вестник ветеринарии. –2020. – №2. – С. 37-41.
4. Гаврилова, Н.А. Диагностика стронгилидозов органов пищеварения у лошадей / Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, О.А. Логинова, А.А. Миролубов, **Р.С. Ситникова** // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. –2020. – №.2(46) –С.22-28.

3.4.2 Статьи, опубликованные в сборниках научных трудов и материалах конференций

5. **Ситникова, Р.С.** Сравнительная эффективность препаратов, содержащих ивермектин, против гастрофилеза лошадей // Р.С. Ситникова, Н.А. Гаврилова // Материалы III международного паразитологического симпозиума «Современные проблемы общей и частной паразитологии». – СПб, Изд-во ФГБОУ ВО СПбГАВМ. – 2019. – С.116-120.
6. **Ситникова, Р.С.** Эпизоотическая ситуация по гастрофилезу лошадей в коневодческих хозяйствах Ленинградской области / Р.С. Ситникова // Сб. статей XLVII межвузовской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии», посвящ. 136-летию со дня рожд. академика Е.Н. Павловского. – СПб, Изд-во ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова». – 2020. – С.52-57.

3.4.3 Патенты на изобретения

7. Патент на изобретение «Штатив для пробирок настольный» / Логинова О.А., Белова Л.М., Гаврилова Н.А., Ширяева В.А., Петрова М.С., Кузнецов Ю.Е., Ситникова Р.С. // Патент № 2733515, зарег. в Гос. реестре изобретений РФ 02 октября 2020г (Бюл. №28).